

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 678 497**

51 Int. Cl.:

C12N 15/115 (2010.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/69 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01)
A61K 31/7105 (2006.01)
A61K 31/713 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.09.2011 PCT/EP2011/004554**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **15.03.2012 WO12031773**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.09.2011 E 11757776 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.04.2018 EP 2613789**

54 Título: **Ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 y su uso en el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

09.09.2010 EP 10009397

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

13.08.2018

73 Titular/es:

**NOXXON PHARMA AG (100.0%)
Max-Dohrn-Strasse 8-10
10589 Berlin, DE**

72 Inventor/es:

**PURSCHKE, WERNER;
JAROSCH, FLORIAN;
EULBERG, DIRK;
KLUSSMANN, SVEN;
BUCHNER, KLAUS;
MAASCH, CHRISTIAN;
DINSE, NICOLE y
ZBORALSKI, DIRK**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 678 497 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

Ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 y su uso en el tratamiento del cáncer

La presente invención se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 y bloquear la interacción entre SDF-1 y el receptor de SDF-1, CXCR7, en donde la molécula de ácido nucleico es para uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como una terapia complementaria, o para uso como un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno; a una composición farmacéutica que comprende una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 y bloquear la interacción entre SDF-1 y el receptor de SDF-1, CXCR7, para uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, o para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como una terapia complementaria, o para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno; a un medicamento que comprende una o varias unidades de dosificación de al menos una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 y de bloquear la interacción entre SDF-1 y el receptor de SDF-1, CXCR7, para uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, o para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno; al uso de una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 y de bloquear la interacción entre SDF-1 y el receptor de SDF-1, CXCR7, para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, o para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como una terapia complementaria; y a una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 y de bloquear la interacción entre SDF-1 y el receptor de SDF-1, CXCR7, para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece o tiene riesgo de desarrollar cáncer.

El factor derivado de células del estroma 1 (abrev.: SDF-1; sinónimos, CXCL12; PBSF [factor estimulante del crecimiento de pre-linfocitos B]; TPAR-1 [gen reprimido 1 TPA]; SCYB12; TLSF [factor estimulante de células de linfoma tímico]; hIRH [intercrina humana reducida en hepatomas]) es una quimiocina CXC angiogénica que no contiene el motivo ELR típico de las quimiocinas de tipo IL-8 (Salcedo, Wasserman et al. 1999; Salcedo y Oppenheim 2003) pero que se une y activa el receptor CXCR4 acoplado a proteína G. Como resultado de un corte y empalme alternativo, hay dos formas de SDF-1, SDF-1 α (68 aminoácidos, SEQ ID NO: 1) y SDF-1 β (SEQ ID NO: 2), que, en comparación con SDF-1 α , es portadora de cinco aminoácidos adicionales en el extremo C-terminal (Shirozu, Nakano et al. 1995).

La conservación de la secuencia de aminoácidos entre SDF-1 procedentes de diferentes especies es notable: SDF-1 α humano (SEQ ID NO: 1) y SDF-1 α murino (SEQ ID NO: 3) son prácticamente idénticos. Solo hay un solo cambio conservador de V a I en la posición 18 (Shirozu, Nakano et al. 1995).

Dado que el receptor de SDF-1, CXCR7, se expresa ampliamente en leucocitos, células dendríticas maduras, células endoteliales, células del cerebro y megacariocitos, las actividades de SDF-1 son pleiotrópicas. Esta quimiocina, más que cualquier otra identificada hasta la fecha, muestra la más amplia gama de funciones biológicas. Los efectos funcionales más significativos de SDF-1 son:

- Migración dirigida y fijación de células epiteliales a sitios neovasculares en la porción coroides de la retina;
- SDF-1 es necesario para mantener las células madre y las células progenitoras, por ejemplo, células progenitoras hematopoyéticas (normalmente CD34+) en la médula ósea del adulto;
- SDF-1 favorece la proliferación de los pre-linfocitos B y aumenta el crecimiento de progenitores de linfocitos B de la médula ósea e induce una migración específica de los pre-linfocitos B y pro-linfocitos B, mientras que no actúa como un quimioatrayente significativo para los linfocitos B maduros;
- SDF-1 es uno de los factores quimiotácticos de linfocitos T más eficaces; y
- SDF-1 y su receptor CXCR4 son esenciales para el desarrollo embrionario.

Una alteración de los niveles de expresión de SDF-1 o de su receptor CXCR4 o respuestas alteradas hacia esas moléculas se dice que están asociadas con muchas enfermedades humanas, tales como la retinopatía (Brooks, Caballero et al. 2004; Butler, Guthrie et al. 2005; Meleth, Agron et al. 2005); cáncer de mama (Muller, Homey et al. 2001; Cabioglu, Sahin et al. 2005), ovarios (Scotton, Wilson et al. 2002), páncreas (Koshiba, Hosotani et al. 2000), tiroides (Hwang, Chung et al. 2003) y nasofaringe (Wang, Wu et al. 2005); glioma (Zhou, Larsen et al. 2002); neuroblastoma (Geminder, Sagi-Assif et al. 2001); leucemia linfocítica crónica de linfocitos B (Burger, Tsukada et al. 2000); síndrome de WHIM (WHIM es una abreviatura para verrugas, hipogammaglobulinemia, infecciones, síndrome de Mielokatexis) (Gulino, Moratto et al. 2004; Balabanian, Lagane et al. 2005b; Kawai, Choi et al. 2005); síndromes de deficiencia inmunológica (Arya, Ginsberg et al. 1999; Marechal, Arenzana-Seisdedos et al. 1999; Soriano, Martinez et al. 2002); neovascularización patológica (Salvucci, Yao et al. 2002; Yamaguchi, Kusano et al. 2003; Grune-

wald, Avraham et al. 2006); inflamación (Murdoch 2000; Fedyk, Jones et al. 2001; Wang, Guan et al. 2001); esclerosis múltiple (Krumbholz, Theil et al. 2006); artritis reumatoide / osteoartritis (Buckley, Amft et al. 2000; Kanbe, Takagishi et al. 2002; Grassi, Cristino et al. 2004).

5 Los tumores (incluyendo neoplasias y tumores malignos sólidos y hematológicos) no son solo masas de células cancerosas: una infiltración de los tumores con células inmunes es una característica del cáncer. Muchos cánceres humanos tienen una red compleja de quimiocinas que influye en el grado y el fenotipo de este infiltrado, así como en el crecimiento del tumor, la supervivencia, la migración y la angiogénesis. La mayoría de los tumores sólidos contienen muchas células del estroma no malignas. De hecho, las células del estroma a veces superan en número a las células cancerosas. Las células del estroma predominantes que se encuentran en los cánceres son macrófagos, linfocitos, células endoteliales y fibroblastos.

10 Las células de diferentes tipos de cáncer tienen diferentes perfiles de expresión del receptor de quimiocinas, pero el receptor de SDF-1, CXCR4 se encuentra más comúnmente en las células tumorales de ratón y humanas: células tumorales procedentes de al menos 23 diferentes tipos de cánceres humanos de origen epitelial, mesenquimatoso y hematopoyético expresan CXCR4 (Balkwill 2004), siendo SDF-1 el único ligando conocido para CXCR4. Además de la médula ósea y el tejido linfoide secundario, en donde se expresa constitutivamente, SDF-1 se encuentra en sitios de tumores primarios en el linfoma (Corcione, Ottonello et al. 2000) y tumores cerebrales tanto de linaje neuronal como astrocítico. Además, está presente en altos niveles en el cáncer de ovario (Scotton, Wilson et al. 2002) y de páncreas (Koshiba, Hosotani et al. 2000), así como en los sitios de metástasis del cáncer de mama (Muller, Homey et al. 2001) y de tiroides (Hwang, Chung et al. 2003), neuroblastoma y neoplasias hematológicas (Geminder, Sagi-Assif et al. 2001).

15 Además de CXCR4 se ha identificado otro receptor de SDF-1: RDC1/CXCR7 (Balabanian, Lagane et al. 2005a, Burns, Summers et al. 2006). Estudios *in vitro* e *in vivo* con líneas celulares de cáncer de próstata sugieren que alteraciones en la expresión de CXCR7/RDC1 están asociadas con actividades adhesivas e invasivas incrementadas, además de una ventaja en la supervivencia. Estudios *in vitro* e *in vivo* han mostrado que ambos receptores de SDF-1, a saber, CXCR4 y CXCR7 favorecen el crecimiento tumoral, el potencial metastásico y la resistencia a la apoptosis (inducida por quimioterapia) en una serie de tumores, por ejemplo, cáncer de mama, glioblastomas, cáncer de ovario, neuroblastoma, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal y de próstata (Burns et al., 2006; Li et al., 2008; Scotton et al., 2002; Yang et al., 2008; Zagzag et al., 2008).

La expresión de CXCR4 y CXCR7, por lo tanto, parece ser una característica general de varios tumores.

30 El documento de solicitud de patente internacional WO 2008/009437 se refiere a moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1.

El documento de solicitud de patente internacional WO 2009/019007 se refiere a moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 que influyen en la migración de las células.

35 Azab AK et al. (Azab AK et al., Blood, vol. 113, nº 18, 30 Abril 2009, pp. 4341-4351) informan sobre el inhibidor de CXCR4, AMD3100, que interrumpe la interacción de células de mieloma múltiple con el microambiente de la médula ósea y mejora su sensibilidad a una terapia.

Burger M et al. (Burger M et al., Blood, vol. 106, nº 5, 1 Septiembre 2005, pp. 1824-1830) informan sobre inhibidores peptídicos pequeños del receptor de quimiocinas CXCR4 (CD184) que antagonizan la activación, la migración y las respuestas antiapoptóticas de CXCL12 en linfocitos B de leucemia linfocítica crónica.

40 Rajagopalan L et al. (Rajagopalan L et al., Bioscience Reports, vol. 26, nº 5, 6 Octubre 2006, pp. 325-339) informan sobre la base estructural de la función del receptor de quimiocinas y un modelo para la afinidad de la unión y la selectividad del ligando.

Crump MP et al. (Crump MP et al., EMBO Journal, vol. 16, nº 23, 1 Enero 1997, pp. 6996-7007) informan sobre la estructura de la solución de SDF-1 y la base para su actividad funcional.

45 Balabanian K et al. (Balabanian K et al., Journal of Biological Chemistry, vol. 280, nº 42, 21 Octubre 2005, pp. 35760-35766) informan que SDF-1 se une a y señala a través del receptor huérfano RDC1 en linfocitos T.

El problema subyacente a la presente invención es proporcionar un medio que interaccione específicamente con SDF-1, en donde los medios son adecuados para la prevención y/o el tratamiento del cáncer.

50 Otro problema subyacente a la presente invención es proporcionar un medio que apoye la terapia del cáncer, en donde tal terapia del cáncer normalmente hace uso de una quimioterapia y/o radiación.

Un problema adicional subyacente de la presente invención es proporcionar un medio que es adecuado para uso en una terapia complementaria en el tratamiento del cáncer.

Todavía otro problema subyacente a la presente invención es proporcionar un medio que es capaz de quimiosensibilizar a un paciente que padece cáncer y/o quimiosensibilizar células que forman parte o son parte de un cáncer.

Estos y otros problemas subyacentes de la presente invención se resuelven mediante la materia objeto de las reivindicaciones independientes adjuntas. Las realizaciones preferidas se pueden extraer a partir de las reivindicaciones dependientes.

5 Más específicamente, el problema subyacente a la presente invención se resuelve en un primer aspecto mediante una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 y de bloquear la interacción entre SDF-1 y el receptor de SDF-1, CXCR7, en donde la molécula de ácido nucleico es para uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como una terapia complementaria, o para uso como un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, en donde la enfermedad o el trastorno es un cáncer que expresa el receptor de SDF-1, CXCR7.

10 En una realización del primer aspecto, el cáncer es un cáncer seleccionado a partir del grupo de cánceres hematológicos y tumores sólidos, en donde preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo que comprende la leucemia y mieloma y los tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo que comprende glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de ovario y cáncer de pulmón.

En una realización del primer aspecto, la terapia complementaria sensibiliza al sujeto, en donde el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno.

15 En una realización del primer aspecto, la terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno comprende la administración de un agente farmacéuticamente activo adicional y/o radiar al sujeto y/o una cirugía y/o una terapia celular.

En una realización del primer aspecto, el agente farmacéuticamente activo adicional se selecciona a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.

20 En una realización del primer aspecto, el tratamiento o la prevención de la enfermedad o el trastorno está causado por la molécula de ácido nucleico que inhibe la interacción entre SDF-1 y un receptor de SDF-1.

En una realización del primer aspecto, en donde la molécula de ácido nucleico comprende en dirección 5'→3' un primer tramo terminal de nucleótidos, un tramo central de nucleótidos y un segundo tramo terminal de nucleótidos, o un segundo tramo terminal de nucleótidos, el tramo central de nucleótidos y un primer tramo terminal de nucleótidos,

30 en donde la molécula de ácido nucleico se selecciona a partir del grupo que comprende una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B, una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C, una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A y una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo D;

en donde el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende la siguiente secuencia de nucleótidos:

35 5' GUGUGAUCUAGAUGUADWGGCUGWUCCUAGUYAGG 3' (SEQ ID NO: 52), y

en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₁X₂SVNS 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' BVBSX₃X₄ 3', en donde

40 X₁ está o bien ausente o es A, X₂ es G, X₃ es C y X₄ está o bien ausente o es U;

o

X₁ está ausente, X₂ está o bien ausente o es G, X₃ está o bien ausente o es C y X₄ está ausente;

en donde el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende la siguiente secuencia de nucleótidos: GGUYAGGGCUHRX_AAGUCGG (SEQ ID NO: 108),

45 en donde X_A está o bien ausente o es A, y

en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' RKSBUSNVGR 3' (SEQ ID NO: 138) y el segundo tramo de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' YYNRCASSMY 3' (SEQ ID NO: 139)

50 o

en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X_SSSSV 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' BSSSX_S 3', en donde X_S está o bien ausente o es S,

5 o

en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CGUGCGCUUGAGAUAGG 3' (SEQ ID NO: 220) y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CUGAUUCUCACG 3' (SEQ ID NO: 221);

10 o

el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' UGAGAUAGG 3' Y el segundo tramo terminal

de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CUGAUUCUCA 3' (SEQ ID NO: 222);

15 o

el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' GAGAUAGG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CUGAUUCUC 3';

20 en donde el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A, comprende una secuencia de nucleótidos de 5' AAAGYRACAHGUMAAX_AUGAAAGGUARC 3' (SEQ ID NO: 74),

en donde X_A está o bien ausente o es A, y

en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₁X₂NNBV 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' BNBX₃X₄ 3'

25 en donde X₁ está o bien ausente o es R, X₂ es S, X₃ es S y X₄ está ausente o es Y,

o

X₁ está ausente, X₂ está o bien ausente o es S, X₃ está o bien ausente o es S y X₄ está ausente; y en donde la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo D comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de SEQ ID NO: 142 a SEQ ID NO: 144.

30 En una realización del primer aspecto, el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende la siguiente secuencia de nucleótidos:

5' GUGUGAUCUAGAUGUADUGGCUGAUCCUAGUCAGG 3' (SEQ ID NO: 53).

35 En una realización del primer aspecto, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₁X₂SSBS 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' BVSSX₃X₄ 3',

en donde X₁ está ausente, X₂ está o bien ausente o es G, X₃ está o bien ausente o es C, y X₄ está ausente, preferiblemente el primer tramo terminal de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos de 5' GCGUG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos de 5' UACGC 3'.

40 En una realización del primer aspecto, la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de SEQ ID NO: 5 a SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 22 a SEQ ID NO: 28.

preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NO: 5 a SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 22 y SEQ ID NO: 28.

45 más preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NO: 22 y SEQ ID NO: 28.

En una realización del primer aspecto, el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5'

GGUYAGGGCUHRAAGUCGG 3' (SEQ ID NO: 109), 5' GGUYAGGGCUHRAGUCGG 3' (SEQ ID NO: 110) o 5' GGUUAGGGCUHGAAGUCGG 3' (SEQ ID NO: 111), preferiblemente 5' GGUUAGGGCUHGAAGUCGG 3' (SEQ ID NO: 111).

5 En una realización del primer aspecto, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' RKSBUGSVGR 3' (SEQ ID NO: 140) y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' YCNRCASSMY 3' (SEQ ID NO: 141).

10 En una realización del primer aspecto, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' SGGSR 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' YSCCS 3'.

15 En una realización del primer aspecto, la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de SEQ ID NO: 95 a SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 112 a SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 223 y SEQ ID NO: 224, preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 223 y SEQ ID NO: 224.

20 En una realización del primer aspecto, el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5'AAAGYRACAHGUMAAUGAAAGGUARC 3' (SEQ ID NO: 75), o 5' AAAGYRACAHGUMAAUGAAAGGUARC 3' (SEQ ID NO: 76), o

25 5' AAAGYAACAHGUCAAUGAAAGGUARC 3' (SEQ ID NO: 77), preferiblemente el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' AAAGYAACAHGUCAAUGAAAGGUARC 3' (SEQ ID NO: 77).

30 En una realización del primer aspecto, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₂BBBS 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' SBBVX₃ 3',

en donde X₂ está o bien ausente o es S y X₃ está o bien ausente o es S;

35 preferiblemente, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CUGUG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CGCAG 3';

o el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' GCGUG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CGCGC 3'.

40 En una realización del primer aspecto, en donde la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de SEQ ID NO: 60 a SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 78 a SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84 a SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89 a SEQ ID NO: 94 y SEQ ID NO: 145,

preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 84 y SEQ ID NO: 146,

45 más preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NO: 84 y SEQ ID NO: 146.

En una realización del primer aspecto, la molécula de ácido nucleico comprende una modificación, en donde la modificación es preferiblemente un resto de peso molecular elevado y/o en donde la modificación permite preferiblemente modificar las características de la molécula de ácido nucleico en términos de tiempo de residencia en el cuerpo animal o humano, preferiblemente el cuerpo humano.

50 En una realización del primer aspecto, la molécula de ácido nucleico es una molécula de ácido nucleico L.

Más específicamente, el problema subyacente a la presente invención se resuelve en un segundo aspecto mediante una composición farmacéutica que comprende como primer agente farmacéuticamente activo, la molécula de ácido nucleico según cualquier realización del primer aspecto y, opcionalmente, un componente adicional, en donde el componente adicional se selecciona a partir del grupo que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable, un vehículo farmacéuticamente aceptable y un agente farmacéuticamente activo adicional y en donde la composición farmacéutica es para uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno,

o para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como terapia complementaria, o para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, en donde la enfermedad o el trastorno es un cáncer que expresa el receptor de SDF-1, CXCR7.

- 5 En una realización del segundo aspecto, la terapia complementaria sensibiliza al sujeto, en donde el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno.

En una realización del segundo aspecto, la terapia para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades o el trastorno comprende la administración de un agente farmacéuticamente activo adicional y/o radiar al sujeto y/o una cirugía y/o terapia celular.

- 10 En una realización del segundo aspecto, el agente farmacéuticamente activo adicional es un agente farmacéuticamente activo seleccionado a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, preferiblemente vincristina, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.

- 15 En una realización del segundo aspecto, el cáncer es un cáncer seleccionado a partir del grupo de cáncer hematológico y tumores sólidos, en donde preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo de leucemia y mieloma y los tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo que comprende glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de ovario y cáncer de pulmón.

- 20 Más específicamente, el problema subyacente a la presente invención se resuelve en un tercer aspecto mediante un medicamento que comprende una o varias unidades de dosificación de al menos un primer agente farmacéuticamente activo, en donde el primer agente farmacéuticamente activo es una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 como se define en cualquier realización del primer aspecto, en donde el medicamento es para uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, o para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como una terapia complementaria, o para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, en donde la enfermedad o el trastorno es un cáncer que expresa el receptor de SDF-1, CXCR7.

En una realización del tercer aspecto, la terapia complementaria sensibiliza al sujeto, en donde el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno.

- 30 En una realización del tercer aspecto, la terapia para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades o el trastorno comprende la administración de un agente farmacéuticamente activo adicional y/o radiar al sujeto y/o una cirugía y/o terapia celular.

- 35 En una realización del tercer aspecto, el medicamento comprende un agente farmacéuticamente activo adicional, preferentemente una o varias unidades de dosificación de un agente farmacéuticamente activo adicional, en donde el agente farmacéuticamente activo adicional se selecciona a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, preferiblemente vincristina, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.

- 40 En una realización del tercer aspecto, el cáncer es un cáncer seleccionado a partir del grupo de cáncer hematológico y tumores sólidos, en donde preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia y mieloma, y los tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo que comprende glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de ovario y cáncer de pulmón.

- 45 Más específicamente, el problema subyacente a la presente invención se resuelve en un cuarto aspecto mediante el uso de una molécula de ácido nucleico como se define en cualquier realización del primer aspecto, para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno o para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como terapia complementaria, en donde la enfermedad o el trastorno es un cáncer que expresa el receptor de SDF-1, CXCR7.

- 50 En una realización del cuarto aspecto, la terapia complementaria sensibiliza al sujeto, en donde el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno.

En una realización del cuarto aspecto, la terapia para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades o el trastorno comprende la administración de un agente farmacéuticamente activo adicional y/o radiar al sujeto y/o una cirugía y/o terapia celular.

- 55 En una realización del cuarto aspecto, el medicamento se usa en combinación con un agente farmacéuticamente activo adicional, en donde el agente farmacéuticamente activo adicional es un agente farmacéuticamente activo

seleccionado a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, preferiblemente vincristina, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.

5 En una realización del cuarto aspecto, el cáncer es un cáncer seleccionado a partir del grupo de cáncer hematológico y tumores sólidos, en donde preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia y mieloma, y los tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo que comprende glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de ovario y cáncer de pulmón.

10 Más específicamente, el problema subyacente a la presente invención se resuelve en un quinto aspecto mediante una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 como se define en cualquier realización del primer aspecto, para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece o tiene riesgo de desarrollar un cáncer que expresa el receptor de SDF-1, CXCR7, en donde el método comprende

- una etapa a) de administrar al sujeto una cantidad farmacéuticamente eficaz de la molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 como se define en cualquier realización del primer aspecto; y
- 15 • una etapa b) de radiar al sujeto y/o una cirugía y/o terapia celular y/o administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente farmacéuticamente activo adicional al sujeto, en donde el agente farmacéuticamente activo adicional es un agente farmacéuticamente activo seleccionado a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, preferiblemente vincristina, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.

20 En una realización del quinto aspecto, la cantidad farmacéuticamente eficaz de una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 como se define en cualquier realización del primer aspecto, se administra como una terapia complementaria o parte de una terapia complementaria.

25 En una realización del quinto aspecto, la terapia complementaria sensibiliza al sujeto, en donde el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno.

En una realización del quinto aspecto, la terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno comprende la administración de un agente farmacéuticamente activo adicional y/o radiar al sujeto y/o una cirugía y/o terapia celular como se realiza en la etapa b).

30 En una realización del quinto aspecto, el cáncer es un cáncer seleccionado a partir del grupo de cáncer hematológico y tumores sólidos, en donde preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia y mieloma, y los tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo que comprende glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de ovario y cáncer de pulmón.

35 En una realización del primer aspecto, la leucemia se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia linfocítica crónica y leucemia mieloide aguda.

En una realización del primer aspecto, el mieloma es mieloma múltiple.

En una realización del primer aspecto, el anticuerpo se selecciona a partir del grupo que comprende Rituximab, Ofatumumab, Cetuximab, Ibritumomab-Tiuxetan, Tositumomab, Trastuzumab, Bevacizumab y Alemtuzumab.

40 En una realización del primer aspecto, el agente alquilante se selecciona a partir del grupo que comprende cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucilo, doxorubicina, doxorubicina liposómica, bendamustina, temozolomida y melfalán.

En una realización del primer aspecto, el antimetabolito se selecciona a partir del grupo que comprende purinazatioprina, mercaptopurina, fludarabina, pentostatina y cladribina.

45 En una realización del primer aspecto, el terpenoide vegetal se selecciona a partir del grupo que comprende un taxano, más preferiblemente seleccionado a partir del grupo que comprende docetaxel, paclitaxel, podofilotoxina y epotilona.

En una realización del primer aspecto, el inhibidor de la topoisomerasa se selecciona a partir del grupo que comprende camptotecina, irinotecán y mitoxantrona.

50 En una realización del primer aspecto, la molécula de ácido nucleico es capaz de bloquear la interacción entre SDF-1 y un receptor de SDF-1, en donde el receptor de SDF-1 se selecciona a partir del grupo que comprende CXCR4 y CXCR7.

En una realización del primer aspecto, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₁X₂CRWG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' KRYSX₃X₄ 3',

en donde X₁ o bien está ausente o es A, X₂ es G, X₃ es C y X₄ o bien está ausente o es U.

- 5 En una realización del primer aspecto, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₁X₂CGUG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' UACGX₃X₄ 3',

en donde X₁ o bien está ausente o es A, X₂ es G, X₃ es C y X₄ o bien está ausente o es U.

- 10 preferiblemente, el primer tramo terminal de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos de 5' AGCGUG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos de 5' UACGCU 3'.

En una realización del primer aspecto, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' GCCGG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CCGGC 3'.

- 15 En una realización del primer aspecto, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' RSHRYR 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' YRYDSY 3',

preferiblemente, el primer tramo terminal de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos de 5' GCUGUG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CGCAGC 3'.

- 20 En una realización del primer aspecto, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₂BBBS 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' SBBVX₃ 3',

en donde X₂ está o bien ausente o es S y X₃ o bien está ausente o es S;

En una realización del primer aspecto, la modificación se selecciona a partir del grupo que comprende un resto HES, un resto PEG, modificaciones biodegradables y combinaciones de los mismos.

- 25 En una realización del primer aspecto, la modificación es un resto PEG que consiste en un PEG lineal o ramificado, en donde preferiblemente el peso molecular del PEG lineal o ramificado es desde aproximadamente 20.000 a 120.000 Da, más preferiblemente desde aproximadamente 30.000 a 80.000 Da y lo más preferiblemente de aproximadamente 40.000 Da.

- 30 En una realización del primer aspecto, la modificación es un resto HES, en donde preferiblemente el peso molecular del resto HES es desde aproximadamente 10.000 a 200.000 Da, más preferiblemente desde aproximadamente 30.000 a 170.000 Da y lo más preferiblemente de aproximadamente 150.000 Da.

En una realización del primer aspecto, la modificación se fija a la molécula de ácido nucleico mediante un enlazador, en donde el enlazador es preferiblemente un enlazador bioestable o biodegradable.

- 35 En una realización del primer aspecto, la modificación se fija a la molécula de ácido nucleico en el nucleótido 5'-terminal de la molécula de ácido nucleico y/o el nucleótido 3'-terminal de la molécula de ácido nucleico y/o a un nucleótido de la molécula de ácido nucleico entre el nucleótido 5'-terminal de la molécula de ácido nucleico y el nucleótido 3'-terminal de la molécula de ácido nucleico.

En una realización del primer aspecto, los nucleótidos de la molécula de ácido nucleico o los nucleótidos que forman la molécula de ácido nucleico son nucleótidos L.

- 40 En una realización del segundo aspecto, el anticuerpo se selecciona a partir del grupo que comprende Rituximab, Ofatumumab, Cetuximab, Ibritumomab-Tiuxetan, Tositumomab, Trastuzumab, Bevacizumab y Alemtuzumab.

En una realización del segundo aspecto, el agente alquilante se selecciona a partir del grupo que comprende cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucilo, doxorubicina, doxorubicina liposómica, bendamustina, temozolomida y melfalán.

- 45 En una realización del segundo aspecto, el antimetabolito se selecciona a partir del grupo que comprende purinazatioprina, mercaptopurina, fludarabina, pentostatina y cladribina.

En una octava realización del segundo aspecto, el terpenoide vegetal se selecciona a partir del grupo que comprende un taxano, más preferiblemente se selecciona a partir del grupo que comprende docetaxel, paclitaxel, podofilotoxina y epotilona.

En una realización del segundo aspecto, el inhibidor de la topoisomerasa se selecciona a partir del grupo que comprende camptotecina, irinotecán y mitoxantrona.

En una realización del segundo aspecto, la leucemia se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia linfocítica crónica y leucemia mieloide aguda.

- 5 En una realización del segundo aspecto, el mieloma es mieloma múltiple.

En una realización del tercer aspecto, el agente farmacéuticamente activo adicional se selecciona a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, preferiblemente vincristina, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.

- 10 En una realización del tercer aspecto, el anticuerpo se selecciona a partir del grupo que comprende Rituximab, Ofatumumab, Cetuximab, Ibritumomab-Tiuxetan, Tositumomab, Trastuzumab, Bevacizumab y Alemtuzumab.

En una realización del tercer aspecto, el agente alquilante se selecciona a partir del grupo que comprende cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucilo, doxorubicina, doxorubicina liposómica, bendamustina, temozolomida y melfalán.

- 15 En una realización del tercer aspecto, el antimetabolito se selecciona a partir del grupo que comprende purinazatioprina, mercaptopurina, fludarabina, pentostatina y cladribina.

En una realización del tercer aspecto, el terpenoide vegetal se selecciona a partir del grupo de un taxano, más preferiblemente se selecciona a partir del grupo que comprende docetaxel, paclitaxel, podofilotoxina y epotilona.

- 20 En una realización del tercer aspecto, el inhibidor de la topoisomerasa se selecciona a partir del grupo que comprende camptotecina, irinotecán y mitoxantrona.

En una realización del tercer aspecto, la leucemia se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia linfocítica crónica y leucemia mieloide aguda.

En una realización del tercer aspecto, el mieloma es mieloma múltiple.

- 25 En una realización del cuarto aspecto, el anticuerpo se selecciona a partir del grupo que comprende Rituximab, Ofatumumab, Cetuximab, Ibritumomab-Tiuxetan, Tositumomab, Trastuzumab, Bevacizumab y Alemtuzumab.

En una realización del cuarto aspecto, el agente alquilante se selecciona a partir del grupo que comprende cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucilo, doxorubicina, doxorubicina liposómica, bendamustina, temozolomida y melfalán.

- 30 En una realización del cuarto aspecto, el antimetabolito se selecciona a partir del grupo que comprende purinazatioprina, mercaptopurina, fludarabina, pentostatina y cladribina.

En una realización del cuarto aspecto, el terpenoide vegetal se selecciona a partir del grupo que comprende un taxano, más preferiblemente se selecciona a partir del grupo de docetaxel, paclitaxel, podofilotoxina y epotilona.

En una realización del cuarto aspecto, el inhibidor de la topoisomerasa se selecciona a partir del grupo que comprende camptotecina, irinotecán y mitoxantrona.

- 35 En una realización del cuarto aspecto, la leucemia se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia linfocítica crónica y leucemia mieloide aguda.

En una realización del cuarto aspecto, el mieloma es mieloma múltiple.

En una realización del quinto aspecto, el anticuerpo se selecciona a partir del grupo que comprende Rituximab, Cetuximab, Ibritumomab-Tiuxetan, Tositumomab, Trastuzumab, Bevacizumab y Alemtuzumab.

- 40 En una realización del quinto aspecto, el agente alquilante se selecciona a partir del grupo que comprende cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucilo, doxorubicina, doxorubicina liposómica, bendamustina, temozolomida y melfalán.

En una realización del quinto aspecto, el antimetabolito se selecciona a partir del grupo que comprende purinazatioprina, mercaptopurina, fludarabina, pentostatina y cladribina.

- 45 En una realización del quinto aspecto, el terpenoide vegetal se selecciona a partir del grupo que comprende un taxano, más preferiblemente se selecciona a partir del grupo de docetaxel, paclitaxel, podofilotoxina y epotilona.

En una realización del quinto aspecto, el inhibidor de la topoisomerasa se selecciona a partir del grupo que comprende camptotecina, irinotecán y mitoxantrona.

En una realización del quinto aspecto, la leucemia se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia linfocítica crónica y leucemia mieloide aguda.

En una realización del quinto aspecto, el mieloma es mieloma múltiple.

5 Si bien no se desea estar ligado a ninguna teoría, los presentes inventores han encontrado que las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención inhiben la unión de SDF-1 a sus receptores de SDF-1 receptores y, por tanto, ya sea directa o indirectamente, se utilizan para el tratamiento del cáncer. Además, los presentes inventores han encontrado que las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención son adecuadas para bloquear la interacción de SDF-1 con los receptores de SDF-1, CXCR4 y CXCR7, respectivamente. Por lo tanto, la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de acuerdo con la presente invención también se puede entender como un antagonista de CXCR4 y CXCR7, respectivamente.

10 En cuanto a las diversas enfermedades, afecciones y trastornos que se pueden tratar o prevenir mediante el uso de las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención o composiciones, preferentemente composiciones farmacéuticas que comprenden las mismas, se debe tener en cuenta que este tipo de enfermedades, afecciones y trastornos son los que se describen en este documento, incluyendo y en particular los descritos y establecidos en la parte introductoria de la presente solicitud. Por ello, los pasajes respectivos forman una parte integrante de la presente descripción que describe la idoneidad de las moléculas de ácido nucleico para la prevención y el tratamiento, respectivamente, de dichas enfermedades, afecciones y trastornos.

15 Tal como se utiliza en esta memoria, el término SDF-1 se refiere a cualquier SDF-1, incluyendo, pero no limitado a, SDF-1 de mamífero. Preferiblemente, el SDF-1 de mamífero se selecciona a partir del grupo que comprende SDF-1 de ratón, rata, conejo, hámster, mono y ser humano. Más preferiblemente, el SDF-1 es SDF-1 humano también conocido como SDF-1 α (SEQ ID NO: 1) y/o SDF-1 β humano (SEQ ID NO: 2), lo más preferiblemente, el SDF-1 humano también se denomina también SDF-1 α (SEQ ID NO: 1).

20 SDF-1 actúa a través de dos receptores diferentes, los receptores CXCR4 y RDC1/CXCR7 (Balabanian, Lagane et al. 2005a, Burns, Summers et al. 2006) (véase la parte introductoria de la presente solicitud). Una expresión elevada de CXCR4 y CXCR7 se mostró para varios tipos de cáncer, como se describe en el presente documento.

25 Debido a que SDF-1 actúa a través de dos receptores diferentes, un tratamiento de una enfermedad o un trastorno relacionado con SDF-1 mediante un compuesto específico para uno de los dos receptores de SDF-1, CXCR4 y CXCR7:

30 a) debe ser menos eficaz debido a los dos receptores de SDF-1 diferentes, expresados en células, preferiblemente células cancerosas;

b) se limita a una población distinta de células, preferiblemente a una población distinta de células cancerosas, debido a los receptores de SDF-1 individuales expresados sobre las células.

35 Cáncer es un término para neoplasias malignas, un grupo grande y heterogéneo de enfermedades en las que las células presentan un crecimiento incontrolado, invasión y frecuentemente metástasis, en donde las células cancerosas se dispersan a otros lugares en el cuerpo, a los ganglios linfáticos regionales o a sitios del cuerpo distantes, tales como cerebro, hueso, hígado u otros órganos. Estas tres propiedades malignas del cáncer diferencian los tumores malignos de tumores benignos, por lo que, tal como se utiliza en esta memoria, el término cáncer debe incluir también los tumores malignos que a su vez también se denominan en este documento tumores. Los tumores malignos se dividen en dos categorías en función de su origen: tumores hematológicos y sólidos. Los tumores hematológicos son tipos de cáncer que afectan a la sangre, la médula ósea y los ganglios linfáticos. Los tumores sólidos están formados por un crecimiento anormal de las células del tejido corporal distintas de la sangre, la médula ósea y las células linfáticas.

Las formas preferidas de cáncer son las siguientes:

Carcinoma adrenocortical

45 Cánceres relacionados con el SIDA, como sarcoma de Kaposi y linfoma

Cáncer anal

Cáncer de apéndice

Tumor teratoideo/rabdoideo atípico

Carcinoma de células basales

50 Cáncer de conducto biliar, extrahepático

Cáncer de vejiga

- Cáncer de huesos
 - Osteosarcoma
 - Histiocitoma fibroso maligno
 - Glioma del tronco cerebral
- 5 Tumor cerebral tal como astrocitomas, tumores cerebrales y de la médula espinal, glioma del tronco cerebral, tumor teratoideo/rabdoideo atípico del sistema nervioso central, infantil, tumores embrionarios del sistema nervioso central, craneofaringioma, ependimoblastoma, ependimoma, meduloblastoma, meduloepitelioma, tumores del parénquima pineal de diferenciación intermedia, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales y pineoblastoma
 - Cáncer de mama
- 10 Tumores bronquiales
 - Tumor carcinoide
 - Carcinoma de origen primario desconocido
 - Cáncer del sistema nervioso central tal como tumor teratoideo/rabdoideo atípico y linfoma
 - Cáncer cervical
- 15 Cánceres infantiles
 - Cordoma
 - Trastornos mieloproliferativos crónicos
 - Cáncer de colon
 - Cáncer colorrectal
- 20 Craneofaringioma
 - Linfoma cutáneo de linfocitos T
 - Tumores embrionales
 - Cáncer de endometrio
 - Ependimoblastoma
- 25 Ependimoma,
 - Cáncer esofágico
 - Estesioneuroblastoma
 - Familia de tumores de sarcoma de Ewing
 - Tumor de células germinales extracraneal
- 30 Tumor de células germinales extragonadal
 - Cáncer de conducto biliar extrahepático
 - Cáncer de ojos tal como melanoma intraocular y retinoblastoma
 - Histiocitoma fibroso de hueso
 - Osteosarcoma
- 35 Cáncer de vesícula biliar
 - Cáncer gástrico (estómago)
 - Tumor carcinoide gastrointestinal
 - Tumores del estroma gastrointestinal (GIST)

- Tumor de las células germinales (extracraneal, extragonadal o de ovario)
- Tumor trofoblástico gestacional
- Glioma
- Leucemia de células pilosas
- 5 Cáncer de cabeza y cuello
 - Cáncer de corazón
 - Cáncer hepatocelular (hígado)
 - Histiocitosis
 - Cáncer hipofaríngeo
- 10 Melanoma intraocular
 - Tumores de las células de los islotes (páncreas endocrino)
 - Sarcoma de Kaposi
 - Cáncer de riñón
 - Histiocitosis de las células de Langerhans
- 15 Cáncer de laringe
 - Leucemia tal como leucemia linfoblástica aguda (abrev. ALL), leucemia mieloide aguda (abrev. AML), leucemia linfocítica crónica (abrev. CLL), leucemia mielógena crónica (abrev. CML) y leucemia de células pilosas
 - Cáncer de labio y cavidad oral
- 20 Cáncer de hígado (primario)
 - Carcinoma lobular in situ (LCIS)
 - Cáncer de pulmón
 - Linfoma tal como linfoma relacionado con el SIDA, de Burkitt, micosis fungoide y síndrome de Sézary, de Hodgkin, de no Hodgkin y leucemia del sistema nervioso central (abrev. SNC) primaria
- 25 Macroglobulinemia
 - Histiocitoma fibroso maligno de hueso y osteosarcoma
 - Meduloblastoma
 - Meduloepitelioma
 - Melanoma
- 30 Carcinoma de células de Merkel
 - Mesotelioma
 - Cáncer escamoso metastásico de cuello con tumor primario oculto
 - Carcinoma de tracto de línea media que implica el gen NUT
 - Cáncer de boca
- 35 Síndromes de neoplasia endocrina múltiple
 - Mieloma múltiple
 - Micosis fungoide

- Síndromes mielodisplásicos
- Neoplasmas mielodisplásicos/mieloproliferativos
- Trastornos mieloproliferativos
- Cáncer de la cavidad nasal y seno paranasal
- 5 Cáncer nasofaríngeo
- Neuroblastoma
- Cáncer de pulmón de células no pequeñas
- Cáncer oral
- Cáncer de la cavidad oral
- 10 Cáncer orofaríngeo
- Osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno del hueso
- Cáncer de ovario
- Cáncer pancreático
- Papilomatosis
- 15 Paraganglioma
- Cáncer de la cavidad nasal y seno paranasal
- Cáncer paratiroideo
- Cáncer de pene
- Cáncer faríngeo
- 20 Feocromocitoma
- Tumores del parénquima pineal de diferenciación intermedia
- Pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales
- Tumor de la pituitaria
- Neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple
- 25 Blastoma pleuropulmonar, infantil
- Linfoma del sistema nervioso central (en forma abreviada SNC) primario
- Cáncer de próstata
- Cáncer rectal
- Cáncer de células renales (riñón)
- 30 Cáncer de células de transición de pelvis renal y uréter
- Retinoblastoma
- Rabdomiosarcoma
- Cáncer de las glándulas salivares
- 35 Sarcoma tal como la familia de tumores de sarcoma de Ewing, sarcoma de Kaposi, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma uterino
- Cáncer de piel tal como melanoma, carcinoma de células de Merkel y no melanoma
- Cáncer de pulmón de células pequeñas

- Cáncer de intestino delgado
- Sarcoma de tejidos blandos
- Carcinoma de células escamosas
- Cáncer de cuello escamoso, cáncer de estómago (gástrico)
- 5 Tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales
- Linfoma de linfocitos T
- Cáncer testicular
- Cáncer de garganta
- Timoma y carcinoma tímico
- 10 Cáncer de tiroides
- Cáncer de células de transición de la pelvis renal y el uréter
- Tumor trofoblástico, gestacional
- Cáncer de células de transición de la pelvis renal y el uréter
- Cáncer de uretra
- 15 Cáncer uterino, endometrial
- Sarcoma uterino
- Cáncer vaginal
- Cáncer de vulva
- Macroglobulinemia de Waldenström
- 20 Tumor de Wilms

25 Se ha mostrado que el eje SDF-1 - CXCR4 desempeña un papel en la movilización de las células madre, incluyendo células madre de cáncer, vasculogénesis, crecimiento tumoral y metástasis. El receptor de SDF-1, CXCR4, se expresa en una variedad de cánceres y tumores malignos hematológicos *in vivo* tal como CXCR7 (Maksym, Tarnowski et al., 2009; Wang, Shiosawa et al., 2008; Miao, Lucker et al., 2007). La señal de crecimiento e invasión para las células tumorales es SDF-1, en particular si las células expresan los receptores de SDF-1 (Batchelor et al., 2007; Zhu et al., 2009; Xu et al., 2009; Kozin et al., 2010).

30 CXCR4, así como SDF-1 están inducidos por hipoxia (Ceradini et al. 2004). Junto con VEGF, representan un eje sinérgico potente que inicia y mantiene las vías angiogénicas/vasculogénicas (Kryczek et al. 2005). La función en la vasculogénesis se apoya en la evidencia de que SDF-1 atrae las células progenitoras endoteliales que expresan CXCR4 desde la circulación (Sengupta et al. 2005). El reclutamiento mediado por SDF-1 - CXCR4, de células procedentes de la médula ósea que apoyan la vascularización, también puede ser la razón de la recurrencia de los glioblastomas después de una terapia de radiación (Kioi et al., 2010). Como han demostrado Kioi et al., en un modelo de xenoinjerto de ratón de glioblastoma intracraneal multiforme (abrev. GBM), el tratamiento de pacientes con GBM con una dosis elevada de radiación es menos eficaz debido a que la radiación inducía el reclutamiento de células procedentes de la médula ósea (abrev. BMDCs). El bloqueo de la interacción de SDF-1 y su receptor CXCR4 a través del antagonista de CXCR4, AMD3100, impedía la afluencia de BMDCs al tumor irradiado (Kioi et al., 2010). En los datos presentados en 2010 por Tseng et al. con un modelo de glioblastoma de rata inducido con ENU, un modelo que imita estrechamente el GBM humano, en donde además de CXCR4, también CXCR7 estaba implicado en el reclutamiento de BMDCs inducido por radiación. En este estudio el antagonista de CXCR7, CCX2206, impedía la afluencia de BMDCs en el tumor irradiado (Tseng et al., 2010). De acuerdo con ello y debido a que las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención son capaces de bloquear la interacción de SDF-1 y CXCR4 y también de SDF-1 y CXCR7, el efecto de una supervivencia después de la radiación se espera que sea mejor que el mostrado para el uso de solo uno de los antagonistas de CXCR4 y CXCR7.

45 Además, SDF-1 induce la secreción de VEGF, mientras que VEGF aumenta la expresión de CXCR4 (Salcedo et al. 1999) y las señales de la angiogénesis. Por lo tanto la inhibición del eje SDF-1 - CXCR4 puede reducir o prevenir el crecimiento tumoral mediante la inhibición de la angiogénesis/vasculogénesis, bien con una monoterapia o en particular en combinación con otros agentes anti vasculares tales como inhibidores de VEGF.

Además se sugiere que la 'migración dirigida' de células cancerosas que expresan CXCR4 hacia órganos que expresan SDF-1, dirige las células metastásicas preferentemente hacia el hígado, médula ósea, pulmón y ganglios linfáticos (Alsayed et al. 2007; Burger & Peled 2009) y por lo tanto el eje SDF-1 - CXCR4 tiene un papel en la metástasis.

5 Por lo tanto, la inhibición del eje SDF-1 - CXCR4 y el eje SDF-1 - CXCR7 con solo un compuesto tal como la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de acuerdo con la presente invención, debe ser eficaz en el tratamiento del cáncer y/o tumores, en particular, una amplia gama de tumores hematológicos y sólidos, ya sea como monoterapia o en combinación con otros tratamientos tales como, pero no limitados a, terapia con fármacos, terapia celular, radiación y cirugía. Por otra parte, en comparación con un compuesto que se une e inhibe uno de los dos receptores de SDF-1, CXCR4 y CXCR7, la inhibición del eje SDF-1 - CXCR4 y el eje SDF-1 - CXCR7 con solo un compuesto tal como la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de acuerdo con la presente invención, debería ser más eficaz en el tratamiento del cáncer y/o tumores, en particular una amplia gama de tumores hematológicos y sólidos, tanto como monoterapia o en combinación con otros tratamientos, tales como pero no limitados a terapia con fármacos, terapia celular, radiación y cirugía.

15 Dentro de la presente invención se encuentra que la **terapia con fármacos** comprende el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno a través de un fármaco, preferiblemente un agente farmacéuticamente activo, más preferiblemente un agente farmacéuticamente activo tal como se define en el presente documento.

Tal como se utiliza preferiblemente en la presente memoria, en la terapia de células también denominada terapia celular, un tejido procesado procedente de los órganos, los embriones o los fetos de animales tales como ovejas o vacas, se inyecta en un sujeto que padece o tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, en donde la enfermedad o el trastorno es preferiblemente cáncer y la terapia celular es una forma de tratamiento del cáncer.

En teoría, los cánceres no hematológicos se pueden curar si se eliminan totalmente mediante **cirugía**. Cuando el cáncer se ha diseminado por otras partes del cuerpo antes de la cirugía, una extirpación quirúrgica completa es generalmente imposible. Ejemplos de procedimientos quirúrgicos o de cirugía contra el cáncer incluyen la mastectomía para el cáncer de mama, la prostatectomía para el cáncer de próstata y la cirugía de cáncer pulmonar para el cáncer de pulmón de células no pequeñas. El objetivo de la cirugía puede ser o bien la eliminación solo del tumor, o de todo el órgano. La cirugía se combina a menudo con otros tratamientos contra el cáncer o terapias contra el cáncer, como la quimioterapia y la radiación. La cirugía del cáncer se puede utilizar para lograr uno o varios objetivos. Tales objetivos pueden incluir, pero no se limitan a, prevención, diagnóstico, estadificación, tratamiento primario, reducción de volumen y alivio de los síntomas o efectos secundarios del cáncer.

La radioterapia (también denominada terapia de rayos X o **radiación**) es el uso de una radiación ionizante para destruir las células cancerosas. La radioterapia se utiliza en la técnica médica para el tratamiento de casi cualquier tipo de tumor sólido. La radiación también se utiliza para tratar la leucemia y el linfoma. La radioterapia daña o destruye las células en la zona que se está tratando, al dañar su material genético, haciendo que sea imposible que estas células continúen creciendo y dividiéndose. Los efectos de la radioterapia están localizados y confinados a la región que está siendo tratada. La dosis de radiación en cada sitio depende de una serie de factores, que incluyen la radiosensibilidad de cada tipo de cáncer y de si hay tejidos y órganos cercanos que puedan ser dañados por la radiación. El objetivo de la radioterapia es dañar tantas células cancerosas como sea posible, mientras que se limita el daño a los tejidos sanos cercanos.

Adicionalmente, se prefiere una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de acuerdo con la presente invención, si el efecto fisiológico del eje SDF-1 - CXCR4 y/o el eje SDF-1 - CXCR7 está relacionado con altos niveles en plasma de SDF-1. Por ejemplo, determinados agentes terapéuticos tales como paclitaxel y bevacizumab producen una elevación de los niveles en plasma de SDF-1 que puede tener un efecto negativo sobre la terapia tumoral mediante una liberación de células progenitoras endoteliales obtenidas a partir de la médula ósea o mediante una estimulación del crecimiento, invasividad o metástasis (Shaked, Henke et al., 2008; Xu, Duda et al., 2009). En este caso, la aplicación conjunta de un ácido nucleico que se une a SDF-1 mejorará los efectos de los niveles plasmáticos elevados de SDF-1.

Además, la inhibición del eje SDF-1 - CXCR4 y/o el eje SDF-1 - CXCR7 con una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de acuerdo con la presente invención, mejorará los efectos antitumorales de otros agentes terapéuticos mediante una interrupción de las interacciones estromales adhesivas con las células de la leucemia y otras células cancerosas que confieren supervivencia y resistencia a los fármacos para estas terapias (Jin et al. 2008; Nervi et al. 2009). Un uso de este tipo de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 se conoce como un procedimiento conocido como quimiosensibilización.

La sensibilización de las células tumorales frente a una quimioterapia o radioterapia se conoce como 'quimiosensibilización' o 'radiosensibilización', respectivamente. Tal 'quimiosensibilización' o 'radiosensibilización', preferentemente mediante moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, sensibiliza al sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, por lo que el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno, en donde la enfermedad o el trastorno es preferentemente cáncer. Un tratamiento de este tipo utilizado junto con un tratamiento primario, de preferencia un tratamiento del cáncer, es una

terapia complementaria de acuerdo con la presente invención y también se denomina terapia coadyuvante. Los fines de una terapia complementaria de este tipo son ayudar a un tratamiento primario, preferiblemente un tratamiento de cáncer primario. Por lo tanto, la inhibición del eje SDF-1 - CXCR4 y/o el eje SDF-1 - CXCR7 será particularmente eficaz en el tratamiento de una amplia gama de tumores hematológicos y sólidos, ya sea como monoterapia o en combinación con otros tratamientos tales como, pero no limitados a, terapia con fármacos, terapia celular, radiación y cirugía.

Con estos medios y en vista de la implicación señalada de SDF-1 y los receptores de SDF-1, tales como CXCR4 y CXCR7, la unión de SDF-1 y la interacción entre SDF-1 y las moléculas de ácido nucleico que inhiben el receptor de SDF-1 de acuerdo con la presente invención, pueden ayudar a atenuar tales enfermedades, por lo que la inhibición de SDF-1 con las moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de acuerdo con la presente invención conduce a una quimiosensibilización de las células malignas que se van a tratar con quimioterapia, a una reducción o inhibición del crecimiento y la invasividad, una inhibición de la angiogénesis/vasculogénesis, una inhibición de la metástasis y/o una inhibición de los niveles plasmáticos elevados de SDF-1, producidos por la respuesta del hospedador frente a la quimioterapia.

Además, la presente invención se basa en el hallazgo sorprendente de que es posible generar moléculas de ácido nucleico que se unen específicamente y con alta afinidad a SDF-1, inhibiendo de este modo y antagonizando los efectos de SDF-1, en particular los efectos de SDF-1 sobre sus receptores, tales como CXCR4 y CXCR7.

Un antagonista de SDF-1 es una molécula que se une a SDF-1 - tal como moléculas de ácido nucleico de que se unen a SDF-1 de acuerdo con la presente invención - e inhibe la función de SDF-1, preferiblemente en un modelo de ensayo *in vitro* o *in vivo* como se describe en los Ejemplos.

Está dentro de la presente invención que el ácido nucleico de acuerdo con la presente invención sea una molécula de ácido nucleico. Por tanto, los términos ácido nucleico y molécula de ácido nucleico se usan en esta memoria de manera sinónima, si no se indica lo contrario. Por otra parte, tales ácidos nucleicos también se denominan en este documento preferentemente las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención, los ácidos nucleicos de la invención o las moléculas de ácido nucleico de la invención.

Las características del ácido nucleico de acuerdo con la presente invención como se describen en esta memoria, se pueden materializar en cualquier aspecto de la presente invención en donde se emplea el ácido nucleico, ya sea solo o en cualquier combinación.

Como se indica con más detalle en este documento, los presentes inventores han identificado una serie de diferentes moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1, en donde las moléculas de ácido nucleico se pueden caracterizar en términos de tramos de nucleótidos que también se denominan en este documento Cajas (véase el Ejemplo 1). Como se muestra experimentalmente en los ejemplos 5 a 11, los inventores pudieron demostrar sorprendentemente en varios sistemas que las moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 son adecuadas para el tratamiento del cáncer y son capaces realmente de tratar el cáncer.

Los diferentes tipos de moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 comprenden tres tramos diferentes de nucleótidos: el primer tramo terminal de nucleótidos, el tramo central de nucleótidos y el segundo tramo terminal de nucleótidos. En general, las moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de la presente invención comprenden en su extremo 5' y en el extremo 3' los tramos terminales de nucleótidos: el primer tramo terminal de nucleótidos y el segundo tramo terminal de nucleótidos (también denominados tramo 5'-terminal de nucleótidos y tramo 3'-terminal de nucleótidos). El primer tramo terminal de nucleótidos y el segundo tramo terminal de nucleótidos se pueden, en principio debido a su complementariedad de bases, hibridar entre sí, por lo que tras la hibridación se forma una estructura de doble cadena. Sin embargo, una hibridación de este tipo no se realiza necesariamente en la molécula en condiciones fisiológicas y/o no fisiológicas. Los tres tramos de nucleótidos de moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 - el primer tramo terminal de nucleótidos, el tramo central de nucleótidos y el segundo tramo terminal de nucleótidos - están dispuestos entre sí en dirección 5' → 3': el primer tramo terminal de nucleótidos, el tramo central de nucleótidos y el segundo tramo terminal de nucleótidos. Sin embargo, alternativamente, el segundo tramo terminal de nucleótidos, el tramo central de nucleótidos y el primer tramo terminal de nucleótidos están dispuestos entre sí en dirección 5' → 3'.

Las diferencias en las secuencias de las cajas o tramos definidos entre las diferentes moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 influyen en la afinidad de la unión a SDF-1. Basándose en un análisis de la unión de las diferentes moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de la presente invención, el tramo central y los nucleótidos que lo forman son individualmente y más preferiblemente en su totalidad esenciales para la unión a SDF-1 humano.

El término 'tramo' y la expresión 'tramo de nucleótidos' se utilizan en el presente documento de una manera sinónima, si no se indica lo contrario.

En una realización preferida, el ácido nucleico de acuerdo con la presente invención es una molécula sencilla de ácido nucleico. En una realización adicional, la molécula sencilla de ácido nucleico está presente como una plurali-

dad de moléculas sencillas de ácido nucleico o como una pluralidad de especies de moléculas sencillas de ácido nucleico.

Los expertos en la técnica reconocerán que la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la invención consiste preferiblemente en nucleótidos que están ligados covalentemente entre sí, preferiblemente a través de uniones o enlaces fosfodiéster.

Está dentro de la presente invención que los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención que comprenden dos o más tramos o parte(s) de los mismos, en principio, se pueden hibridar entre sí. Tras dicha hibridación se forma una estructura de doble hebra. Los expertos en la técnica reconocerán que tal hibridación puede tener lugar o no, en particular en condiciones *in vitro* y/o *in vivo*. También, en caso de una hibridación de este tipo, no es necesariamente el caso en el que la hibridación se produce a lo largo de toda la longitud de los dos tramos en los que, al menos basándose en las reglas de apareamiento de bases, tal hibridación y por lo tanto la formación de una estructura de doble hebra se puede producir, en principio. Tal como se utiliza preferiblemente en la presente memoria, una estructura de doble hebra es una parte de una molécula de ácido nucleico o una estructura formada por dos o más hebras distintas o dos tramos distintos espacialmente de una sola hebra de una molécula de ácido nucleico, en donde al menos una, preferiblemente dos o más pares de bases están presentes, las cuales forman parte del apareamiento de bases, preferentemente de acuerdo con las reglas de apareamiento de bases de Watson-Crick. También reconocerán los expertos en la técnica que otros apareamientos de bases, tales como el apareamiento de bases de Hoogsteen puede tener lugar o formar dicha estructura de doble hebra. También se reconocerá que la característica de dos tramos que se hibridan preferiblemente indica que tal hibridación se supone que tiene que suceder debido a la complementariedad de bases de los dos tramos.

En una realización preferida, el término disposición, tal como se usa en el presente documento, significa el orden o la secuencia de características o elementos estructurales o funcionales descritos en este documento, en relación con los ácidos nucleicos descritos en este documento.

La persona experta en la técnica reconocerá que los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención son capaces de unirse a SDF-1. Sin desear estar ligado a ninguna teoría, los presentes inventores suponen que la unión a SDF-1 se produce como resultado de una combinación de rasgos tridimensionales o elementos de la molécula de ácido nucleico reivindicada, que son causados por la orientación y los patrones de plegamiento de la secuencia de nucleótidos primaria que forman tales rasgos o elementos, en donde preferiblemente tales rasgos o elementos son el primer tramo terminal de nucleótidos, el tramo central de nucleótidos y el segundo tramo terminal de nucleótidos de moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1. Es evidente que el rasgo o elemento individual puede estar formado por varias secuencias individuales diferentes cuyo grado de variación puede variar dependiendo de la estructura tridimensional que tiene que formar tal elemento o rasgo. La característica de unión general de los ácidos nucleicos reivindicados es el resultado de la interacción de los diversos elementos y rasgos, respectivamente, que finalmente producen la interacción del ácido nucleico reivindicado con su diana, es decir, SDF-1. De nuevo, sin desear estar ligado a ninguna teoría, el tramo central de nucleótidos que es característico de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, parece ser importante para mediar en la unión de las moléculas de ácido nucleico reivindicadas con SDF-1. En consecuencia, los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención son adecuados para la interacción con SDF-1. También, la persona experta en la técnica reconocerá que los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención son antagonistas de SDF-1. Debido a esto, los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención son adecuados para el tratamiento y la prevención, respectivamente, de cualquier enfermedad o afección que esté asociada o causada por SDF-1. Tales enfermedades y afecciones se pueden tomar de la técnica anterior que establece que SDF-1 está implicado o asociado con dichas enfermedades y afecciones, respectivamente, proporcionando el fundamento científico para el uso terapéutico de los ácidos nucleicos de acuerdo con la invención.

Los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención también comprenderán ácidos nucleicos que son esencialmente homólogos a las secuencias particulares dadas a conocer en el presente documento. El término sustancialmente homólogo se entenderá como que la homología es de al menos 75%, preferiblemente 85%, más preferiblemente 90% y lo más preferiblemente más del 95%, 96%, 97%, 98% o 99%.

El porcentaje real de nucleótidos homólogos presentes en el ácido nucleico de acuerdo con la presente invención dependerá del número total de nucleótidos presentes en el ácido nucleico. El porcentaje de modificación puede estar basado en el número total de nucleótidos presentes en el ácido nucleico.

La homología entre dos moléculas de ácido nucleico se puede determinar tal y como es conocido por una persona experta en la técnica. Más específicamente, un algoritmo de comparación de secuencias se puede utilizar para calcular el porcentaje de homología de secuencia para la o las secuencias de la prueba, con respecto a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa designados. La secuencia de prueba es, preferiblemente, la secuencia o la molécula de ácido nucleico que se dice que es homóloga o que se va a analizar si es homóloga, y si es así, en qué grado, a una molécula de ácido nucleico diferente, en donde dicha molécula de ácido nucleico diferente también se denomina secuencia de referencia. En una realización, la secuencia de referencia es una molécula de ácido nucleico como se describe en esta memoria, preferiblemente una molécula de ácido nucleico que tiene una secuencia de acuerdo con una cualquiera de SEQ ID NO: 5 a SEQ ID NO: 225, más preferiblemente una molécula de ácido nucleico que tiene una secuencia de acuerdo con una cualquiera de SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 28, SEQ

ID NO: 120, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 223, SEQ ID NO: 224, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 146, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 143 y SEQ ID NO: 144. Una alineación óptima de las secuencias para realizar una comparación, se puede realizar, p. ej., mediante el algoritmo de homología local de Smith & Waterman (Smith & Waterman, 1981) mediante el algoritmo de homología por alineación de Needleman & Wunsch (Needleman & Wunsch, 1970) mediante el método de búsqueda de similitud de Pearson & Lipman (Pearson & Lipman, 1988), mediante implementaciones informáticas de esos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFAS-TA en el paquete informático de Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.), o mediante una inspección visual.

Un ejemplo de un algoritmo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia, es el algoritmo utilizado en la herramienta básica de búsqueda de alineamiento local (en adelante "BLAST"), véase, por ejemplo, Altschul et al. (Altschul et al. 1990 y Altschul et al., 1997). El programa informático para realizar análisis BLAST está disponible al público a través del National Center for Biotechnology Information (de aquí en adelante "NCBI"). Los parámetros por defecto utilizados en la determinación de la identidad de secuencia utilizando el programa informático disponible en NCBI, por ejemplo, BLASTN (para secuencias de nucleótidos) y BLASTP (para secuencias de aminoácidos) se describen en McGinnis et al. (McGinnis et al., 2004).

Los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención también comprenderán ácidos nucleicos que tienen un cierto grado de identidad con respecto a los ácidos nucleicos descritos en este documento y definidos por su secuencia de nucleótidos. Más preferiblemente, la presente invención también comprende aquellas moléculas de ácido nucleico que tienen una identidad de al menos 75%, preferiblemente 85%, más preferiblemente 90% y lo más preferiblemente más del 95%, 96%, 97%, 98% o 99% con respecto a los ácidos nucleicos descritos en este documento y definidos por su secuencia de nucleótidos o una parte de la misma.

La expresión ácido nucleico de la invención o ácido nucleico de acuerdo con la presente invención también comprenderá los ácidos nucleicos que comprenden las secuencias de ácidos nucleicos descritas en este documento o parte de las mismas, tal como, por ejemplo, un metabolito o un derivado del ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, preferiblemente en la medida en que los ácidos nucleicos o dichas partes están involucrados en o son capaces de unirse a SDF-1. Un ácido nucleico de este tipo se puede obtener a partir de los descritos en este documento, por ejemplo, mediante truncamiento. El truncamiento puede estar relacionado con uno o ambos extremos de los ácidos nucleicos tal y como se describen en esta memoria. El truncamiento también se puede relacionar con la secuencia interna de nucleótidos, es decir, puede estar relacionado con el o los nucleótidos entre el nucleótido del extremo 5' y 3' terminal, respectivamente. Además, el truncamiento comprenderá la delección de tan solo un nucleótido de la secuencia de ácidos nucleicos descrita en este documento. El truncamiento también puede estar relacionado con más de un tramo del o de los ácidos nucleicos de la invención, por lo que el tramo puede tener hasta únicamente un nucleótido de longitud. La unión de un ácido nucleico de acuerdo con la presente invención puede estar determinada por los expertos en la técnica, usando ensayos de rutina o mediante el uso o la adopción de un método tal y como se describe en este documento, preferiblemente como se describe en el presente documento en la parte de los ejemplos.

Los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención pueden ser o bien ácidos nucleicos D o ácidos nucleicos L. Preferiblemente, los ácidos nucleicos de la invención son ácidos nucleicos L. Además es posible que una o varias partes del ácido nucleico estén presentes como ácidos nucleicos D o al menos una o varias partes de los ácidos nucleicos sean ácidos nucleicos L. El término "parte" de los ácidos nucleicos significará tan solo un nucleótido. Tales ácidos nucleicos se denominan generalmente en este documento ácidos nucleicos D y L, respectivamente. Por lo tanto, en una realización particularmente preferida, los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención consisten en nucleótidos L y comprenden al menos un nucleótido D. Tal nucleótido D se fija preferiblemente en una parte diferente de los tramos que definen los ácidos nucleicos según la presente invención, preferiblemente en aquellas partes de los mismos en donde está implicada una interacción con otras partes del ácido nucleico. Preferiblemente, un nucleótido D de este tipo está fijado en un extremo de cualquiera de los tramos y de cualquier ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, respectivamente. En una realización preferida adicional, tales nucleótidos D pueden actuar como un espaciador o un enlazador, preferiblemente fijando modificaciones tales como PEG y HES a los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención.

También está dentro de la presente invención que cada una y cualquiera de las moléculas de ácido nucleico descritas en el presente documento en su totalidad en términos de secuencia(s) de ácido nucleico, se limitan a la o las secuencias de nucleótidos particulares. En otras palabras, las expresiones "que comprende" o "comprende" deberán interpretarse en una realización de este tipo, en el sentido de que contienen o que consisten en.

También está dentro de la presente invención que los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención formen parte de un ácido nucleico más largo, en donde este ácido nucleico más largo comprende varias partes en donde al menos una parte de este tipo es un ácido nucleico, o una parte del mismo, de acuerdo con la presente invención. La o las otras partes de estos ácidos nucleicos más largos puede ser o bien uno o varios ácidos nucleicos D o ácidos nucleicos L. Se puede emplear cualquier combinación en relación con la presente invención. Esta o estas otras partes del ácido nucleico más largo pueden mostrar una función que es diferente de la unión, de preferencia de la unión a SDF-1. Una función posible es permitir la interacción con otras moléculas, en donde tales otras moléculas son preferiblemente diferentes de SDF-1, tal como, por ejemplo, para la inmovilización, reticulación, detección o amplifi-

cación. En una realización adicional de la presente invención, los ácidos nucleicos de acuerdo con la invención comprenden, como restos individuales o combinados, varios de los ácidos nucleicos de la presente invención. Un ácido nucleico de este tipo que comprende varios de los ácidos nucleicos de la presente invención, también está incluido en el término ácido nucleico más largo.

5 Los ácidos nucleicos L tal y como se usan en este documento, son ácidos nucleicos que consisten en nucleótidos L, preferiblemente que consisten completamente en nucleótidos L.

Los ácidos nucleicos D tal y como se usan en este documento, son ácidos nucleicos que consisten en nucleótidos D, preferiblemente que consisten completamente en nucleótidos D.

10 Las expresiones ácido nucleico y molécula de ácido nucleico se usan en el presente documento de forma intercambiable si no se indica explícitamente lo contrario.

Además, si no se indica lo contrario, cualquier secuencia de nucleótidos se indica en este documento en dirección 5' → 3'.

15 Tal y como se utiliza preferiblemente en el presente documento, cualquier posición de un nucleótido se determina o se hace referencia a la misma en relación con el extremo 5' de una secuencia, un tramo o un subtramo. Por consiguiente, un segundo nucleótido es el segundo nucleótido contado a partir del extremo 5' de la secuencia, tramo y subtramo, respectivamente. También, de acuerdo con ello, un penúltimo nucleótido es el segundo nucleótido contado a partir del extremo 3' de una secuencia, tramo y subtramo, respectivamente.

20 Independientemente de si el ácido nucleico de la invención consiste en nucleótidos D, nucleótidos L o una combinación de ambos, en donde la combinación es, por ejemplo, una combinación aleatoria o una secuencia definida de tramos que consisten en al menos un nucleótido L y al menos un ácido nucleico D, el ácido nucleico puede consistir en desoxirribonucleótido(s), ribonucleótido(s) o combinaciones de los mismos.

25 El diseño de los ácidos nucleicos de la invención como ácido nucleico L es ventajoso por varias razones. Los ácidos nucleicos L son enantiómeros de ácidos nucleicos naturales. Los ácidos nucleicos D, sin embargo, no son muy estables en soluciones acuosas y en particular en sistemas biológicos o muestras biológicas, debido a la presencia generalizada de nucleasas. Las nucleasas presentes en la naturaleza, en particular las nucleasas de células animales, no son capaces de degradar los ácidos nucleicos L. Debido a ello, la semivida biológica del ácido nucleico L es significativamente mayor en un sistema de este tipo, incluyendo el cuerpo animal y humano. Debido a la falta de degradación del ácido nucleico L, no se generan productos de degradación con nucleasas y por lo tanto no hay efectos secundarios que surjan de los mismos. Este aspecto delimita el ácido nucleico L, de facto de todos los demás compuestos que se utilizan en la terapia de enfermedades y/o trastornos que implican la presencia de SDF-1. Los ácidos nucleicos L que se unen específicamente a una molécula diana a través de un mecanismo diferente al emparejamiento de bases de Watson Crick, o los aptámeros que consisten parcial o completamente en nucleótidos L, particularmente aquellos en los que las partes del aptámero están implicadas en la unión del aptámero a la molécula diana, también se llaman Spiegelmers. Los aptámeros y Spiegelmers como tales son conocidos por una persona experta en la técnica y se describen, entre otras publicaciones, en 'The Aptamer Handbook' (compilador, Klussmann, 2006).

35 También está dentro de la presente invención que los ácidos nucleicos de la invención, independientemente de si están presentes como ácidos nucleicos D, ácidos nucleicos L o ácidos nucleicos D,L o si son ADN o ARN, pueden estar presentes como ácidos nucleicos de cadena de cadena sencilla o doble. Típicamente, los ácidos nucleicos de la invención son ácidos nucleicos monocatenarios que muestran estructuras secundarias definidas debido a la secuencia primaria y por lo tanto también pueden formar estructuras terciarias. Los ácidos nucleicos de la invención, sin embargo, también pueden ser de doble cadena en el sentido de que dos hebras que son complementarias o parcialmente complementarias entre sí, se hibridan entre sí.

45 Los ácidos nucleicos de la invención se pueden modificar. Tales modificaciones pueden estar relacionadas con el nucleótido aislado del ácido nucleico y son bien conocidas en la técnica. Ejemplos de tales modificaciones se describen, entre otros, en Venkatesan et al. (Venkatesan, Kim et al. 2003) y Kusser (Kusser 2000). Una modificación de este tipo puede ser un átomo de H, un átomo de F o un grupo O-CH₃ o un grupo NH₂ en la posición 2' del nucleótido individual en el que consiste el ácido nucleico. También, el ácido nucleico de acuerdo con la presente invención puede comprender al menos un nucleótido LNA. En una realización, el ácido nucleico de acuerdo con la presente invención consiste en nucleótidos LNA.

50 En una realización, los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención pueden ser un ácido nucleico de partes múltiples. Un ácido nucleico de partes múltiples tal y como se emplea en esta memoria, es un ácido nucleico que consiste en al menos dos cadenas de ácido nucleico distintas. Estas al menos dos cadenas de ácido nucleico forman una unidad funcional en donde la unidad funcional es un ligando de una molécula diana. Las al menos dos cadenas de ácido nucleico se pueden obtener a partir de cualquiera de los ácidos nucleicos de la invención, escindiendo la molécula de ácido nucleico para generar dos hebras o sintetizando un ácido nucleico que corresponde a una primera parte del ácido nucleico de la invención, es decir, el ácido nucleico general y otro ácido nucleico correspondiente a la segunda parte del ácido nucleico general. Se ha de tener en cuenta que tanto la escisión como la síntesis se pueden aplicar para generar un ácido nucleico de partes múltiples en donde hay más de dos hebras

55

como se ha ejemplificado anteriormente. En otras palabras, las al menos dos cadenas de ácido nucleico distintas son típicamente diferentes de dos hebras que son complementarias y que se hibridan entre sí, a pesar de que puede existir un cierto grado de complementariedad entre dichas al menos dos hebras de ácido nucleico distintas y en donde tal complementariedad puede producir la hibridación de dichas hebras distintas.

5 Por último, también está dentro de la presente invención que se materialice una estructura circular, es decir, completamente cerrada para los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención, es decir, que los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención están cerrados en una realización, preferiblemente a través de un enlace covalente, en donde más preferiblemente tal enlace covalente se establece entre el extremo 5' y el extremo 3' de las secuencias de ácidos nucleicos como se describen en esta memoria o cualquier derivado de los mismos.

10 Una posibilidad para determinar las constantes de unión de las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, es el uso de los métodos como se describe en el ejemplo 3 y 4, lo que confirma el hallazgo anterior de que los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención presentan un intervalo de valor K_D favorable. Una medida apropiada con el fin de expresar la intensidad de la unión entre la molécula de ácido nucleico individual y la diana que en el presente caso es SDF-1, es el llamado valor K_D , el cual así como el método para su determinación son conocidos por el experto en la técnica.

15 Preferiblemente, el valor K_D mostrado por los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención es inferior a 1 μM . Un valor K_D de aproximadamente 1 μM se dice que es característico de una unión no específica de un ácido nucleico a una diana. Como reconocerán los expertos en la técnica, el valor K_D de un grupo de compuestos tales como los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención, está dentro de un cierto intervalo. El valor K_D anteriormente mencionado de aproximadamente 1 μM es un límite superior preferido para el valor K_D . El límite inferior para el K_D de los ácidos nucleicos que se unen a la diana puede ser tan bajo como aproximadamente 10 picomolar o puede ser mayor. Está dentro de la presente invención que los valores K_D de ácidos nucleicos individuales que se unen a SDF-1 están preferiblemente dentro de ese intervalo. Los intervalos preferidos pueden ser definidos mediante una elección de cualquier primer número dentro de ese intervalo y cualquier segundo número dentro de este intervalo. Valores K_D superiores preferidos son 250 nM y 100 nM, valores K_D inferiores preferidos son 50 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM y 10 pM. El valor K_D superior más preferido es 2,5 nM, el valor K_D inferior más preferido es 100 pM.

20 Además de las propiedades de unión de las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención inhiben la función de la molécula diana respectiva que en el presente caso es SDF-1. La inhibición de la función de SDF-1, por ejemplo, la estimulación de los receptores respectivos como se ha descrito anteriormente, se consigue mediante la unión de moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención a SDF-1 y la formación de un complejo de una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención y MCP-1 y SDF-1. Un complejo de este tipo de una molécula de ácido nucleico y SDF-1 no puede estimular los receptores que normalmente son estimulados por SDF-1. Por tanto, la inhibición de la función receptora mediante moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la invención es independiente del receptor respectivo que se puede estimular con SDF-1 pero es el resultado de la prevención de la estimulación del receptor mediante MCP-1 y SDF-1 mediante las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención.

30 Una posibilidad para determinar la constante de inhibición de las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, es el uso de los métodos como se describen en el ejemplo 5 y 6 (para CXCR4 y CXCR7, respectivamente) lo que confirma el hallazgo anterior de que los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención muestran una constante de inhibición favorable que permite el uso de dichos ácidos nucleicos en un esquema de tratamiento terapéutico. Una medición apropiada con el fin de expresar la intensidad del efecto inhibitorio de la molécula de ácido nucleico individual sobre la interacción de la diana que en el presente caso es SDF-1 y el receptor respectivo, es la denominada concentración inhibitoria media máxima (abrev. CI_{50}), que, como tal, así como el método para su determinación son conocidos por los expertos en la técnica.

35 40 45 Preferiblemente, el valor de CI_{50} mostrado por las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención es inferior a 1 μM . Un valor de CI_{50} de aproximadamente 1 μM se dice que es característico de una inhibición no específica de funciones diana mediante una molécula de ácido nucleico. Como reconocerán los expertos en la técnica, el valor de CI_{50} de un grupo de compuestos tales como las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, está dentro de un cierto intervalo. El CI_{50} mencionado anteriormente de aproximadamente 1 μM es un límite superior preferido para el valor de CI_{50} . El límite inferior para la CI_{50} de moléculas de ácido nucleico que se unen a la diana puede ser tan bajo como aproximadamente 10 picomolar o puede ser mayor. Está dentro de la presente invención que los valores de CI_{50} de ácidos nucleicos individuales que se unen a SDF-1 están preferiblemente dentro de este intervalo. Los intervalos preferidos pueden ser definidos mediante la elección de cualquier primer número dentro de este intervalo y cualquier segundo número dentro de este intervalo. Valores de CI_{50} superiores preferidos son 250 nM y 100 nM, valores de CI_{50} inferiores preferidos son 50 nM, 10 nM, 1 nM, 100 pM y 10 pM. El valor de CI_{50} superior más preferido es 2,5 nM, el valor de CI_{50} inferior más preferido es 100 pM.

50 55 60 Las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención pueden tener cualquier longitud, siempre que todavía sean capaces de unirse a la molécula diana. Se reconocerá en la técnica que existen longitudes preferidas de los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención. Típicamente, la longitud es de entre 15 y 120 nucleótidos. Los expertos en la técnica reconocerán que cualquier número entero entre 15 y 120 es una longitud posible

para los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención. Los intervalos más preferidos para la longitud de los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención, son longitudes de aproximadamente 20 a 100 nucleótidos, aproximadamente 20 a 80 nucleótidos, aproximadamente 20 a 60 nucleótidos, aproximadamente 20 a 50 nucleótidos y aproximadamente 29 a 450 nucleótidos.

5 Está dentro de la presente invención que los ácidos nucleicos descritos en el presente documento comprenden un resto que preferiblemente es un resto de alto peso molecular y/o que preferiblemente permite modificar las características del ácido nucleico en términos de, entre otros, tiempo de residencia en el cuerpo del animal, preferiblemente el cuerpo humano. Una realización particularmente preferida de tal modificación es la PEGilación y la HESilación de los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención. Tal y como se utiliza en esta memoria, PEG significa polietilenglicol y HES es almidón hidroxietílico. Una PEGilación, tal y como se emplea preferiblemente en esta memoria, es la modificación de un ácido nucleico según la presente invención, en donde tal modificación consiste en un resto PEG que está fijado a un ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. Una HESilación, tal y como se emplea preferiblemente en esta memoria, es la modificación de un ácido nucleico según la presente invención, en donde tal modificación consiste en un resto HES que está fijado a un ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. Estas modificaciones, así como el procedimiento de modificación de un ácido nucleico usando tales modificaciones, se describen en el documento de solicitud de patente europea EP 1 306 382.

En el caso de que PEG sea un resto de alto peso molecular de este tipo, el peso molecular es preferiblemente de aproximadamente 20.000 a aproximadamente 120.000 Da, más preferiblemente de aproximadamente 30.000 a aproximadamente 80.000 Da y lo más preferiblemente de aproximadamente 40.000 Da. En el caso de que HES sea un resto de alto peso molecular de este tipo, el peso molecular es preferiblemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 1.000 kDa, más preferiblemente de aproximadamente 100 a aproximadamente 700 kDa y lo más preferiblemente de 200 a 500 kDa. HES muestra una sustitución molar de 0,1 a 1,5, más preferiblemente de 1 a 1,5 y presenta una sustitución de muestra expresada como la relación C2/C6 de aproximadamente 0,1 a 15, preferiblemente de aproximadamente 3 a 10. El procedimiento de modificación de HES se describe, por ejemplo, en el documento de solicitud de patente alemana DE 1 2004 006 249.8.

La modificación se puede realizar, en principio, en las moléculas de ácido nucleico de la presente invención en cualquier posición de las mismas. Preferiblemente, tal modificación se realiza ya sea en el nucleótido 5'-terminal, el nucleótido 3'-terminal y/o cualquier nucleótido entre el nucleótido 5' y el nucleótido 3' de la molécula de ácido nucleico.

La modificación y preferiblemente el resto PEG y/o HES se puede fijar a la molécula de ácido nucleico de la presente invención, ya sea directa o indirectamente, preferentemente a través de un enlazador. También está dentro de la presente invención que la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención comprende una o varias modificaciones, preferiblemente uno o varios restos PEG y/o HES. En una realización, la molécula enlazadora individual fija más de un resto PEG o resto HES a una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. El enlazador utilizado en conexión con la presente invención puede ser el mismo lineal o ramificado. Este tipo de enlazadores son conocidos por los expertos en la técnica y se describen adicionalmente en los documentos de solicitudes de patente WO2005/074993 y WO2003/035665.

En una realización preferida, el enlazador es un enlazador biodegradable. El enlazador biodegradable permite modificar las características del ácido nucleico de acuerdo con la presente invención en términos de, entre otros, tiempo de residencia en un cuerpo animal, preferiblemente en un cuerpo humano, debido a la liberación de la modificación desde el ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. El uso de un enlazador biodegradable puede permitir un mejor control del tiempo de residencia del ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. Una realización preferida de tal enlazador biodegradable es un enlazador biodegradable como se describe, pero no limitado a, en los documentos de solicitudes de patente internacional WO2006/052790, WO2008/034122, WO2004/092191 y WO2005/099768.

45 Está dentro de la presente invención que la modificación o el grupo de modificaciones sea una modificación biodegradable, en donde la modificación biodegradable se puede fijar a la molécula de ácido nucleico de la presente invención, ya sea directa o indirectamente, preferentemente a través de un enlazador. La modificación biodegradable permite modificar las características del ácido nucleico de acuerdo con la presente invención en términos de, entre otros, tiempo de residencia en un cuerpo animal, preferiblemente en un cuerpo humano, debido a la liberación o la degradación de la modificación desde el ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. El uso de una modificación biodegradable puede permitir un mejor control del tiempo de residencia del ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. Una realización preferida de tal modificación biodegradable es una modificación biodegradable como se describe, pero no limitada a, en los documentos de solicitudes de patente internacional WO2002/065963, WO2003/070823, WO2004/113394 y WO2000/41647, preferiblemente en WO2000/41647, página 18, línea 4 a 24.

55 Además de las modificaciones tal y como se han descrito anteriormente, otras modificaciones se pueden utilizar para modificar las características de los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención, en donde tales otras modificaciones se pueden seleccionar a partir del grupo de proteínas, lípidos tales como colesterol y cadenas de azúcar tales como amilasa, dextrano, etc.

Sin desear estar ligado a ninguna teoría, parece que mediante la modificación de los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención con un resto de alto peso molecular, tal como un polímero y más particularmente uno o varios de los polímeros descritos en el presente documento, que son preferiblemente fisiológicamente aceptables, la cinética de excreción cambia. Más particularmente, parece que debido al mayor peso molecular de tales ácidos nucleicos de la invención modificados y debido a que los ácidos nucleicos de la invención no están sujetos al metabolismo, en particular cuando están en la forma L, disminuye la excreción desde un cuerpo animal, preferiblemente desde un cuerpo de mamífero y más preferiblemente desde un cuerpo humano. Como la excreción se produce normalmente a través de los riñones, los presentes inventores suponen que la tasa de filtración glomerular de los ácidos nucleicos modificados se reduce de este modo significativamente, en comparación con los ácidos nucleicos que no tienen este tipo de modificación con peso molecular elevado, que da como resultado un aumento del tiempo de residencia en el cuerpo animal. En relación con ello, es especialmente digno de mención que, a pesar de que tal modificación con peso molecular elevado, la especificidad de los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención no se ve afectada de manera perjudicial. Por ello, los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención tienen entre otras, la característica sorprendente - que normalmente no se puede esperar de compuestos farmacéuticamente activos - de que una formulación farmacéutica que proporciona una liberación sostenida no se requiere necesariamente para proporcionar una liberación sostenida de los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención. En su lugar, los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención en su forma modificada que comprende un resto de elevado peso molecular, se pueden utilizar ya como tales, como una formulación de liberación sostenida, ya que actúan, debido a su modificación, como si ellos fueran liberados desde una formulación de liberación sostenida. Por lo tanto, la(s) modificación(es) de las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención tal y como se describen en el presente documento y las moléculas de ácido nucleico modificadas de este modo de acuerdo con la presente invención y cualquier composición que las comprende, pueden proporcionar una farmacocinética y biodistribución de las mismas, preferiblemente controlada y distinta. Esto también incluye un tiempo de residencia en la circulación y la distribución a los tejidos. Tales modificaciones se describen adicionalmente en el documento de solicitud de patente WO2003/035665.

Sin embargo, también está dentro de la presente invención que los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención no comprenden ninguna modificación y, en particular, ninguna modificación con peso molecular elevado, tal como PEGilación o HESilación. Una realización de este tipo es particularmente preferida cuando el ácido nucleico de acuerdo con la presente invención muestra una distribución preferencial a cualquier órgano o tejido diana en el cuerpo o cuando se desea un aclaramiento rápido del ácido nucleico de acuerdo con la presente invención desde el cuerpo después de la administración. Los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención, tal y como se describen en este documento, con un perfil de distribución preferencial a cualquier órgano o tejido diana en el cuerpo, permitirán un establecimiento de concentraciones locales eficaces en el tejido diana, manteniendo al mismo tiempo la concentración sistémica de los ácidos nucleicos baja. Esto permitiría el uso de dosis bajas, que no solo son beneficiosas desde un punto de vista económico, sino que también reducen una exposición innecesaria de otros tejidos al agente de ácido nucleico, reduciendo de este modo el riesgo potencial de efectos secundarios. Un aclaramiento rápido de los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención desde el cuerpo, después de la administración, podría ser deseable, entre otros, en caso de formación de imágenes *in vivo* o requerimientos específicos de una dosificación terapéutica, utilizando los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención o medicamentos que comprenden los mismos.

Los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención y/o los antagonistas de acuerdo con la presente invención, se pueden utilizar para la generación o la preparación de un medicamento. Tal medicamento o una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención, contiene al menos uno de los ácidos nucleicos de la invención seleccionado a partir del grupo de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, opcionalmente junto con otros compuestos farmacéuticamente activos, en donde el ácido nucleico de la invención preferiblemente actúa el mismo como compuesto farmacéuticamente activo. Tales medicamentos comprenden en realizaciones preferidas, al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un vehículo de este tipo puede ser, por ejemplo, agua, tampón, PBS, solución de glucosa, preferiblemente una solución equilibrada con 5% de sal de glucosa, almidón, azúcar, gelatina o cualquier otra sustancia vehículo aceptable. Tales vehículos son generalmente conocidos por el experto en la técnica. La persona experta en la técnica reconocerá que cualquiera de las realizaciones, el uso y aspectos o relacionados con el medicamento de la presente invención también son aplicables a la composición farmacéutica de la presente invención y viceversa.

La indicación, enfermedades y trastornos para cuyo tratamiento y/o prevención los ácidos nucleicos, las composiciones farmacéuticas y medicamentos de acuerdo con o preparados de acuerdo con la presente invención, son el resultado de la participación, ya sea directa o indirecta, de SDF-1 en el mecanismo patógeno respectivo.

Por supuesto, debido a que los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de acuerdo con la presente invención interactúan con o se unen a SDF-1 humano o murino, una persona experta en la técnica entenderá generalmente que los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de acuerdo con la presente invención se pueden utilizar fácilmente para el tratamiento, la prevención y/o el diagnóstico de cualquier enfermedad de seres humanos y animales, tal y como se describen en esta memoria. En relación con ello, es preciso reconocer que las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención se pueden utilizar para el tratamiento y la prevención de cualquiera de las enfermedades, trastornos o afecciones descritas en el presente documento, con independencia del modo de acción que subyace a tal enfermedad, trastorno y afección.

A continuación, se proporciona la racionalización para el uso de las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, en relación con las diversas enfermedades, trastornos y afecciones, haciendo de este modo que sea plausible la aplicabilidad terapéutica, preventiva y de diagnóstico reivindicada de las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. Con el fin de evitar cualquier repetición innecesaria, se debe reconocer que debido a la implicación del eje SDF-1 - receptor de SDF-1 como se describe en relación con esto, dicho eje puede estar dirigido por las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, de tal manera que se logra el efecto terapéutico, preventivo y de diagnóstico reivindicado. Además, debe reconocerse que las particularidades de las enfermedades, trastornos y afecciones, de los pacientes y cualquier detalle del régimen de tratamiento descrito en conexión con esto, puede ser un objeto de las realizaciones preferidas de la presente solicitud.

Para las neoplasias hematológicas, en particular, hay una evidencia considerable de que las células de leucemia pueden estar protegidas de las terapias convencionales (quimioterapia combinada con diversos agentes dirigidos a una diana, tales como anticuerpos específicos o inhibidores de cinasa) dentro de microambientes tisulares particulares, denominados nichos. Tales nichos se encuentran particularmente en la médula ósea en donde pueden albergar células malignas que luego son capaces de expandirse y producir una recaída después de la terapia inicial (Burger y Kipps, 2002; Burger y Burkley, 2007; Meads et al., 2008; Burger, Ghia et al., 2009). Esta conservación de las células malignas durante la quimioterapia se piensa que es debida en gran parte a un contacto directo entre las células malignas y las células del estroma (Lagneaux, Delforge et al. 1998; Kurtova, Balakrishnan et al., 2009; Damiano, Cress et al., 1999) sin embargo en la complejidad de este microambiente hay múltiples señales celulares y moleculares que pueden conducir a una resistencia de las células malignas frente a la quimioterapia. A pesar de esta complejidad, es evidente que las células del estroma producen la quimiocina SDF-1 y que las células normales y malignas que expresan CXCR4 migran ahí y se mantienen en tales nichos. Que esta vía molecular es una clave para esta interacción se demuestra por el hecho de que una inhibición específica de esta interacción es suficiente para liberar tanto células normales como malignas desde los nichos (Broxmeyer, Orschell et al., 2005; Devine, Flomenberg et al., 2004; Azab, Runnels et al., 2009). Además de debilitar la interacción con los nichos, se ha mostrado en numerosas neoplasias hematológicas que la interrupción del eje SDF-1 - CXCR4 produce un aumento de la vulnerabilidad de las células frente a otras terapias - la llamada 'quimiosensibilización'. Este quimiosensibilización se ha descrito para el mieloma múltiple (Azab, Runnels et al., 2009) y diversas leucemias agudas y crónicas (Dillmann, Veldwijk et al., 2009; Lagneaux, Delforge et al. 1998).

Por lo tanto el uso de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de acuerdo con la presente invención para interrumpir la interacción entre células malignas y su medio para sensibilizarlas a otras terapias, es una estrategia atractiva para el tratamiento de neoplasias hematológicas. Los ejemplos de terapias que se pueden mejorar mediante una combinación con ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de acuerdo con la presente invención, incluyen pero no se limitan a los siguientes, fludarabina, ciclofosfamida, rituxán, clorambucilo, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, melfalán, imatinib o nilotinib.

La anterior descripción ha destacado el papel de las células del estroma de la médula ósea y de los nichos de la médula ósea en la protección de las células malignas frente a los efectos de la quimioterapia u otras terapias dirigidas contra las neoplasias hematológicas. Sin embargo, hay pruebas de interacciones similares que se producen de forma local dentro de tumores sólidos, ya que una gran proporción de las células en los tumores sólidos no son células cancerosas, sino que son células del estroma, células inmunes o vasculares obtenidas a partir del hospedador que interactúan íntimamente con las células tumorales. Hay muchos tipos de tumores sólidos que expresan receptores CXCR4 (Engl, Relja et al., 2006; Müller, Homey et al., 2001; Koshiba, Hosotani et al., 2000, Ehtesham, Stevenson, et al., 2008; Zeelenberg, Ruuls-Van Stalle et al., 2003; Sauer, Seidler et al., 2005; Su, Zhang et al., 2005) y/o CXCR7 (Bums, Summers et al. 2006; Miao et al., 2007; Wang et al., 2008; Zheng, Li et al., 2010) ya sea constitutivamente o como respuesta a una hipoxia o a diversos tratamientos. Las células malignas pueden usar esta vía de señalización para la supervivencia y la migración mediante la activación de Akt y Erk. SDF-1 puede ser producido por las mismas células malignas o por células del estroma dentro del tumor. Una vez más en este entorno complejo, el mecanismo exacto por el cual las células tumorales crecen y se escapan de la quimioterapia u otros enfoques terapéuticos, no está claramente definido. Sin embargo, es claro que el eje SDF-1 - CXCR4 y el eje SDF-1 - CXCR7 tienen un papel importante. Por ejemplo la inhibición de CXCR4 sensibiliza líneas celulares de glioma a una quimioterapia *in vitro* (Redjal et al., 2006) y una expresión elevada de CXCR4 es predictiva de un resultado malo en el cáncer de mama (Holm, Abreo et al., 2008; Mizell, Smith et al., 2009) y cánceres gastrointestinales (Schimanski et al., 2008). Por lo tanto el uso de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de acuerdo con la presente invención para inhibir la acción de SDF-1 sobre cualquiera de los receptores CXCR4 o CXCR7 en una amplia variedad de tumores sólidos, mejorará la terapia actual haciendo que las células sean más vulnerables a la terapia, ya sea por una acción directa o mediante el bloqueo de las interacciones con otras células en el tumor.

Además de los aspectos anteriores, CXCR4 también transmite señales que se cree que son decisivas para el reclutamiento y la retención de células obtenidas a partir de la médula ósea proangiogénicas e inmunosupresoras (BMDCs). Esta vía, por lo tanto, también se puede utilizar para una angiogénesis independiente de VEGF. Como consecuencia, el bloqueo del eje SDF1-CXCR4 para sensibilizar los tumores frente a una terapia anti-VEGF o una radiación, ha surgido como un tratamiento estratégico atractivo para cánceres sólidos.

Sin embargo, existe una preocupación de que el bloqueo de CXCR4 pueda no ser suficiente para bloquear los efectos de SDF-1, que también puede unirse a CXCR7 en las células cancerosas o del estroma. Por ejemplo, se ha

5 informado recientemente de que CXCR7 se expresa en células tumorales cerebrales y media en los efectos anti-apoptóticos y también se ha mostrado que regula la invasión, la angiogénesis y el crecimiento tumoral de los carcinomas hepatocelulares humanos. En tales casos, la acción de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 para bloquear la acción de SDF-1 sobre ambos receptores CXCR7 y CXCR4 en un único agente, proporcionaría una eficacia especial en comparación con los bloqueadores específicos de receptores.

10 El medicamento de acuerdo con la presente invención se puede utilizar en combinación con un medicamento adicional o un agente farmacéuticamente activo adicional, en donde el medicamento adicional o el agente farmacéuticamente activo adicional, daña, destruye y/o marca (las) células cancerosas. Si se utiliza la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención con un medicamento adicional o un agente farmacéuticamente activo adicional, la terapia que se basa en la molécula de ácido nucleico, es preferiblemente una terapia complementaria a la terapia que se está empleando o en la que se basa el medicamento adicional o el agente farmacéuticamente activo adicional. Tal medicamento adicional o agente farmacéuticamente activo adicional se selecciona preferiblemente a partir del grupo, pero no se restringe al mismo, que comprende

15 a) anticuerpos tales como Rituximab (diana: CD20), Cetuximab (diana: receptor del factor de crecimiento epidérmico), Ibritumomab-Tiuxetan (diana: CD20), Tositumomab (diana: CD20), Trastuzumab (diana: HER2/neu), Bevacizumab (diana: VEGF), Alemtuzumab (diana: CD52);

b) agentes alquilantes tales como cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucilo, doxorubicina, doxorubicina liposómica, bendamustina, melfalán, temozolomida;

c) antimetabolitos tales como purinazatioprina, mercaptopurina, fludarabina, pentostatina, cladribina;

20 d) alcaloides vegetales tales como alcaloides de la vinca, terpenoides vegetales tales como taxanos, preferiblemente docetaxel, paclitaxel, podofilotoxina, epotilona;

e) inhibidores de la topoisomerasa, tales como camptotecinas, irinotecán, mitoxantrona;

f) y otros tales como leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, flurouracilo y prednisona.

25 Otros agentes que se pueden utilizar como agente farmacéuticamente activo adicional en el tratamiento del cáncer, son bien conocidos en la técnica e incluyen, pero no están limitados a, fármacos inmunosupresores, citocinas y fármacos citostáticos (para una referencia: "Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie 2011", compilador: Thomas Karow; Pulheim, Germany). Tales agentes bien conocidos en la técnica se utilizan en el tratamiento del cáncer de acuerdo con el estándar actual de cuidados para la población particular de pacientes con cáncer.

30 Se reconocerá que los agentes farmacéuticamente activos adicionales especificados anteriormente se pueden utilizar en conexión con cada uno y cualquier aspecto de la presente invención que hace uso de tal agente farmacéuticamente activo adicional.

El medicamento o el agente farmacéuticamente activo adicional tiene o puede proporcionar la función de una quimioterapia. Se puede emplear la radioterapia de forma alternativa o adicional a la quimioterapia.

35 El medicamento de acuerdo con la presente invención, en combinación con o sin el medicamento o agente farmacéuticamente activo adicional y con o sin radioterapia, se puede utilizar para el tratamiento y/o la prevención del cáncer, preferiblemente

a) cáncer hematológico, en donde más preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo de leucemia y mieloma.

40 b) tumores sólidos, en donde más tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo de glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer renal y cáncer de ovario

Preferiblemente el cáncer de mama se selecciona a partir del grupo de cáncer de mama negativo para HER2 avanzado.

45 Preferiblemente la leucemia se selecciona a partir del grupo de leucemia linfocítica crónica y leucemia mieloide aguda.

Preferiblemente el mieloma se selecciona a partir del grupo de mieloma múltiple.

50 El medicamento adicional preferido o un agente farmacéuticamente activo adicional para el tratamiento del glioblastoma es la radioterapia o la quimioterapia con temozolomida o la terapia con bevacizumab. El medicamento adicional preferido o un agente farmacéuticamente activo adicional para el tratamiento del cáncer colorrectal, se selecciona a partir del grupo que comprende fluorouracilo, leucovorina, oxaliplatino, irinotecán y bevacizumab.

El medicamento adicional preferido o un agente farmacéuticamente activo adicional para el tratamiento del cáncer de mama negativo para HER2 avanzado, se selecciona a partir del grupo de doxorubicina, paclitaxel, docetaxel, metotrexato, fluorouracilo, bevacizumab, tamoxifeno e inhibidores de la aromatasas.

5 El medicamento adicional preferido o un agente farmacéuticamente activo adicional para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica, se selecciona a partir del grupo que comprende fludarabina, ciclofosfamida, rituximab, clorambucilo, alemtuzumab, vincristina, pentostatina, mitoxantrona, doxorubicina, cladribina y bendamustina.

El medicamento adicional preferido o un agente farmacéuticamente activo adicional para el tratamiento del mieloma múltiple, se selecciona a partir del grupo que comprende lenalidomida, bortezomib, dexametasona, melfalán, ciclofosfamida, doxorubicina liposómica y prednisona.

10 En una realización del medicamento de la presente invención, tal medicamento es para uso en combinación con otros tratamientos para cualquiera de las enfermedades descritas en este documento, en particular aquellas en las que se va a emplear el medicamento de la presente invención.

15 Una "terapia de combinación" (o "coterapia") incluye la administración de un medicamento de la invención y al menos un segundo agente o un agente adicional como parte de un régimen de tratamiento específico, destinado a proporcionar el efecto beneficioso a partir de la acción conjunta de estos agentes terapéuticos, es decir, el medicamento de la presente invención y dicho segundo agente o agente adicional. El efecto beneficioso de la combinación incluye, pero no se limita a, una acción conjunta farmacocinética o farmacodinámica resultante de la combinación de agentes terapéuticos. La administración de estos agentes terapéuticos en combinación, normalmente se lleva a cabo durante un período de tiempo definido (normalmente minutos, horas, días o semanas dependiendo de la combinación seleccionada).

20 "Una "terapia de combinación" puede intentar incluir, pero no lo hace generalmente, la administración de dos o más de estos agentes terapéuticos como parte de regímenes de monoterapia distintos. Una "terapia de combinación" se entiende que incluye la administración de esos agentes terapéuticos de una manera secuencial, es decir, en donde cada agente terapéutico se administra en un momento diferente, así como la administración de esos agentes terapéuticos, o al menos dos de los agentes terapéuticos, de una manera sustancialmente simultánea. Una administración sustancialmente simultánea se puede lograr, por ejemplo, mediante la administración a un sujeto de una única cápsula que tiene una proporción fija de cada agente terapéutico o en múltiples cápsulas, individuales para cada uno de los agentes terapéuticos.

25 La administración secuencial o sustancialmente simultánea de cada agente terapéutico puede efectuarse por cualquier vía apropiada incluyendo, pero no limitadas a, vías tópicas, vías orales, vías intravenosas, vías intramusculares y absorción directa a través de tejidos de membranas mucosas. Los agentes terapéuticos se pueden administrar por la misma vía o por vías diferentes. Por ejemplo, un primer agente terapéutico de la combinación seleccionada, se puede administrar mediante inyección, mientras que los otros agentes terapéuticos de la combinación se pueden administrar por vía tópica.

30 Alternativamente, por ejemplo, todos los agentes terapéuticos se pueden administrar por vía tópica o todos los agentes terapéuticos se pueden administrar mediante inyección. La secuencia con la que se administran los agentes terapéuticos no es muy decisiva, a menos que se indique lo contrario. Una "terapia de combinación" también puede incluir la administración de los agentes terapéuticos como se han descrito anteriormente, en combinación adicional con otros ingredientes biológicamente activos. Cuando la terapia de combinación comprende además un tratamiento no farmacológico, el tratamiento no farmacológico se puede realizar en cualquier momento adecuado, siempre que se logre un efecto beneficioso de la acción conjunta de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento no farmacológico. Por ejemplo, en los casos apropiados, el efecto beneficioso se consigue todavía cuando el tratamiento no farmacológico se retira temporalmente de la administración de los agentes terapéuticos, quizá durante días o incluso semanas.

35 Como se ha indicado en términos generales anteriores, el medicamento según la presente invención se puede administrar, en principio, en cualquier forma conocida por los expertos en la técnica. Una ruta de administración preferida es la administración sistémica, más preferiblemente mediante administración parenteral, preferiblemente mediante inyección. Alternativamente, el medicamento se puede administrar localmente. Otras vías de administración comprenden la vía intramuscular, intraperitoneal y subcutánea, oralmente, intranasal, intratraqueal o pulmonar, con una preferencia dada a la vía de administración que sea menos invasiva, garantizando al mismo tiempo la eficacia.

40 La administración parenteral se utiliza generalmente para las inyecciones e infusiones subcutáneas, intramusculares o intravenosas. Además, un enfoque para la administración parenteral emplea la implantación de sistemas de liberación lenta o de liberación sostenida, que aseguran el mantenimiento de un nivel constante de dosificación, que son bien conocidos por el experto normal en la técnica.

45 Además, los medicamentos preferidos de la presente invención se pueden administrar en forma intranasal mediante el uso tópico de vehículos intranasales, inhalantes adecuados o mediante vías transdérmicas, usando las formas de parches cutáneos transdérmicos bien conocidos por los expertos normales en la técnica. Para una administración en forma de un sistema de suministro transdérmico, la administración de la dosificación será, por supuesto, continua en

lugar de intermitente durante todo el régimen de dosificación. Otras preparaciones tópicas preferidas incluyen cremas, pomadas, lociones, aerosoles y geles.

Los ámbitos que responderán favorablemente al método de la invención incluyen los ámbitos médicos y veterinarios en general, incluyendo seres humanos y pacientes humanos. Entre otros ámbitos para los que son útiles los métodos y medios de la invención, se encuentran los gatos, perros, animales grandes, aves tales como pollos y similares.

El medicamento de la presente invención generalmente comprenderá una cantidad eficaz del o de los componentes activos de la terapia, incluyendo, pero no limitados a, una molécula de ácido nucleico de la presente invención, disuelta o dispersada en un medio farmacéuticamente aceptable. Medios o vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares. El uso de tales medios y agentes con sustancias farmacéuticas activas es bien conocido en la técnica. También se pueden incorporar ingredientes activos complementarios en el medicamento de la presente invención.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica. Tal composición farmacéutica comprende al menos uno de los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención y, preferiblemente, un aglutinante farmacéuticamente aceptable. Tal aglutinante puede ser cualquier aglutinante utilizado y/o conocido en la técnica. Más particularmente, un aglutinante de este tipo es cualquier aglutinante como se describe en relación con la preparación del medicamento descrito en el presente documento. En una realización adicional, la composición farmacéutica comprende un agente farmacéuticamente activo adicional.

La preparación de un medicamento y una composición farmacéutica es conocida por los expertos en la técnica a la luz de la presente descripción. Típicamente, tales composiciones se pueden preparar como inyectables, como soluciones o suspensiones líquidas; formas sólidas adecuadas para solución en, o suspensión en, un líquido antes de la inyección; como comprimidos u otros sólidos para administración oral; como cápsulas de liberación con el tiempo; o en cualquier otra forma usada en la actualidad, incluyendo gotas para los ojos, cremas, lociones, pomadas, inhalantes y similares. El uso de formulaciones estériles, tales como lavados a base de solución salina, por parte de cirujanos, médicos o trabajadores sanitarios para el tratamiento de un área en particular en el campo de operación, también puede ser particularmente útil. Las composiciones también se pueden administrar mediante un microdispositivo, una micropartícula o una esponja.

Después de la formulación, un medicamento se administrará de una manera compatible con la formulación de dosificación y en una cantidad tal que sea farmacológicamente eficaz. Las formulaciones se administran fácilmente en una variedad de formas de dosificación, tales como el tipo de soluciones inyectables descritas anteriormente, pero también se pueden emplear las cápsulas de liberación de fármaco y similares.

El medicamento de la invención también se puede administrar en formas de dosificación oral como comprimidos o cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, elixires, tinturas, suspensiones, jarabes y emulsiones de liberación retardada con el tiempo y liberación sostenida. Los supositorios se preparan ventajosamente a partir de emulsiones o suspensiones grasas.

La composición farmacéutica o el medicamento se puede esterilizar y/o contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de solución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Además, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Las composiciones se preparan de acuerdo con métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento y típicamente contienen aproximadamente 0,1% a 75%, preferiblemente aproximadamente 1% a 50%, del ingrediente activo.

Las composiciones líquidas, particularmente inyectables se pueden preparar, por ejemplo, disolviendo, dispersando, etc. El compuesto activo se disuelve o se mezcla con un disolvente farmacéuticamente puro tal como, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, etanol y similares, para formar de este modo la solución o suspensión inyectable. Adicionalmente, se pueden formular formas sólidas adecuadas para disolver en líquido antes de la inyección.

Los medicamentos y las moléculas de ácido nucleico, respectivamente, de la presente invención también se pueden administrar en forma de sistemas de liberación de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas se pueden formar a partir de una variedad de fosfolípidos, que contienen colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas. En algunas realizaciones, una película de componentes lipídicos se hidrata con una solución acuosa de fármaco para proporcionar una capa en forma de lípidos que encapsula el fármaco, lo que es bien conocido por el experto normal en la técnica. Por ejemplo, las moléculas de ácido nucleico descritas en el presente documento se pueden proporcionar como un complejo con un compuesto lipófilo o no inmunogénico, un compuesto de alto peso molecular construido usando métodos conocidos en la técnica. Adicionalmente, los liposomas pueden ser portadores de tales moléculas de ácido nucleico en su superficie para dirigirse a una diana y transportar agentes citotóxicos internamente para mediar en la muerte celular. Un ejemplo de complejos asociados a ácido nucleico se proporciona en el documento de Patente de EE.UU. n° 6.011.020.

Los medicamentos y las moléculas de ácido nucleico, respectivamente, de la presente invención también se pueden acoplar con polímeros solubles como vehículos de fármacos dirigibles. Tales polímeros pueden incluir polivinilpirrolid-

- 5 dona, copolímero de pirano, polihidroxipropil-metacrilamida-fenol, polidroxietilspanamidafenol o polietilenoóxido-polilina sustituida con residuos de palmitoilo. Además, los medicamentos y las moléculas de ácido nucleico, respectivamente, de la presente invención se pueden acoplar a una clase de polímeros biodegradables útiles para conseguir la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, poli(ácido láctico), poliepsilon capro lactona, poli(ácido hidroxibutírico), poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque reticulados o anfipáticos de hidrogeles.
- 10 Si se desea, la composición farmacéutica y el medicamento, respectivamente, que se va a administrar también pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores del pH y otras sustancias tales como, por ejemplo, acetato de sodio y oleato de trietanolamina.
- 15 El régimen de dosificación que emplea las moléculas de ácido nucleico y los medicamentos, respectivamente, de la presente invención se selecciona de acuerdo con una variedad de factores que incluyen el tipo, la especie, la edad, el peso, el sexo y el estado médico del paciente; la gravedad de la afección a tratar; la vía de administración; la función renal y hepática del paciente; y el aptámero o sal particular del mismo, empleado. Un médico o un veterinario experto en la materia puede determinar fácilmente y prescribir la cantidad eficaz del fármaco requerido para prevenir, contrarrestar o detener el progreso de la afección.
- 20 Los niveles plasmáticos eficaces del ácido nucleico de acuerdo con la presente invención varían preferiblemente de 500 fM a 200 μ M, preferiblemente de 1 nM a 20 μ M, más preferiblemente de 5 nM a 20 μ M, lo más preferiblemente 50 nM a 20 μ M en el tratamiento de cualquiera de las enfermedades descritas en este documento.
- 25 Las moléculas de ácido nucleico y los medicamentos, respectivamente, de la presente invención se pueden administrar preferiblemente en una dosis diaria única, cada segundo o tercer día, de forma semanal, cada dos semanas, en una dosis única mensual o cada tres meses.
- 30 Está dentro de la presente invención que el medicamento, tal como se describe en este documento, constituye la composición farmacéutica descrita en este documento.
- 35 También se describe un método para el tratamiento de un sujeto que se encuentra en necesidad de tal tratamiento, en donde el método comprende la administración de una cantidad farmacéuticamente activa de al menos uno de los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención. En una realización, el sujeto padece una enfermedad o tiene riesgo de desarrollar tal enfermedad, en donde la enfermedad es cualquiera de las descritas en este documento, particularmente cualquiera de las enfermedades descritas en conexión con el uso de cualquiera de los ácidos nucleicos según la presente invención para la preparación de un medicamento.
- 40 Tal y como se utiliza preferiblemente en el presente documento, el término tratamiento comprende en una realización preferida de forma adicional o alternativamente, prevención y/o seguimiento.
- 45 Tal y como se utiliza preferiblemente en el presente documento, los términos enfermedad y trastorno se utilizan de forma intercambiable, si no se indica lo contrario.
- 50 Tal y como se utiliza en este documento, el término "comprenden", preferiblemente, no está destinado a limitar la materia objeto seguida o descrita por dicho término. Sin embargo, en una realización alternativa el término comprende se entenderá en el sentido de que contiene y por lo tanto como limitante de la materia objeto seguida o descrita por dicho término.
- 55 Las diversas SEQ ID NOs, la naturaleza química de las moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención y las moléculas diana SDF-1 tal y como se utilizan en esta memoria, la secuencia real de las mismas y el número de referencia interno, se resumen en la siguiente tabla. Se debe tener en cuenta que los ácidos nucleicos se caracterizaron en el aptámero, es decir, a nivel de ácido nucleico D (D-ARN) con D-SDF-1 humano biotinilado (SEQ ID NO: 4) o a nivel de Spiegelmer, es decir, ácido nucleico L (L-ARN) con la configuración natural de SDF-1, L-SDF-1 (SDF-1 α humano, SEQ ID NO: 1). Los diferentes ácidos nucleicos comparten un nombre de referencia interna, pero una SEQ ID NO: para la molécula de D-ARN (aptámero) y una SEQ ID NO: para la molécula de L-ARN (Spiegelmer), respectivamente.

TABLA I

SEQ ID NO:	ARN/ Péptido	Secuencia	Referencia interna
1	L- péptido	KPVLSYRCPCRFFESHVARANVKHLKILNTPNCALQIVARLKNNNR QVCIDPKLKWIQEYLEKALNK	SDF-1 α hu- mano/mono/gato SDF-1 hu- mano/mono/gato
2	L- péptido	KPVLSYRCPCRFFESHVARANVKHLKILNTPNCALQIVARLKNNNR QVCIDPKLKWIQEYLEKALNKRFKM	SDF-1 β hu- mano/mono/gato
3	L- péptido	KPVLSYRCPCRFFESHVARANVKHLKILNTPNCALQIVARLKNNNR QVCIDPKLKWIQEYLEKALNK	SDF-1 α murino
			SDF-1 murino
4	D- péptido	KPVLSYRCPCRFFESHVARANVKHLKILNTPNCALQIVARLKNNNR QVCIDPKLKWIQEYLEKALNKRFK-Biotin	hu D-SDF-1 bioti- nilado
5	L-ARN	AGCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGCU	193-C2-001
6	L-ARN	AGCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGCU	193-G2-001
7	L-ARN	AGCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAAUGGCUGAUCCUAGUCAGGUGCGCU	193-F2-001
8	L-ARN	GCGAGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUGCGC	193-G1-002
9	L-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUGCGC	193-D2-002
10	L-ARN	GCAUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUGCCC	193-A1-002
11	L-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAAUGGCUGAUCCUAGUCAGGGACGC	193-D3-002
12	L-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGAGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGC	193-B3-002
13	L-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAAAGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGC	193-H3-002
14	L-ARN	GUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGUCCUAGUCAGGUAUGC	193-E3-002
15	L-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUUAGGUACGC	193-D1-002
16	L-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGC	193-C2-002
17	L-ARN	CGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACG	193-C2-003
18	L-ARN	GUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUAC	193-C2-004
19	L-ARN	UGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUA	193-C2-005
20	L-ARN	GGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGU	193-C2-006
21	L-ARN	GUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGG	193-C2-007

ES 2 678 497 T3

SEQ ID NO:	ARN/ Péptido	Secuencia	Referencia interna
22	L-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGC	193-G2-012
23	L-ARN	GCGCGGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGCGCGC	193-G2-013
24	L-ARN	GCGCGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGGCGC	193-G2-014
25	L-ARN	GGGCGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGGCCC	193-G2-015
26	L-ARN	GGCCGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGGGCC	193-G2-016
27	L-ARN	GCCCGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGGGGC	193-G2-017
28	L-ARN	5'-40 kDa-PEG- GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGC	193-G2-012-5'- PEG, NOX-A12
29	D-ARN	AGCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGCU	193-C2-001
30	D-ARN	AGCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGCU	193-G2-001
31	D-ARN	AGCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAAUGGCUGAUCCUAGUCAGGUGCGCU	193-F2-001
32	D-ARN	GCGAGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUGCGC	193-G1-002
33	D-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUGCGC	193-D2-002
34	D-ARN	GCAUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUGCCC	193-A1-002
35	D-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAAUGGCUGAUCCUAGUCAGGGACGC	193-D3-002
36	D-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGAGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGC	193-B3-002
37	D-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAAAGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGC	193-H3-002
38	D-ARN	GUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGUCCUAGUCAGGUAUGC	193-E3-002
39	D-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUUAGGUACGC	193-D1-002
40	D-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGC	193-C2-002
41	D-ARN	CGUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACG	193-C2-003
42	D-ARN	GUGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUAC	193-C2-004
43	D-ARN	UGGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGUA	193-C2-005
44	D-ARN	GGUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGGU	193-C2-006
45	D-ARN	GUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGG	193-C2-007
46	D-ARN	GCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGUACGC	193-G2-012

ES 2 678 497 T3

SEQ ID NO:	ARN/ Péptido	Secuencia	Referencia interna
47	D-ARN	GCGCGGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGCGCGC	193-G2-013
48	D-ARN	GCGCGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGGCGC	193-G2-014
49	D-ARN	GGGCGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGGCCC	193-G2-015
50	D-ARN	GGCCGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGGGCC	193-G2-016
51	D-ARN	GCCCGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGGGGGC	193-G2-017
52	L-ARN	GUGUGAUCUAGAUGUADWGGCUGWUCCUAGUYAGG	Fórmula-1 de tipo B
53	L-ARN	GUGUGAUCUAGAUGUADUGGCUGAUCCUAGUCAGG	Fórmula-2 de tipo B
54	L-ARN	AAAGUAACACGUAAAAUGAAAGGUAAC	
55	L-ARN	AAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGC	
56	L-ARN	GGUUAGGGCUAAAGUCGG	
57	L-ARN	GGUUAGGGCUAGAAGUCGG	
58	L-ARN	GGUUAGGGCUCGAAGUCGG	
59	L-ARN	GGUUAGGGCUUGAAGUCGG	
60	L-ARN	GCUGUGAAAGCAACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCGCAGC	192-A10-001
61	L-ARN	GCUGUGAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAACCCACAGC	192-G10
62	L-ARN	GCUGUGAAAGUAACACGUCUAAUGAAAGGUAACCCGCAGC	192-F10
63	L-ARN	GCUGUGAAAGUAACACGUCUAAUGAAAGGUAACCCACAGC	192-B11
64	L-ARN	GCUGUAAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAACUACAGC	192-C9
65	L-ARN	GCUGUAAAAGUAACAAGUCAAUUGAAAGGUAACUACAGC	192-E10
66	L-ARN	GCUGUGAAAGUAACAAGUCAAUUGAAAGGUAACCCACAGC	192-C10
67	L-ARN	GCAGUGAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAACCCACAGC	192-D11
68	L-ARN	GCUGUGAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAACCCACUGC	192-G11
69	L-ARN	GCUAUGAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAACCAUAGC	192-H11
70	L-ARN	GCUGCGAAAGCGACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCGCAGC	192-D10

ES 2 678 497 T3

SEQ ID NO:	ARN/ Péptido	Secuencia	Referencia interna
71	L-ARN	GCUGUGAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCACAGC	192-E9
72	L-ARN	GCUGUGAAAGUAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCGCAGC	192-H9
73	L-ARN	AGCGUGAAAGUAACACGUAAAAUGAAAGGUAAACCACGCU	191-A6
74	L-ARN	AAAGYRACAHGUMAAX _A UGAAAGGUARC; X _A = A o ausente	Fórmula-1 de tipo A
75	L-ARN	AAAGYRACAHGUMAAUGAAAGGUARC	Fórmula-2 de tipo A
76	L-ARN	AAAGYRACAHGUMAAAUGAAAGGUARC	Fórmula-3 de tipo A
77	L-ARN	AAAGYAACAUGUCAUUGAAAGGUARC	Fórmula-4 de tipo A
78	L-ARN	CUGUGAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCGCAG	192-A10-002
79	L-ARN	UGUGAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCGCA	192-A10-003
80	L-ARN	GUGAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCGC	192-A10-004
81	L-ARN	UGAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCG	192-A10-005
82	L-ARN	GAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCC	192-A10-006
83	L-ARN	AAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGC	192-A10-007
84	L-ARN	GCGUGAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCGC	192-A10-008
85	L-ARN	GCGCGAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCGC	192-A10-015
86	L-ARN	GCGGAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCGC	192-A10-014
87	L-ARN	CGUGAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCGC	192-A10-016
88	L-ARN	GCGCAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCGUGC	192-A10-017
89	L-ARN	GUGCAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCGGC	192-A10-018
90	L-ARN	CGCGAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCCGUG	192-A10-019
91	L-ARN	GGCAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCGCCC	192-A10-020
92	L-ARN	GGCAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCGGCC	192-A10-021
93	L-ARN	GCCCAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCGGGC	192-A10-022
94	L-ARN	CCCCAAAGCAACAUGUCAUUGAAAGGUAGCGGGG	192-A10-023

ES 2 678 497 T3

SEQ ID NO:	ARN/ Péptido	Secuencia	Referencia interna
95	L-ARN	GUGCUGCGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAGCAC	197-B2
96	L-ARN	AGCGUGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGACACGCU	191-D5-001
97	L-ARN	GUGUUGCGGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCAGCAGCAC	197-H1
98	L-ARN	CGUGC GCCUAAGAGGUUAGGGCUAAAAGUCGGUCUUUGGCCA ACACG	190-D3
99	L-ARN	CGUGCUCUUGAGAUAGGGGUUAGGGCUAAAAGUCGGCUGAUUC UCACG	190-A3-001
100	L-ARN	CGUGAUUGGUGAGGGGUUAGGGCUUGAAGUCGGCCUUGUCCAG UCACG	190-A2
101	L-ARN	AGCGUGAAGGGGUUAGGGCUCGAAGUCGGCUGACACGCU	191-A5
102	L-ARN	GUGCUGCGGGGGUUAGGGCUCGAAGUCGGCCCGCAGCAC	197-H3
103	L-ARN	GUGUUC CCGGGGUUAGGGCUUGAAGUCGGCCGGCAGCAC	197-B1
104	L-ARN	GUGUUGCAGGGGUUAGGGCUUGAAGUCGGCCUGCAGCAC	197-E3
105	L-ARN	GUGCUGCGGGGGUUAGGGCUCAAAGUCGGCCUGCAGCAC	197-H2
106	L-ARN	GUGCUGCCGGGGUUAGGGCUAA-AGUCGGCCGACAGCAC	197-D1
107	L-ARN	GUGCUGUGGGGGUCAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAGCAC	197-D2
108	L-ARN	GGUYAGGGCUHRX _A AGUCGG; X _A = A o ausente	Fórmula-1 de tipo C
109	L-ARN	GGUYAGGGCUHRAAGUCGG	Fórmula-2 de tipo C
110	L-ARN	GGUYAGGGCUHRAGUCGG	Fórmula-3 de tipo C
111	L-ARN	GGUUAGGGCUHGAAGUCGG	Fórmula-4 de tipo C
112	L-ARN	UGAGAUAGGGGUUAGGGCUAAAAGUCGGCUGAUUCUCA	190-A3-003
113	L-ARN	GAGAUAGGGGUUAGGGCUAAAAGUCGGCUGAUUCUC	190-A3-004
114	L-ARN	GGGGUUAGGGCUAAAAGUCGGCUGAUUCU	190-A3-007
115	L-ARN	GCGUGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGACACGC	191-D5-002
116	L-ARN	CGUGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGACACG	191-D5-003

ES 2 678 497 T3

SEQ ID NO:	ARN/ Péptido	Secuencia	Referencia interna
117	L-ARN	CGGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGACCG	191-D5-004
118	L-ARN	CGGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGCCCCG	191-D5-005
119	L-ARN	CGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGCCG	191-D5-006
120	L-ARN	CGGGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCCCCG	191-D5-007
121	L-ARN	GGGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCCC	191-D5-010
122	L-ARN	CCGCGGUUAGGGCUAGAAGUCGGGCGG	191-D5-017
123	L-ARN	CCCGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCGGG	191-D5-029
124	L-ARN	GGCGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCGCC	191-D5-024
125	L-ARN	CCCGCGGUUAGGGCUAGAAGUCGGGCGGG	191-D5-017-29a
126	L-ARN	GCCGCGGUUAGGGCUAGAAGUCGGGCGGC	191-D5-017-29b
127	L-ARN	CCCCGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCGGGG	191-D5-019-29a
128	L-ARN	CGGCGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCGCCG	191-D5-024-29a
129	L-ARN	GGGCGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCGCCC	191-D5-024-29b
130	L-ARN	UGCUGCGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAGCA	197-B2-001
131	L-ARN	GCUGCGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAGC	197-B2-002
132	L-ARN	CUGCGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAG	197-B2-003
133	L-ARN	UGCAGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCA	197-B2-004
134	L-ARN	GCGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGC	197-B2-005
135	L-ARN	GCCGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCGGC	197-B2-006
136	L-ARN	GGCCGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCGGCC	197-B2-006-31a
137	L-ARN	CGCCGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCGGCG	197-B2-006-31b
138	L-ARN	RKSBUSNVGR	Fórmula-5-5' de tipo C
139	L-ARN	YYNRCASSMY	Fórmula-5-3' de tipo C
140	L-ARN	RKSBUGSVGR	Fórmula-6-5' de tipo C

ES 2 678 497 T3

SEQ ID NO:	ARN/ Péptido	Secuencia	Referencia interna
141	L-ARN	YCNRCASSMY	Fórmula-6-3' de tipo C
142	L-ARN	CGUGGUCCGUUGUGUCAGGUCUAUUCGCCCCGGUGCAGGGCAUC-CGCG	194-A2-001
143	L-ARN	GCAGUGUGACGCGGACGUGAUAGGACAGAGCUGAUCCCGCUCA-GGUGAG	196-B12-003
144	L-ARN	CAACAGCAGUGUGACGCGGACGUGAUAGGACAGAGCUGAUCCCGCU-CAG	196-B12-004
145	L-ARN	5'-40 kDa-PEG-GCGUGAAAGCAACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCGCGC	192-A10-008-5'-PEG
146	D-ARN	GCUGUGAAAGCAACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCGCGCAGC	192-A10-001
147	D-ARN	GCUGUGAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAACCCACAGC	192-G10
148	D-ARN	GCUGUGAAAGUAACACGUCUAUUGAAAGGUAACCCGCGCAGC	192-F10
149	D-ARN	GCUGUGAAAGUAACACGUCUAUUGAAAGGUAACCCACAGC	192-B11
150	D-ARN	GCUGUAAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAACUACAGC	192-C9
151	D-ARN	GCUGUAAAAGUAACAAGUCAAUUGAAAGGUAACUACAGC	192-E10
152	D-ARN	GCUGUGAAAGUAACAAGUCAAUUGAAAGGUAACCCACAGC	192-C10
153	D-ARN	GCAGUGAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAACCCACAGC	192-D11
154	D-ARN	GCUGUGAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAACCCACUGC	192-G11
155	D-ARN	GCUAUGAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAACCAUAGC	192-H11
156	D-ARN	GCUGCGAAAGCGACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCGCGCAGC	192-D10
157	D-ARN	GCUGUGAAAGCAACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCACAGC	192-E9
158	D-ARN	GCUGUGAAAGUAACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCGCGCAGC	192-H9
159	D-ARN	AGCGUGAAAGUAACACGUAAAUGAAAGGUAACCCACGCU	191-A6
160	D-ARN	CUGUGAAAGCAACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCGCGAG	192-A10-002
161	D-ARN	UGUGAAAGCAACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCGCA	192-A10-003
162	D-ARN	GUGAAAGCAACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCGC	192-A10-004
163	D-ARN	UGAAAGCAACAUGUCAAUUGAAAGGUAGCCG	192-A10-005

ES 2 678 497 T3

SEQ ID NO:	ARN/ Péptido	Secuencia	Referencia interna
164	D-ARN	GAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCC	192-A10-006
165	D-ARN	AAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGC	192-A10-007
166	D-ARN	GCGUGAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCCGCGC	192-A10-008
167	D-ARN	GCGCGAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCCGCGC	192-A10-015
168	D-ARN	GCGGAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCCCGC	192-A10-014
169	D-ARN	CGUGAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCCGCG	192-A10-016
170	D-ARN	GCGCAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCGUGC	192-A10-017
171	D-ARN	GUGCAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCGCGC	192-A10-018
172	D-ARN	CGCGAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCCGUG	192-A10-019
173	D-ARN	GGGCAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCGCCC	192-A10-020
174	D-ARN	GGCCAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCGGCC	192-A10-021
175	D-ARN	GCCCAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCGGGC	192-A10-022
176	D-ARN	CCCCAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAGGUAGCGGGG	192-A10-023
177	D-ARN	GUGCUGCGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAGCAC	197-B2
178	D-ARN	AGCGUGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGACACGCU	191-D5-001
179	D-ARN	GUGUUGCGGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCAGCAGCAC	197-H1
180	D-ARN	CGUGC GCCUAAGAGGUUAGGGCUUAAAGUCGGUCUUUGGCCA ACACG	190-D3
181	D-ARN	CGUGCUCUUGAGAUAGGGGUUAGGGCUUAAAGUCGGCUGAUUC UCACG	190-A3-001
182	D-ARN	CGUGAUUGGUGAGGGGUUAGGGCUUGAAGUCGGCCUUGUCCAG UCACG	190-A2
183	D-ARN	AGCGUGAAGGGGUUAGGGCUCGAAGUCGGCUGACACGCU	191-A5
184	D-ARN	GUGCUGCGGGGGUUAGGGCUCGAAGUCGGCCCCGACGAC	197-H3
185	D-ARN	GUGUUC CCGGGGUUAGGGCUUGAAGUCGGCCGGCAGCAC	197-B1
186	D-ARN	GUGUUGCAGGGGUUAGGGCUUGAAGUCGGCCUGCAGCAC	197-E3
187	D-ARN	GUGCUGCGGGGGUUAGGGCUCAAAGUCGGCCUGCAGCAC	197-H2

ES 2 678 497 T3

SEQ ID NO:	ARN/ Péptido	Secuencia	Referencia interna
188	D-ARN	GUGCUGCCGGGGUUAGGGCUAA-AGUCGGCCGACAGCAC	197-D1
189	D-ARN	GUGCUGUGGGGGUCAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAGCAC	197-D2
190	D-ARN	UGAGAUAGGGGUUAGGGCUUAAAGUCGGCUGAUUCUCA	190-A3-003
191	D-ARN	GAGAUAGGGGUUAGGGCUUAAAGUCGGCUGAUUCUC	190-A3-004
192	D-ARN	GGGGUUAGGGCUUAAAGUCGGCUGAUUCU	190-A3-007
193	D-ARN	GCGUGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGACACGC	191-D5-002
194	D-ARN	CGUGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGACACG	191-D5-003
195	D-ARN	CGGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGACCG	191-D5-004
196	D-ARN	CGGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGCCCCG	191-D5-005
197	D-ARN	CGGCGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCGCCC	191-D5-006
198	D-ARN	CGGGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCCCCG	191-D5-007
199	D-ARN	GGGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCCC	191-05-010
200	D-ARN	CCGCGGUUAGGGCUAGAAGUCGGGCGG	191-D5-017
201	D-ARN	CCCGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCGGG	191-D5-029
202	D-ARN	GGCGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCGCC	191-D5-024
203	D-ARN	CCCGCGGUUAGGGCUAGAAGUCGGGCGGG	191-D5-017-29a
204	D-ARN	GCCGCGGUUAGGGCUAGAAGUCGGGCGGC	191-D5-017-29b
205	D-ARN	CCCCGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCGGGG	191-D5-019-29a
206	D-ARN	CGGCGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCGCCG	191-D5-024-29a
207	D-ARN	GGGCGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCGCCC	191-D5-024-29b
208	D-ARN	UGCUGCGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAGCA	197-B2-001
209	D-ARN	GCUGCGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAGC	197-B2-002
210	D-ARN	CUGCAGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAG	197-B2-003
211	D-ARN	UGCAGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAG	197-B2-004
212	D-ARN	GCGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGC	197-B2-005

SEQ ID NO:	ARN/ Péptido	Secuencia	Referencia interna
213	D-ARN	GCCGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCGGCC	197-B2-006
214	D-ARN	GGCCGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCGGCC	197-B2-006-31a
215	D-ARN	CGCCGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCGGCC	197-B2-006-31b
216	D-ARN	CGUGGUCCGUUGUGUCAGGUCUAUUCGCCCCGGUGCAGGGCAUC-CGCG	194-A2-001
217	D-ARN	GCAGUGUGACGCGGACGUGAUAGGACAGAGCUGAUCCCGCUCA-GGUGAG	196-B12-003
218	D-ARN	CAACAGCAGUGUGACGCGGACGUGAUAGGACAGAGCUGAUCCCGCU-CAG	196-B12-004
219	L-ARN	5'-40 kDa-PEG-UAAGGAAACUCGGUCUGAUGCUGUAGCGCUGUGCAGAGCU	Spiegelmer de control
220	L-ARN	CGUGCGCUUGAGAUAGG	
221	L-ARN	CUGAUUCUCACG	
222	L-ARN	CUGAUUCUCA	
223	L-ARN	5'-40 kDa-PEG-GCCGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCGGCC	197-B2-006-5'-PEG
224	L-ARN	5'-40 kDa-PEG-CGGGAGGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCCCG	191-D5-007-5'PEG
225	L-ARN	5'-40 kDa-PEG-CGCAUGGACUGAUCCUAGUCGGUUAUGUAGAUCUAGUGUGGUGC G	revNOX-A12

La presente invención se ilustra adicionalmente con las figuras, los ejemplos y la lista de secuencias a partir de las cuales pueden tomarse otras características, realizaciones y ventajas, en donde

- 5 Fig. 1 muestra un alineamiento de secuencias de moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de "tipo A"
- Figs. 2A+B muestran derivados de una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1, 192-A10-001 (moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de "tipo A");
- Fig. 3 muestra un alineamiento de secuencias de moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de "tipo B";
- 10 Figs. 4A+B muestran derivados de moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1, 193-C2-001 y 193-G2-001 (moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de tipo B);
- Fig. 5 muestra un alineamiento de secuencias de moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de "tipo C";
- 15 Fig. 6 muestra derivados de una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1, 190-A3-001 (moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de "tipo C");
- Figs. 7A+B muestran derivados de moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1, 190-D5-001 (moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de "tipo C");

- Fig. 8 muestra derivados de una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1, 197-B2 (molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de "tipo C");
- Fig. 9 muestra moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 adicionales, moléculas a las que se hace referencia, además de otras moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1, como moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de "tipo D";
- Fig. 10 muestra la eficacia de los Spiegelmers que se unen a SDF-1, 193-G2-012-5'-PEG (también denominado NOX-A12), 197-B2-006-5'-PEG, 191-D5-007-5'-PEG y 191-A10-008-5'-PEG en un ensayo de quimiotaxis con la línea celular Jurkat de linfocitos T de leucemia humana, mediante el cual se permitió que las células migraran hacia SDF-1 humano 0,3 nM preincubado a 37°C con diversas cantidades de los Spiegelmers 193-G2-012-5'-PEG, 197-B2-006-5'-PEG, 191-D5-007-5'-PEG y 191-A10-008-5'-PEG, representadas como porcentaje de control sobre la concentración de los Spiegelmers 193-G2-012-5'-PEG, 197-B2-006-5'-PEG, 191-D5-007-5'-PEG y 191-A10-008-5'-PEG;
- Fig. 11A muestra la eficacia del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 en un ensayo de quimiotaxis con la línea celular pre-B ALL humana, Nalm-6, en donde se permitió que las células migraran hacia SDF-1 humano 0,3 nM preincubado a 37°C con diversas cantidades del Spiegelmer NOX-A12, representadas como porcentaje de control sobre la concentración del Spiegelmer NOX-A12;
- Fig. 11B muestra la eficacia del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 en un ensayo de quimiotaxis con la línea celular humana de linfoma de monocitos leucémicos, U9037, en donde se permitió que las células migraran hacia SDF-1 humano 3 nM preincubado a 37°C con diversas cantidades del Spiegelmer NOX-A12, representadas como porcentaje de control sobre la concentración del Spiegelmer NOX-A12;
- Fig. 12 muestra la eficacia del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 en un ensayo de quimiotaxis con la línea celular humana de leucemia de linfocitos pre-B, BV-173, en donde se permitió que las células migraran hacia SDF-1 humano 3 nM preincubado a 37°C con diversas cantidades del Spiegelmer NOX-A12, representadas como porcentaje de control sobre la concentración del Spiegelmer NOX-A12;
- Fig. 13 muestra la eficacia del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 en un ensayo de complementación con células CHO que expresan de forma estable CXCR7 y β -arrestina ambos fusionados a un fragmento de β -galactosidasa, en donde los CXCR7 de las células se activaron hacia SDF-1 humano 0,3 nM preincubado a 37°C con diversas cantidades del Spiegelmer NOX-A12, representadas como porcentaje de control sobre la concentración del Spiegelmer NOX-A12;
- Fig. 14 muestra la inhibición del brote inducido por SDF-1 mediante el Spiegelmer que se une a SDF-1, 193-G2-012-5'-PEG (también denominado NOX-A12) y por el Spiegelmer PEGilado de control en el ensayo de brote en el anillo aórtico, en donde los anillos de la aorta de rata se incrustaban en una matriz de colágeno y se incubaban durante 6 días con SDF-1 con o sin Spiegelmers (a: control; b: SDF-1 10 nM; c: SDF-1 10 nM + Spiegelmer humano que se une a SDF-1 1 μ M, 193-G2-012-5'-PEG; d: SDF-1 10 nM + Spiegelmer PEGilado de control 1 μ M);
- Fig. 15 muestra la inhibición del brote inducido por SDF-1 mediante el Spiegelmer que se une a SDF-1, 193-G2-012-5'-PEG (también denominado NOX-A12) y mediante el Spiegelmer PEGilado de control en el ensayo de brote en el anillo aórtico, en donde se muestran los índices de brotes como la media \pm SD de 5 anillos por condición (*: el valor de SDF-1 es significativamente diferente del control (prueba de Mann-Whitney; $p = 0,009$); **: el valor de SDF-1 + Spiegelmer que se une a SDF-1 humano 193-G2-012-5'-PEG es significativamente diferente del de SDF-1 (prueba de Mann-Whitney; $p = 0,028$))
- Fig. 16 muestra la eficacia del Spiegelmer humano que se une a SDF-1, NOX-A12 para sensibilizar a las células RPMI-8226 MM frente a F-ara-A (fludarabina), en donde células MS-5 confluentes murinas de estroma BM secretoras de SDF-1 se incubaron con el Spiegelmer que se une a SDF-1 humano, NOX-A12 o revNOX-A12 no funcional y, posteriormente, se cocultivaron con células RPMI-8226 MM; las células se trataron con F-ara-A 1 μ M durante 40 horas y la viabilidad celular se midió por citometría de flujo utilizando el reactivo ViaCount; las barras de error indican SD, $N=5$, * $p = 0,0134$, *** $p = 0,0003$ (prueba t no emparejada de dos colas);
- Fig. 17 muestra la eficacia del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 para inhibir la proliferación de células Jurkat en cocultivo con células MS-5 del estroma, en donde las células MS-5 de estroma murino secretoras de SDF-1 se incubaron con concentraciones crecientes del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12; se añadieron las células Jurkat a la capa de células MS-5 confluentes y se realizaron recuentos de las células después de 40 horas mediante citometría de flujo utilizando el reactivo ViaCount. las barras de error indican SD, $N=4$, *** $p = 0,0008$ (prueba t no emparejada de dos colas);

Fig. 18A+B muestran la eficacia del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 para revertir la adhesión dependiente de la dosis de SDF-1 de las células Jurkat a la fibronectina, en donde las células Jurkat se incubaron con SDF-1 solo (A), con SDF-1 y concentraciones crecientes del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 o con SDF-1 y concentraciones crecientes del Spiegelmer de control revNOX-A12 (B) durante 30 minutos y se sembraron sobre placas recubiertas con fibronectina durante 15 minutos; las células se lavaron posteriormente con los medios y las células fijadas se cuantificaron utilizando el reactivo Cella Titear Gol; las barras de error indican SD.

Ejemplo 1: Ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 humano

A continuación, las expresiones 'ácido nucleico' y 'molécula de ácido nucleico' se utilizan en este documento de una manera sinónima, si no se indica lo contrario. Además, el término y la expresión 'tramo' y 'tramo de nucleótidos' se utilizan en el presente documento de una manera sinónima, si no se indica lo contrario.

Las moléculas de ácido nucleico L que se unen a SDF-1 humano y las respectivas secuencias de nucleótidos se representan en las Figuras 1 a 9. Los ácidos nucleicos se caracterizaron sobre el aptámero, es decir, a nivel de ácido nucleico D, utilizando ensayos de unión competitiva o de captación directa con D-SDF-1 humano biotinilado (protocolo, véase el Ejemplo 3). Los Spiegelmers se sometieron a ensayo con la configuración natural de SDF-1 (L-SDF-1) mediante una medición de la resonancia de plasmón superficial, usando un aparato Biacore 2000 (protocolo, véase el Ejemplo 5) y un ensayo de quimiotaxis con cultivo celular *in vitro* (protocolo, véase el Ejemplo 4).

Las moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 muestran diferentes motivos de secuencia, tres tipos principales se definen en las Figs. 1, 2A y 2B (Tipo A), Figs. 3, 4A y 4B (Tipo B), Figs. 5, 4, 7A, 7B y 8 (Tipo C). Las moléculas de ácido nucleico muestran diferentes motivos de secuencia. Para una definición de motivos de secuencia de nucleótidos, se emplean las abreviaturas de la IUPAC para nucleótidos ambiguos:

S	fuerte	G o C;
W	débil	A o U;
R	purina	G o A;
Y	pirimidina	C o U;
K	ceto	G o U;
M	imino	A o C;
B	no A	C o U o G;
D	no C	A o G o U;
H	no G	A o C o U;
V	no U	A o C o G;
N	todos	A o G o C o U

Si no se indica lo contrario, cualquier secuencia de ácido nucleico o secuencia de tramos y cajas, respectivamente, se indica en la dirección 5' → 3'.

25 **Moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de tipo A**

Como se muestra en la Fig. 1, todas las secuencias de moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de tipo A comprenden un tramo central de nucleótidos que está flanqueado por el primer tramo (5')-terminal y el segundo tramo (3')-terminal de nucleótidos (también denominados primer tramo terminal de nucleótidos y segundo tramo de nucleótidos) en donde ambos tramos se pueden hibridar entre sí. Sin embargo, esa hibridación no se proporciona necesariamente en la molécula.

A continuación, las expresiones 'moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de tipo A' y 'ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de tipo A' o 'moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 tipo A' se emplean en el presente documento de una manera sinónima si no se indica lo contrario.

Las secuencias de las cajas o tramos de nucleótidos definidos pueden ser diferentes entre los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de tipo A, lo que influye en la afinidad de la unión a SDF-1. Basándose en análisis de la unión de los diferentes ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, resumidos como ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A, el tramo central de nucleótidos y sus secuencias de nucleótidos tal y como se describen a continuación, son esenciales de forma individual y más preferiblemente en su totalidad para la unión a SDF-1.

El tramo central de nucleótidos de todas las secuencias identificadas de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A, comparten la secuencia

AAAGYRACAHGUMAA_{X_A}UGAAAGGUARC

(Fórmula-1 de tipo A, SEQ ID NO: 74), en donde X_A está o bien ausente o es 'A'. Si 'A' está ausente, la secuencia de la secuencia de nucleótidos central se puede resumir como Fórmula-2 de Tipo A

(AAAGYRACAHGUMAA-UGAAAGGUARC),

5 SEQ ID NO: 75. Ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo A 191-A6 (secuencia de nucleótidos central:

AAAGU AACACGUAAAUGAAAGGUAAC,

SEQ ID NO: 54) que es portadora del nucleótido adicional 'A' dentro de la secuencia de nucleótidos central y que todavía se une a SDF-1, permite concluir una secuencia de nucleótidos central alternativa

(AAAGYRACAHGUMAAAUGAAAGGUARC),

10 Fórmula-3 de Tipo A, SEQ ID NO: 76). A modo de ejemplo para todos los otros ácidos nucleicos de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A, el ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo A, 192-A10-001, se caracterizó por su afinidad de unión a SDF-1 humano. La constante de unión en equilibrio K_D se determinó usando el ensayo de unión por captación (K_D = 1,5 nM) y mediante medición de la resonancia de plasmón superficial (K_D = 1,0 nM). La Cl₅₀ (concentración inhibitoria del 50%) de 0,12 nM para 192-A10-001 se midió usando un ensayo de quimiotaxis
15 con cultivo de células *in vitro*. En consecuencia, todos los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A como se representan en la Fig. 1, se analizaron en un ensayo de unión por captación competitiva frente a 192-A10-001. Los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A, 192-B11 y 192-C10 mostraban afinidades de unión iguales a 192-A10-001 en esos experimentos de competición. Se determinó una afinidad de unión más débil para los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A 192-G10, 192-F10, 192-C9, 192-E10, 192-D11, 192-G11, 192-H11 y 191-A6.
20 Los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A 192-D10, 192-E9 y 192-H9 tienen una afinidad de unión mucho más débil que 192-A10-001.

Como se ha mencionado anteriormente, los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A, 192-B11 y 192-C10 mostraban afinidades de unión iguales a las de 192-A10-001. Sin embargo, mostraban ligeras diferencias en la secuencia de nucleótidos del tramo central de nucleótidos. Por lo tanto la secuencia de consenso de las tres moléculas
25 que se unen a SDF-1 con casi la misma afinidad alta, se puede resumir mediante la secuencia de nucleótidos

AAAGYAACA HGUC AAUGAAAGGUARC

(Fórmula-4 de Tipo A, SEQ ID NO: 77)) en donde la secuencia de nucleótidos del tramo central de nucleótidos de 192-A10-001 (secuencia de nucleótidos:

AAAGCAACAUGUCA AUGAAAGGUAGC,

30 SEQ ID NO: 84) representa la secuencia de nucleótidos con la mejor afinidad de unión de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A.

Cinco o seis de los seis nucleótidos del tramo 5'-terminal (también denominado como primer tramo terminal) de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A, se pueden hibridar con los respectivos cinco o seis nucleótidos de los seis nucleótidos del tramo 3'-terminal (también denominado segundo tramo terminal) para formar una hélice terminal.
35 Aunque estos nucleótidos son variables en varias posiciones, los diferentes nucleótidos permiten la hibridación de cinco o seis de los seis nucleótidos de los tramos extremos 5' y 3' terminales cada uno. Los tramos 5'-terminal y 3'-terminal de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A como se muestra en la Fig. 1, se pueden resumir en una fórmula genérica para el tramo 5'-terminal ('RSHRYR', Fórmula-5-5' de Tipo A) y para el tramo 3'-terminal ('YRYDSY', Fórmula-5-3' de Tipo A). Los derivados truncados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo A 192-A10-001, se analizaron en un ensayo de unión por captación competitiva frente a la molécula original 192-A10-001 y 192-A10-008 (Fig. 2A y 2B). Estos experimentos mostraron que una reducción de los seis nucleótidos terminales (extremo 5': **GCUGUG**; extremo 3': **CGCAGC**) de 192-A10-001 a cinco nucleótidos (extremo 5': **CUGUG**; extremo 3': **CGCAG**) del derivado de 192-A10-002 se podía realizar sin una reducción de la afinidad de la unión. Sin embargo, el truncamiento a cuatro nucleótidos terminales (extremo 5': **UGUG**; extremo 3': **CGCA**; 192-A10-003) o menos (192-A10-004/ -005/ -006/ -007) daba lugar a una afinidad de la unión a SDF-1 reducida (Fig. 2A). Los tramos 5'-terminal y 3'-terminal determinados con una longitud de cinco y cuatro nucleótidos de los derivados del ácido nucleico que se unen a SDF-1 de tipo A 192-A10-001, como se muestran en las Figs. 2A y 2B, se pueden describir en una fórmula genérica para el tramo 5'-terminal ('X₂BBBS', Fórmula-6-5' de Tipo A) y el tramo 3'-terminal ('SBBVX₃', Fórmula-6-3' de Tipo A), en donde X₂ está o bien ausente o es 'S' y X₃ está o bien ausente o es 'S'.

La secuencia de nucleótidos de los tramos 5'-terminal y 3'-terminal tiene una influencia sobre la afinidad de la unión de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A. Esto no solo se muestra por los ácidos nucleicos 192-F10 y 192-E10, sino también por los derivados de 192-A10-001 (Fig. 2B). El tramo central de 192-F10 y 192-E10 es idéntico al de 192-B11 y 192-C10, pero comprende ligeras diferencias en el extremo 3' del tramo 5'-terminal y en el extremo 5' del tramo 3'-terminal, lo que da como resultado una afinidad de la unión reducida.

La sustitución de los nucleótidos 5'-terminal y 3'-terminal '**CUGUG**' y '**CGCAG**' del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo A 192-A10-002, mediante '**GCGCG**' y 'CGCGC' (192-A10-015) daba como resultado una afinidad de la unión reducida, mientras que las sustituciones por '**GCGUG**' y 'CGCGC' (192-A10-008) daban como resultado la misma afinidad de la unión que la que se muestra para 192-A10-002 (Fig. 2B). Además, nueve derivados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo A 192-A10-001 (192-A10-014/-015/-016/-017/-018/-019/-020/-021/-022/-023) que eran portadores de cuatro nucleótidos 5'-terminal y 3'-terminal respectivamente, se sometieron a ensayo como aptámeros para estudiar su afinidad de la unión frente a 192-A10-001 o su derivado 192-A10-008 (ambos tienen la misma afinidad de unión hacia SDF-1). Todas las moléculas mostraron una afinidad de la unión más débil, mucho más débil o todavía mucho más débil hacia SDF-1 que 192-A10-001 (seis nucleótidos que forman una hélice terminal) o que 192-A10-008 con cinco nucleótidos terminales, respectivamente (Fig. 2B). Por consiguiente, la secuencia y el número de nucleótidos de los tramos 5'-terminal y 3'-terminal son esenciales para una unión eficaz a SDF-1. Como se muestra para los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A 192-A10-002 y 192-A10-008, la combinación preferida de tramos 5'-terminal y 3'-terminal es 'CUGUG' y 'CGCAG' (tramos 5'-terminal y 3'-terminal del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo A 192-A10-002) y 'GCGUG' y 'CGCGC' (tramos 5'-terminal y 3'-terminal del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo A 192-A10-008).

Sin embargo, al combinar los tramos 5'-terminal y 3'-terminal de todos los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A sometidos a ensayo, la fórmula genérica para el tramo 5'-terminal de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A es ' X_1X_2NNBV ' (Fórmula-7-5' de Tipo A) y la fórmula genérica para el tramo 3'-terminal de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A es ' $BNBNX_3X_4$ ' (Fórmula-7-3' de Tipo A), en donde

X_1 es 'R' o está ausente, X_2 es 'S', X_3 es 'S' y X_4 es 'Y' o está ausente;

o

X_1 está ausente, X_2 es 'S' o está ausente, X_3 es 'S' o está ausente y X_4 está ausente.

Con el fin de prolongar el tiempo de residencia en plasma de los Spiegelmers *in vivo*, el Spiegelmer 192-A10-008 se acopló covalentemente con un resto de 40 kDa de polietilenglicol (PEG) en el extremo 5' como se describe en el capítulo 2. El resto PEG no influye sobre la potencia de los Spiegelmers para inhibir la quimiotaxis inducida con SDF-1.

Moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de tipo B

Como se describe en la Fig. 3, todas las secuencias de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de tipo B comprenden un tramo central de nucleótidos que está flanqueado por tramos 5'-terminal y 3'-terminal (también denominados primer y segundo tramo terminal de nucleótidos) que se pueden hibridar entre sí. Sin embargo, esa hibridación no se proporciona necesariamente en la molécula.

A continuación, las expresiones 'moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de tipo B' y "ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo B o 'moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 tipo B' se emplean en el presente documento de una manera sinónima si no se indica lo contrario.

Las secuencias de las cajas o tramos definidos pueden ser diferentes entre los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, lo que influye sobre la afinidad de la unión a SDF-1. Basándose en el análisis de la unión de los diferentes ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, el tramo central de nucleótidos y sus secuencias de nucleótidos como se describen a continuación, son esenciales de forma individual y más preferiblemente en su totalidad para la unión a SDF-1.

El tramo central de nucleótidos de todas las secuencias identificadas de ácidos nucleicos que se unen a SDF 193-C2-001, 193-G2-001, 193-F2-001, 193-G1-002, 193-D2-002, 193-A1-002, 193-D3-002, 193-B3-002, 193-H3-002, 193-E3-002 y 193-D1-002 comparten la secuencia

GUGUGAUCUAGAUGUADWGGCUGWUCCUAGUYAGG

(Fórmula-1 de Tipo B, SEQ ID NO: 52). Los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 193-G2-001, 193-C2-001 y 193-F2-001 que difieren en una sola posición del tramo central de nucleótidos (secuencia de consenso del tramo central de nucleótidos):

GUGUGAUCUAGAUGUADUGGCUGAUCCUAGUCAGG

(Fórmula-2 de Tipo B, SEQ ID NO: 53) se analizaron en un ensayo de unión por captación competitiva frente al ácido nucleico que se une a SDF-1, 192-A10-001 (K_D de 1,5 nM determinada en un ensayo de unión por captación, Cl_{50} de 0,12 nM). Cada uno de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, 193-G2-001, 193-C2-001 y 193-F2 mostraron una unión a SDF-1 humano superior, en comparación con el ácido nucleico que se une a SDF-1, 192-A10-001, en donde la afinidad de la unión de 193-G2-001 es tan buena como la de 193-C2-001 y 193-F2-001 (Fig. 3). Los datos sugieren que la diferencia en la secuencia de nucleótidos del tramo central de nucleótidos de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, 193-G2-001, 193-C2-001 y 193-F2-001 no influye sobre la afinidad de unión a SDF-1. Los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, 193-G1-002, 193-D2-002, 193-A1-002, 193-D3-002, 193-B3-002, 193-H3-002, 193-E3-002 y 193-D1-002 mostraron una reducción de la unión a SDF-1 humano en comparación con el ácido nucleico que se une a SDF-1, 193-G2-001. El ácido nucleico que se une a SDF-1, 193-G2-001 se caracterizó por su afinidad de unión a SDF-1 humano. La constante de unión en equilibrio K_D se determinó usando el ensayo de unión por captación ($K_D = 0,3$ nM). La Cl_{50} (concentración inhibitoria del 50%) de 0,08 nM para 193-G2-001 se midió usando un ensayo de quimiotaxis con cultivo de células *in vitro*.

Cuatro, cinco o seis nucleótidos de los seis nucleótidos del tramo 5'-terminal de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 se pueden hibridar con los respectivos cuatro, cinco o seis de los seis nucleótidos del tramo 3'-terminal de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 para formar una hélice terminal.

Aunque los nucleótidos son variables en varias posiciones, los diferentes nucleótidos permiten la hibridación de cuatro, cinco o seis nucleótidos de los seis nucleótidos de cada tramo 5'-terminal y 3'-terminal. Los tramos 5'-terminal y 3'-terminal de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 tal y como se muestran en la Fig. 3, se pueden resumir en una fórmula genérica para el tramo 5'-terminal (' X_1X_2GCRWG ' en donde X_1 es 'A' o está ausente, X_2 es 'G') y del tramo 3'-terminal (' $KRYSCX_3X_4$ ' en donde X_3 es 'G', X_4 es 'U' o está ausente). Los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 193-G1-002, 193-D2-002, 193-A1-002 y 193-D3-002 tienen afinidades de unión más débiles hacia SDF-1, aunque comparten el tramo central de nucleótidos idéntico al de 193-C2-001, 193-G2-001 y 193-F2-001 (Fig. 3). Las propiedades de unión no favorables de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, 193-G1-002, 193-D2-002, 193-A1-002 y 193-D3-002 pueden ser debidas al número de nucleótidos y a la secuencia de los tramos 5'-terminal y 3'-terminal.

Los derivados truncados de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, 193-G2-001 y 193-C2-001 fueron analizados en un ensayo de unión por captación competitiva frente a 193-G2-001 y 193-G2-012, respectivamente (Fig. 4A y 4B). Estos experimentos mostraron que una reducción de los seis nucleótidos terminales (extremo 5': **AGCGUG**; extremo 3': **UACGCU**) de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 193-G2-001 y 193-C2-001 a cinco nucleótidos (extremo 5': **GCGUG**; extremo 3': **UACGC**) conducía a moléculas con una afinidad de unión similar (193-C2-002 y 193-G2-012). La constante de disociación en equilibrio K_D se determinó usando el ensayo de unión por captación ($K_D = 0,3$ nM). Un truncamiento a cuatro (extremo 5': **CGUG**; extremo 3': **UACG**; **193-C2-003**) o menos nucleótidos (193-C2-004, 193-C2-005, 193-C2-006, 193-C2-007) daba como resultado una afinidad de unión menor a SDF-1 que se midió empleando el ensayo de unión por captación competitiva (Fig. 4A). La secuencia de nucleótidos de los cinco nucleótidos terminales en el extremo 3' y 5', respectivamente, influye sobre la afinidad de la unión de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1. La sustitución de los nucleótidos 5'-terminal y 3'-terminal '**GCGUG**' y '**UACGC**' (193-C2-002, 193-G2-12) por '**GCGCG**' y '**CGCGC**' (193-G2-013) daba como resultado una afinidad de la unión reducida. Además, se sometieron a ensayo los cuatro derivados diferentes del ácido nucleico que se une a SDF-1, 193-G2-001 con una hélice terminal con una longitud de cuatro nucleótidos de apareamiento de bases (193-G2-014/-015/-016/-017). Todos ellos mostraron una afinidad de unión a SDF-1 reducida (Fig. 4B). Por lo tanto, la secuencia y la longitud de los nucleótidos 5'-terminal y 3'-terminal son esenciales para una unión eficaz a SDF-1. Los tramos 5'-terminal y 3'-terminal con una longitud de cinco y cuatro nucleótidos de los derivados de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, 193-C2-003 y 193-G2-012 como se muestran en las Figs. 4A y 4B, se pueden describir en una fórmula genérica para el tramo 5'-terminal (' X_1X_2SSBS '), en donde X_1 está ausente, X_2 está o bien ausente o es 'G', y el tramo 3'-terminal (' $BVSSX_3X_4$ '), y en donde X_3 está o bien ausente o es 'C' y X_4 está ausente. Como se muestra para los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, 193-G2-001 y 193-C2-01 y sus derivados 193-G2-012 y 193-C2-002, la combinación preferida de tramos 5'-terminal y 3'-terminal es ' X_1X_2GCGUG ' (tramo 5'-terminal) y ' $UACGCX_3X_4$ ' (tramo 3'-terminal), en donde X_1 es o bien 'A' o está ausente, X_2 es 'G' y X_3 es 'C' y X_4 es 'U' o está ausente.

Sin embargo, al combinar los tramos 5'-terminal y 3'-terminal de todos los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 sometidos a ensayo, la fórmula genérica para el tramo 5'-terminal de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 es ' X_1X_2SVNS ' y fórmula genérica para el tramo 3'-terminal de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 es ' $BVBSX_3X_4$ ', en donde

X_1 es 'A' o está ausente, X_2 es 'G', X_3 es 'C' y X_4 es 'U' o está ausente;

o X_1 está ausente, X_2 es 'G' o está ausente, X_3 es 'C' o está ausente y X_4 está ausente.

Con el fin de prolongar el tiempo de residencia en plasma de los Spiegelmers *in vivo*, el Spiegelmer 193-G2-012 se acopló covalentemente a un resto de 40 kDa de polietilenglicol (PEG) en el extremo 5' como se describe en el capítulo 2 (molécula de ácido nucleico PEGilada: 193-G2-012-5'-PEG también denominada NOX-A12). El Spiegelmer PEGilado NOX-A12 se analizó en un cultivo celular en un ensayo de quimiotaxis *in vitro* y se determinó una inhibi-

ción de la quimiotaxis inducida con SDF-1 (Cl_{50} de 0,2 nM). El Spiegelmer PEGilado NOX-A12 se analizó mediante una medición con Biacore y se determinó una constante de unión (K_D) de 0,2 nM.

Moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de tipo C

5 Como se describe en la Fig. 12 todas las secuencias de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de tipo C comprenden un tramo central de nucleótidos que está flanqueado por los tramos 5'-terminal y 3'-terminal (también denominados primer tramo terminal y segundo tramo terminal de nucleótidos) que se pueden hibridar entre sí. Sin embargo, esa hibridación no se proporciona necesariamente en la molécula.

10 A continuación, las expresiones 'moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de tipo C' y 'ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C o 'moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 Tipo C' se emplean en el presente documento de una manera sinónima si no se indica lo contrario.

15 Las secuencias de las cajas o tramos definidos pueden ser diferentes entre los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, lo que influye en la afinidad de unión a SDF-1. Basándose en el análisis de la unión de los diferentes ácidos nucleicos que se unen a SDF-1, resumidos como ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, el tramo central de nucleótidos y su secuencia de nucleótidos tal y como se describen a continuación, son esenciales de forma individual y más preferiblemente en su totalidad para la unión a SDF-1.

El tramo central de nucleótidos de todas las secuencias identificadas de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, comparten la secuencia

GGUYAGGGCUHRX_AAGUCGG

20 (Fórmula-1 de Tipo C, SEQ ID NO: 108), en donde X_A está o bien ausente o es 'A'. Con la excepción del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C 197-D1, el tramo central de nucleótidos de todas las secuencias identificadas de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, comparten la secuencia de nucleótidos

GGUYAGGGCUHRAAGUCGG

(Fórmula-2 de Tipo C, SEQ ID NO: 109). El ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C 197-D1 (tramo central de nucleótidos:

25 **GGUUAGGGCUAA-AGUCGG**

(SEQ ID NO: 56) que carece de un nucleótido 'A' en el tramo central de nucleótidos y todavía se une a SDF-1, permite concluir un tramo central de nucleótidos alternativo

(GGUYAGGGCUHR-AGUCGG)

30 Fórmula-3 de Tipo C, SEQ ID NO: 110). Inicialmente, todos los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C como se representan en la Fig. 5, se analizaron en un ensayo de unión por captación competitiva frente al ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo A, 192-A10-001 (K_D = 1,5 nM determinada mediante un ensayo de captación y mediciones de la resonancia de plasmón superficial; Cl_{50} = 0,12 nM). Los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C 191-D5-001, 197-B2, 190-A3-001, 197-H1, 197-H3 y 197-E3 mostraban afinidades de la unión más débiles que 192-A10-001 en experimentos de competencia. Una afinidad de la unión mucho más débil se determinó para 191-A5, 197-B1, 197-D1, 197-H2 y 197-D2 (Fig. 5). Las moléculas o derivados de las mismas se caracterizaron además mediante otros ensayos de unión por captación competitiva, mediciones de resonancia de plasmón y un ensayo de quimiotaxis *in vitro*. El ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C, 191-D5-001 se caracterizó por su afinidad de la unión a SDF-1 humano, mientras que la constante de unión en equilibrio K_D se determinó mediante una medición de la resonancia de plasmón superficial (K_D = 0,8 nM). La Cl_{50} (concentración inhibitora del 50%) de 0,2 nM para 191-D5-001 se midió usando un ensayo de quimiotaxis con cultivo de células *in vitro*. La afinidad de la unión del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C, 197-B2 hacia SDF-1 humano se determinó mediante una medición de la resonancia de plasmón superficial (K_D = 0,9 nM), su Cl_{50} (concentración inhibitora al 50%) de 0,2 nM se analizó en un ensayo de quimiotaxis en un cultivo celular *in vitro*. Estos datos indican que los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C 191-D5-001 y 197-B2 tienen una afinidad de la unión similar hacia SDF-1 (Fig. 5 y 8).

45 El ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C, 190-A3-001 comprende un tramo 5'-terminal de 17 nucleótidos ('CGUGCGCUUGAGAUAGG', SEQ ID NO: 220) y un tramo 3'-terminal de 12 nucleótidos ('CUGAUUCUCACG', SEQ ID NO: 221), en donde por una parte los cuatro nucleótidos en el extremo 5' del tramo 5'-terminal y los cuatro nucleótidos en el extremo 3' del tramo 3'-terminal se pueden hibridar entre sí para formar una hélice terminal. Alternativamente, los nucleótidos 'UGAGA' en el tramo 5'-terminal se pueden hibridar con los nucleótidos 'UCUCA' en el tramo 3'-terminal para formar una hélice terminal. Una reducción a nueve nucleótidos del tramo 5-'UGAGAUAGG') y a

diez nucleótidos ('CUGAUUCUC', SEQ ID NO: 222) del tramo 3'-terminal ('CUGAUUCUC') de la molécula 190-A3-001 no influye sobre la afinidad de la unión a SDF-1 (190-A3-003; Fig. 13). Una reducción a ocho nucleótidos del tramo 5'-terminal ('GAGAUAGG') y a nueve nucleótidos del tramo 3'-terminal ('CUGAUUCUC') de la molécula 190-A3-001 no influye sobre la afinidad de la unión a SDF-1 (190-A3-004; Fig. 6). La constante de unión en equilibrio K_D de 190-A3-004 se determinó usando el ensayo de unión por captación ($K_D = 4,6$ nM) y mediante una medición con resonancia de plasmón superficial ($K_D = 4,7$ nM). La Cl_{50} (concentración inhibitora del 50%) de 0,1 nM para 190-A3-004 se midió usando un ensayo de quimiotaxis con cultivo de células *in vitro*. Sin embargo el truncamiento a dos nucleótidos en el tramo 5'-terminal conduce a una reducción muy fuerte de la afinidad de la unión (190-A3-007; Fig. 6).

10 Los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, 191-D5-001, 197-B2 y 197-H1 (tramo central de nucleótidos:

GGUUAGGGCUAGAAGUCGG,

SEQ ID 57, 197-H3/191-A5 (tramo central de nucleótidos:

GGUUAGGGCUCGAAGUCGG,

SEQ ID NO: 58 y 197-E3/197-B1 (tramo central de nucleótidos:

GGUUAGGGCUUGAAGUCGG,

15 SEQ ID NO: 59, comparten un tramo central de nucleótidos casi idéntico (fórmula-4 de Tipo C; secuencia de nucleótidos:

GGUUAGGGCUHGAAGUCGG

20 SEQ ID NO: 111). 191-D5-001, 197-B2 y 197-H1 no comparten un tramo 5'-terminal y 3'-terminal similar (197-H3 y 197-E3 tienen el tramo 5'-terminal y 3'-terminal idéntico a 197-B2). Sin embargo, los respectivos diez nucleótidos (197-B2, 197-E3, 197-H3) o nueve de los diez (191-D5-001, 197-H1) nucleótidos del tramo 5'-terminal se pueden hibridar con los respectivos diez (197-B2, 197-E3, 197-H3) o nueve de los diez (191-D5-001, 197-H1) nucleótidos del tramo 3'-terminal (Fig. 5). Por tanto, el tramo 5'-terminal de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, 197-B2, 191-D5-001, 197-H1, 197-E3 y 197-H3 como se han mencionado anteriormente, más 191-A5, 197-B1, 197-H2, 197-D1 y 197-D2 comprenden una secuencia de nucleótidos genérica común de 'RKSBUENVGR' (Fórmula-5-5' de Tipo C, SEQ ID NO: 138). El tramo 3'-terminal de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, 197-B2, 191-D5-001, 197-H1, 197-E3 y 197-H3 como se han mencionado anteriormente, más 191-A5, 197-B1, 197-H2, 197-D1 y 197-D2 comprenden una secuencia de nucleótidos genérica común de 'YNNRCASSMY' (Fórmula-5-3' de Tipo C, SEQ ID NO: 139), en donde se prefieren los tramos 5'-terminal y 3'-terminal de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, 197-B2, 191-D5-001, 197-H1, 197-E3 y 197-H3. Estos tramos 5'-terminal y 3'-terminal preferidos de los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, 197-B2, 191-D5-001, 197-H1, 197-E3 y 197-H3 se pueden resumir en la fórmula genérica 'RKSBUGSVGR' (Fórmula-6-5' de Tipo C; tramo 5'-terminal, SEQ ID NO: 140) y 'YNNRCASSMY' (Fórmula-6-3' de Tipo C; tramo 3'-terminal, SEQ ID NO: 141).

35 Los derivados truncados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C, 191-D5-001 se construyeron y se sometieron a ensayo en un ensayo de unión por captación competitiva frente a la molécula original 191-D5-001 (Fig. 7A, Fig. 7B). Al principio, la longitud de los tramos 5'-terminal y 3'-terminal se acortó de diez nucleótidos (191-D5-001) cada uno a siete nucleótidos cada uno (191-D5-004) como se representa en la Fig. 14A, en donde nueve de los diez nucleótidos (191-D5-001) o seis de los siete nucleótidos (191-D5-004) del tramo 5'-terminal y del tramo 3'-terminal, respectivamente se pueden hibridar entre sí. La reducción a siete nucleótidos del tramo 5'-terminal y 3'-terminal respectivamente (en donde seis de los siete nucleótidos se pueden hibridar entre sí) condujo a una reducción de la afinidad de la unión a SDF-1 (191-D5-004). Los tramos terminales del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C, 191-D5-004 se modificaron, en donde el nucleótido 'A' no apareado en el tramo 3'-terminal de 191-D5-004 fue sustituido por una 'C' (191-D5-005). Esta modificación dio lugar a una mejora de la unión. Este derivado, ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C 191-D5-005, mostraba una unión similar a SDF-1 que la de 191-D5-001. Un truncamiento adicional del tramo 5'-terminal y 3'-terminal a cinco nucleótidos respectivamente, condujo a una molécula con una longitud total de 29 nucleótidos (191-D5-007). Debido a las similitudes de 191-D5-001 y los ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, 197-B2, 191-D5-001, 197-H1, 191-A5, 197-H3, 197-B1, 197-E3, 197-D1, 197-H2 y 197-D2 y debido a los datos que se muestran para 191-D5-007, se puede suponer que el tramo 5'-terminal y 3'-terminal se puede truncar en principio reduciendo hasta cinco nucleótidos, por lo que la secuencia de nucleótidos 'CGGGA' para el tramo 5'-terminal y 'UCCCG' para el tramo 3'-terminal se analizó con éxito (ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C, 191-D5-007). El ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C, 191-D5-007, se une sorprendentemente algo mejor a SDF-1 que 191-D5-001 (determinado a nivel de aptámero usando el ensayo de unión competitiva). La constante de unión en equilibrio K_D de 191-D5-007 se determinó usando el ensayo de unión por captación ($K_D = 2,2$ nM) y mediante una medición con resonancia de plasmón superficial ($K_D = 0,8$ nM). La Cl_{50} (concentración inhibitora

del 50%) de 0,1 nM para 191-D5-007 se midió usando un ensayo de quimiotaxis con cultivo de células *in vitro*. Un truncamiento adicional de ambos tramos terminales fue a cuatro nucleótidos (191-D5-010, Fig.7A).

Otros derivados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C, 191-D5-001 (191-D5-017/-024/-029) que eran portadores de tramos 5'-terminal y 3'-terminal de respectivamente cuatro nucleótidos, también mostraron una reducción de la afinidad de la unión a SDF-1 en el ensayo de unión por captación competitiva frente a 191-D5-007 (Fig. 7B). Tramos 5'-terminal y 3'-terminal alternativos con una longitud de respectivamente cinco nucleótidos, se sometieron a ensayo adicionalmente, también (191-D5-017-29a, 191-D5-017-29b, 191-D5-019-29a, 191-D5-024-29a, 191-D5-024-29b). La fórmula genérica de estos derivados para el tramo 5'-terminal es 'X_SSSSV' (Fórmula-7-5' de Tipo C) y para el tramo 3' es 'BSSSX_S' Fórmula-7-3' de Tipo C), en donde X_S está ausente o es S'. Dos de las cinco variantes sometidas a ensayo mostraron una afinidad de la unión a SDF-1 idéntica a la de 191-D5-007 (191-D5-024-29a, 191-D5-024-29b; Fig. 7B). Las secuencias de los tramos 5'-terminal y 3'-terminal de los derivados de 191-D5-001 que muestran la mejor afinidad de unión a SDF-1 y comprenden un tramo 5'-terminal y 3'-terminal de cinco nucleótidos respectivamente (191-D5-007, 191-D5-024-29a, 191-D5-024-29b) se pueden resumir en una fórmula genérica (tramo 5'-terminal: 'SGGSR', Fórmula-8-5' de Tipo C'; tramo 3'-terminal: ,YSCCS', Fórmula-8-3' de Tipo C).

Derivados truncados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C, 97-B2, se analizaron en un ensayo de unión por captación competitiva frente a la molécula original 197-B2 y 191-D5-007 (Fig. 7). Usando el ensayo de unión por captación competitiva frente a 191-D5-007, se mostró que 197-B2 tiene la misma afinidad de unión hacia SDF-1 que 191-D5-007. Los tramos 5'-terminal y 3'-terminal se acortaron sin pérdida de afinidad de la unión desde diez nucleótidos (197-B2) cada uno a cinco nucleótidos cada uno (197-B2-005), en donde los nucleótidos del tramo 5'-terminal y del tramo 3'-terminal se pueden hibridar completamente entre sí. Si el tramo 5'-terminal ('**GCGGG**') y el tramo 3'-terminal ('**CCUGC**') de 197-B2-005 se sustituían con '**GCCGG**' (tramo 5'-terminal) y con '**CCGGC**' (tramo 3'-terminal) de 197-B2-006, la afinidad de la unión a SDF-1 persistía completamente. Debido a que 197-B2 y 191-D5-001 (y sus derivados) comparten la secuencia de nucleótidos central idéntica y se sometieron a ensayo varios derivados de 191-D5 con tramos 5'-terminal y 3'-terminal con una longitud de respectivamente cuatro nucleótidos, se omitió un truncamiento adicional del tramo 5'-terminal y 3'-terminal. Se diseñaron otros dos derivados que comprenden seis nucleótidos en el extremo 5' y 3' (tramos 5'-terminal y 3'-terminal), respectivamente. La afinidad de la unión a SDF-1 de ambas moléculas (197-B2-006-31a y 197-B2-006-31b) es la misma que la que se muestra para 191-D5-007 y 197-B2-006 (Fig. 15). Las secuencias de los tramos 5'-terminal y 3'-terminal de los derivados de 197-B2 que muestran la mejor afinidad hacia SDF-1 y comprenden un tramo 5'-terminal y 3'-terminal de cinco nucleótidos respectivamente, se pueden resumir en una fórmula genérica (tramo 5'-terminal: 'GCSGG', Fórmula-9-5' de Tipo C; tramo 3'-terminal: ,CCKGC', Fórmula-9-3' de Tipo C)

Combinando los tramos preferidos 5'-terminal y 3'-terminal de derivados truncados de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C, 191-D5-001 (tramo 5'-terminal: 'SGGSR', Fórmula-8-5' de Tipo C'; tramo 3'-terminal: ,YSCCS', Fórmula-8-3' Tipo C') y 197-B2 (tramo 5'-terminal: 'GCSGG', Fórmula-9-5' de Tipo C; tramo 3'-terminal: ,CCKGC', Fórmula-9-3' Tipo C), la fórmula genérica preferida común para el tramo 5'-terminal y 3'-terminal es 'SSSSR' (tramo 5'-terminal, Fórmula-10-5' de Tipo C) e 'YSBSS' (tramo 3'-terminal: Fórmula-10-3' de Tipo C)

Con el fin de prolongar el tiempo de residencia en plasma *in vivo* de los Spiegelmers, los Spiegelmers 197-B2-006 y 191-D5-007 se acoplaron de forma covalente a un resto de 40 kDa de polietilenglicol (PEG) en sus extremos 5' como se describe en el capítulo 2. Los Spiegelmers PEGilados 197-B2-006 y 191-D5-007 se analizaron en un cultivo celular en una quimiotaxis *in vitro*. El resto PEG no influye sobre la potencia de los Spiegelmers para inhibir la quimiotaxis inducida con SDF-1.

Moléculas de ácido nucleico que se unen a SDF-1 de tipo D

Además, se identificaron otros tres ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 que no comparten los motivos de unión a SDF-1 de 'Tipo A', 'Tipo B' y 'Tipo C' y se denominan en esta memoria "tipo D". Se analizaron como aptámeros utilizando el ensayo de unión por captación (Fig. 9).

Se ha de entender que cualquiera de las secuencias mostradas en las Figs. 1 a 9 son moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención, incluyendo las formas truncadas de las mismas, pero incluyendo también las formas extendidas de las mismas, con la condición, sin embargo, de que las moléculas de ácido nucleico truncadas y extendidas sean todavía capaces de unirse a la diana.

Ejemplo 2: Síntesis y derivatización de aptámeros y Spiegelmers

Síntesis a pequeña escala

Los aptámeros y los Spiegelmers se produjeron mediante síntesis en fase sólida con un sintetizador ABI 394 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.), utilizando química de la fosforamidita 2'TBDMS RNA (Damha y Ogilvie, 1993). Las fosforamiditas rA(N-Bz), rC(Ac), rG(N-ibu) y rU en la configuración D y L se adquirieron en ChemGenes, Wilmington, MA. Los aptámeros y los Spiegelmers se purificaron por electroforesis en gel.

Síntesis a gran escala más modificación

Los Spiegelmers se produjeron mediante síntesis en fase sólida con un sintetizador ÄktaPilot100 (Amersham Biosciences; General Electric Healthcare, Freiburg) utilizando química de la fosforamidita 2'TBDMS RNA (Damha y Ogilvie, 1993). Las fosforamiditas L-rA(N-Bz), L-rC(Ac), L-rG(N-ibu) y L-rU se adquirieron en ChemGenes (Wilmington, MA, EE.UU.). El modificador 5'-amino se adquirió en American International Chemicals Inc. (Framingham, MA, EE.UU.). La síntesis de los Spiegelmers se inició sobre L-riboG; L-riboC, L-riboA, L-riboU respectivamente, con un tamaño de poro CPG modificado de 1000 Å (Link Technology, Glasgow, GB). Para el acoplamiento (15 min por ciclo), se utilizó benciltiotetrazol 0,3 M (American International Chemicals Inc., Framingham, MA, EE.UU.) en acetonitrilo y 3,5 equivalentes de la solución de fosforamidita 0,2 M respectiva en acetonitrilo. Se utilizó un ciclo de tapado con sello mediante oxidación. Otros disolventes y reactivos convencionales para la síntesis de oligonucleótidos se adquirieron en Biosolve (Valkenswaard, NL). Los Spiegelmers se sintetizaron DMT-ON; después de la desprotección, se purificaron mediante RP-HPLC preparativa (Wincott F. *et al.*, 1995) usando medio Source15RPC (Amersham). El grupo 5'DMT se eliminó con ácido acético al 80% (90 min a TA). Posteriormente, se añadió solución acuosa de NaOAc 2 M y el Spiegelmer se desaló por filtración con flujo tangencial usando una membrana de celulosa regenerada de 5 K (Millipore, Bedford, MA).

PEGilación

Con el fin de prolongar el tiempo de residencia en plasma de los Spiegelmers *in vivo*, los Spiegelmers se acoplaron de forma covalente a un resto de 40 kDa de polietilenglicol (PEG) en el extremo 5'.

Para la PEGilación (para más detalles técnicos del método de PEGilación, véase el documento de solicitud de patente europea EP 1 306 382), los Spiegelmers modificados en 5'-amino purificado se disolvieron en una mezcla de H₂O (2,5 ml), DMF (5 ml) y tampón A (5 ml; preparado mezclando ácido cítrico • H₂O [7 g], ácido bórico [3,54 g], ácido fosfórico [2,26 ml] y NaOH 1 M [343 ml] y añadiendo agua hasta un volumen final de 1 l; el pH = 8,4 se ajustó con HCl 1 M).

El pH de la solución de Spiegelmer se llevó a 8,4 con NaOH 1 M. Después, se añadieron 40 kDa de éster de PEG-NHS (JenKem Technology USA Inc., Allen, TX) a 37°C cada 30 minutos en seis porciones de 0,25 equivalentes, hasta que se alcanzó un rendimiento máximo de 75 a 85%. El pH de la mezcla de reacción se mantuvo a 8 - 8,5 con NaOH 1 M durante la adición del éster de PEG-NHS.

La mezcla de reacción se mezcló con 4 ml de solución de urea (8 M) y 4 ml de tampón B (acetato de trietilamonio 0,1 M en H₂O) y se calentó a 95°C durante 15 min. El Spiegelmer PEGilado se purificó después mediante RP-HPLC con medio Source 15RPC (Amersham), utilizando un gradiente de acetonitrilo (tampón B; tampón C: acetato de trietilamonio 0,1 M en acetonitrilo). El exceso de PEG eluyó con 5% de tampón C, el Spiegelmer PEGilado con 10 - 15% de tampón C. Las fracciones del producto con una pureza de >95% (como se determinó por HPLC) se combinaron y se mezclaron con 40 ml de NaOAc 3 M. El Spiegelmer PEGilado se desaló mediante filtración en flujo tangencial (membrana de celulosa regenerada de 5 K, Millipore, Bedford MA).

Ejemplo 3: Determinación de las constantes de unión (ensayo de unión por captación)**Ensayo de unión por captación directa**

La afinidad de los aptámeros hacia D-SDF-1 humano biotinilado se midió en un formato de ensayo de unión por captación a 37°C. Los aptámeros se marcaron en el 5'-fosfato con una polinucleótido cinasa de T4 (Invitrogen, Karlsruhe, Alemania) utilizando ATP [γ -³²P] marcado con (Hartmann Analytic, Braunschweig, Alemania). La radiactividad específica de los aptámeros marcados era 200.000 - 800.000 cpm/pmol. Los aptámeros se incubaron después de la desnaturalización y renaturalización a una concentración de 10, 20, 30 o 40 pM, a 37°C en tampón de selección (Tris-HCl 20 mM pH 7,4; NaCl 137 mM; KCl 5 mM; MgCl₂ 1 mM; CaCl₂ 1 mM; 0,1% [p/vol] de Tween-20) junto con cantidades variables de D-SDF-1 humano biotinilado durante 4 - 12 horas, con el fin de alcanzar el equilibrio a bajas concentraciones. El tampón de selección estaba complementado con 10 µg/ml de albúmina de suero humano (Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania) y 10 µg/ml de ARN de levadura (Ambion, Austin, EE.UU.) con el fin de evitar una adsorción de los ligandos con superficies del material de plástico usado o la matriz de inmovilización. El intervalo de concentración de D-SDF-1 humano biotinilado se estableció desde 8 pM a 100 nM; el volumen total de reacción era de 1 ml. El péptido y los complejos péptido-aptámero se inmovilizaron sobre 1,5 µl de partículas de estreptavidina Ultralink Plus (Pierce Biotechnology, Rockford, EE.UU.) que se habían equilibrado previamente con tampón de selección y se resuspendieron en un volumen total de 6 µl. Las partículas se mantuvieron en suspensión durante 30 min a la temperatura respectiva en un termomezclador. La radiactividad inmovilizada se cuantificó en un contador de centelleo después de separar el material sobrenadante y un lavado apropiado. El porcentaje de unión se representó frente a la concentración de D-SDF-1 humano biotinilado y las constantes de disociación se obtuvieron mediante el uso de programas informáticos de algoritmos (GRAFIT; Erithacus Software; Surrey G.B.) asumiendo una estequiometría de 1:1.

Ensayo de unión por captación competitiva

Con el fin de comparar los diferentes aptámeros que se unen a D-SDF-1, se realizó un ensayo de clasificación competitiva. Para este fin, el aptámero más afín disponible se marcó radiactivamente (véase más arriba) y sirvió como referencia. Después de la desnaturalización y renaturalización se incubó a 37°C con D-SDF-1 humano biotinilado en 1 ml de tampón de selección en condiciones que dieron lugar a alrededor de un 5 - 10% de unión con el péptido después de la inmovilización y el lavado en agarosa NeutrAvidin o estreptavidina Ultralink Plus (ambas de Pierce) sin competencia. Se añadió un exceso de variantes de aptámeros no marcados de D-ARN desnaturalizados y renaturalizados a diferentes concentraciones (por ejemplo, 2, 10 y 50 nM) con el aptámero de referencia marcado para las reacciones de unión paralelas. Los aptámeros que se iban a someter a ensayo competían con el aptámero de referencia en la unión a la diana, disminuyendo de este modo la señal de unión dependiendo de sus características de unión. El aptámero que se encontró más activo en este ensayo podía servir después como una nueva referencia para un análisis comparativo de variantes adicionales de aptámeros.

Ejemplo 4: Análisis de unión mediante medición de la resonancia de plasmón superficial

El instrumento Biacore 2000 (Biacore AB, Uppsala, Suecia) se utilizó para analizar la unión de los Spiegelmers a SDF-1 α humano. Cuando el acoplamiento de SDF-1 α humano se iba a realizar a través de grupos amina, SDF-1 α humano se dializó frente a agua durante 1 - 2 h (ésteres de celulosa mezclados de Millipore VSWP; tamaño de poro, 0,025 μ M) para eliminar las aminas que interferían. Los chips sensores CM4 (Biacore AB, Uppsala, Suecia) se activaron antes del acoplamiento de proteínas mediante una inyección de 35 μ l de una dilución 1:1 de NHS 0,4 M y EDC 0,1 M con un caudal de 5 μ l/min. MCP-1 humana o SDF-1 α humano se inyectó entonces en concentraciones de 0,1 - 1,5 μ g/ml con un caudal de 2 μ l/min hasta que la respuesta del instrumento estaba en el intervalo de 1000 a 2000 UR (unidades relativas). Los ésteres de NHS sin reaccionar se desactivaron mediante una inyección de solución de 35 μ l de clorhidrato de etanolamina (pH 8,5) con un caudal de 5 μ l/min. El chip sensor se cebó dos veces con tampón de unión y se equilibró a 10 μ l/min durante 1 - 2 horas hasta que la línea de base apareció estable. Para todas las proteínas, los parámetros y las constantes de disociación cinética se evaluaron mediante una serie de inyecciones de Spiegelmers a concentraciones de 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 y 0 nM en tampón de selección (Tris-HCl, 20 mM; NaCl 137 mM; KCl 5 mM; CaCl₂ 1 mM; MgCl₂ 1 mM; Tween20, 0,1% [p/v]; pH 7,4). En todos los experimentos, el análisis se realizó a 37°C utilizando el comando Kinject que define un tiempo asociación de 180 y un tiempo de disociación de 360 segundos con un caudal de 10 μ l/min. Un análisis de los datos y el cálculo de las constantes de disociación (K_D) se realizó con el programa informático BIAevaluation 3.0 (Biacore AB, Uppsala, Suecia) usando el algoritmo de ajuste estequiométrico de Langmuir 1:1.

Ejemplo 5: Análisis de la inhibición de la quimiotaxis inducida por SDF-1 mediante Spiegelmers que se unen a SDF-1

La línea celular humana Jurkat de linfocitos T de leucemia Jurkat, la línea celular leucémica de linfoma de monocitos humanos U937, la línea celular humana de leucemia de linfocitos pre-B BV-173 y la línea celular humana pre-B ALL Nalm-6, expresan CXCR4. Mientras que las células Jurkat no expresan CXCR7, las líneas de leucemia BV-173 y U937 eran positivas para la expresión de CXCR7. Todas las células utilizadas se obtuvieron de la DSMZ (Braunschweig). Todas las líneas celulares se cultivaron a 37°C y 5% de CO₂ en medio RPMI 1640 con Glutamax (Invitrogen, Karlsruhe, Alemania) que contenía suero bovino fetal al 10%, 100 unidades/ml de penicilina y 100 μ g/ml de estreptomina (Invitrogen, Karlsruhe, Alemania). Un día antes del experimento, las células se sembraron en un nuevo matraz T175 con una densidad de 0,3 x 10⁶/ml (Jurkat, U937, BV-173) o 0,75 x 10⁶/ml (Nalm-6), respectivamente.

Para el experimento, las células se centrifugaron (5 min a 300 g), se resuspendieron, se contaron y se lavaron una vez con 15 ml de HBH (solución salina equilibrada de Hanks que contenía 1 mg/ml de seroalbúmina bovina y HEPES 20 mM; Invitrogen, Karlsruhe, Alemania). Después, las células se resuspendieron a 1,33 x 10⁶/ml (Jurkat, U937, BV-173) o 2,67 x 10⁶/ml (Nalm-6), respectivamente. Se permitió que las células migraran a través de las membranas porosas de las placas de filtro durante tres horas hacia una solución que contenía SDF-1 y diversas cantidades de Spiegelmers. Las soluciones de estimulación (SDF-1 + diversas concentraciones de Spiegelmers) se prepararon como soluciones 10X en una placa de 96 tubos de 0,2 ml de perfil bajo. Se pipetearon 212 μ l de HBH en los compartimentos inferiores de la placa de transporte y se añadieron 23,5 μ l de las soluciones de estimulación. Todas las condiciones se realizaron por triplicado. Después de 20 a 30 minutos, la placa de filtro se insertó en la placa que contenía las soluciones de estimulación y 75 μ l de una suspensión de células con 1,33 x 10⁶ /ml o 2,67 x 10⁶/ml, respectivamente, se añadieron a los pocillos de la placa de filtro (1 x 10⁵ o 2 x 10⁵ células/pocillo). A continuación, se permitió que las células migraran durante 3 horas a 37°C. Para la calibración, se añadieron 0, 10 y 30 μ l de la suspensión celular a 235, 225 y 205 μ l de HBH, respectivamente, en los pocillos de una placa de 96 pocillos distinta. Después de 3 horas de incubación, la placa de inserción se retiró y se añadieron 30 μ l de solución de trabajo con resazurina (440 μ M en PBS) a los pocillos inferiores y a los pocillos de la placa de calibración. Las placas se incubaron a continuación a 37°C durante 2,5 h. Después de la incubación, 100 μ l de cada pocillo fueron transferidos a una placa negra de 96 pocillos.

Para la evaluación, los valores de fluorescencia se corrigieron para la fluorescencia de fondo (sin células en el pocillo). Después se calculó la diferencia entre las condiciones experimentales, con y sin SDF-1. El valor para la muestra sin Spiegelmer (solo SDF-1) se estableció en 100% y los valores para las muestras con Spiegelmer se calcularon

como porcentaje de este valor. Para una curva de dosis-respuesta los valores en tanto por ciento se representaron frente a la concentración de Spiegelmer y el valor de CI_{50} (concentración de Spiegelmer a la que está presente un 50% de la actividad sin Spiegelmer) se determinó gráficamente a partir de la curva resultante.

Resultados

- 5 Se encontró que SDF-1 humano estimula la migración de las células Jurkat de una manera dependiente de la dosis, con una estimulación semimáxima a aproximadamente 0,3 nM.

Se encontró que SDF-1 humano estimula la migración de las células de la línea celular humana leucémica de linfoma de monocitos U937 de una manera dependiente de la dosis, con una estimulación semimáxima a aproximadamente 3 nM.

- 10 Se encontró que SDF-1 humano estimula la migración de las células de la línea celular humana de leucemia de linfocitos pre-B VB-173 de una manera dependiente de la dosis, con una estimulación semimáxima a aproximadamente 3 nM.

Se encontró que SDF-1 humano estimula la migración de las células de la línea celular humana pre-B ALL Nalm-6 de una manera dependiente de la dosis, con una estimulación semimáxima a aproximadamente 0,3 nM.

- 15 Cuando se permitió que las células migraran hacia una solución que contenía SDF-1 humano más concentraciones crecientes de Spiegelmers que se unen a SDF-1, se observó una inhibición dependiente de la dosis. Los valores respectivos de CI_{50} de los Spiegelmers sometidos a ensayo según lo especificado en el Ejemplo 1, se determinaron en células Jurkat de la línea celular de leucemia de linfocitos T humanos. Por ejemplo, para el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 (también denominado 193-G2-012-5'-PEG) se determinó una CI_{50} de 0,2 nM (Fig. 10).
20 Cuando se utilizó un Spiegelmer de control no específico, en lugar de los Spiegelmers que se unen a SDF-1, no se observó ningún efecto inhibitorio hasta 1 μ M.

- La inhibición de la quimiotaxis inducida por SDF-1 mediante el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 también se observó en otros tres tipos de células de leucemia diferentes: la línea celular humana de leucemia de linfoma de monocitos U937 (Fig. 11B), la línea celular humana de leucemia de linfocitos pre-B BV-173 (Fig. 12) y la línea celular humana pre-B ALL Nalm-6 (Fig. 11A). Además, tenemos pruebas de que las células de leucemia linfocítica crónica primarias migran hacia SDF-1 y que la quimiotaxis dependiente de SDF-1 es bloqueada eficazmente por NOX-A12.

- 25 Las líneas de leucemia BV-173 y U-937 se sometieron a un ensayo positivo también para estudiar la expresión de CXCR7. La potencia del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, para bloquear la interacción de SDF-1 y CXCR7, se determinó como se muestra en el Ejemplo 6.

30 Ejemplo 6: Inhibición de la activación de CXCR7 mediante el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12

- Además de CXCR4, SDF-1 también se une al receptor de quimiocinas CXCR7. El potencial inhibitorio del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, frente a CXCR7 se sometió a un ensayo de complementación con células CHO que expresaban de forma estable CXCR7 y β -arrestina, ambos fusionados a un fragmento de β -galactosidasa (ensayo de β -arrestina PathHunter™, DiscoverX, CA, USA). En el momento de la unión de SDF-1, la β -arrestina formaba un complejo con CXCR7 y, esto conducía a una complementación y activación de la β -galactosidasa, que se midió con un sustrato de quimioluminiscencia.

Método

- 35 Se sembraron células CHO-K1 de CXCR7 β -arrestina PathHunter eXpress humanas durante 48 horas en medio OCC2 y se estimularon con SDF-1 10 nM y diversas concentraciones del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, durante 90 minutos. Después de la estimulación, se detectó la señal usando el kit de detección PathHunter y el protocolo recomendado por el fabricante.

Resultados

La estimulación de β -galactosidasa y por lo tanto la activación de CXCR7 con SDF-1 humano 10 nM fue bloqueada eficazmente por el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 con una CI_{50} de 5,4 nM (Fig. 13).

45 Ejemplo 7: Análisis funcional del Spiegelmer que se une a SDF-1 humano, 193-G2-012-5'-PEG en un ensayo de brote de anillo aórtico

- Para someter a ensayo si el Spiegelmer que se une a SDF-1 humano 193-G2-012-5'-PEG es funcional también en un ensayo estándar de cultivo de órganos con angiogénesis, se realizaron ensayos de brote de anillo aórtico. Este ensayo, en el que se evalúan la longitud y la abundancia de extensiones de tipo vascular procedentes de explantes, se ha convertido en el modelo de cultivo de órganos utilizado más ampliamente para la angiogénesis (Auerbach et al. 2003). Ya se ha mostrado que SDF-1 induce el brote en este tipo de ensayo (Salcedo et al. 1999).

Aortas de rata se cortaron en anillos, se incluyeron en una matriz de colágeno y se incubaron con SDF-1 y SDF-1 más el Spiegelmer humano que se une a SDF-1, 193-G2-012-5'-PEG o SDF más un Spiegelmer PEGilado no funcional de control que no se une a SDF-1. Después de 6 a 7 días, el brote (es decir, la excrecencia de células endoteliales) se analizó mediante la toma de imágenes y determinación de un índice de brote.

5 **Método**

Las aortas de ratas machos se obtuvieron de Bagheri Life Sciences (Berlín, Alemania). Las aortas se prepararon en el momento y se transportaron sobre hielo en medio MCDB 131 (Invitrogen, Karlsruhe, Alemania) que contenía 50 unidades/ml de penicilina, 50 µg/ml de estreptomina (ambas de Invitrogen, Karlsruhe, Alemania) y 2,5 µg/ml de fungizona (Cambrex, EE.UU.).

10 Para un experimento, una única aorta se transfirió a una placa de cultivo celular junto con el medio y el tejido conectivo residual se eliminó. A continuación, la aorta se cortó con un bisturí en anillos de aproximadamente 1 a 2 mm de longitud. Los anillos se lavaron a fondo (al menos cinco veces) en medio 199 (Invitrogen, Karlsruhe, Alemania) y después se colocaron en pocillos de una placa de 24 pocillos, que contenía 450 µl de solución de colágeno por pocillo. Esta solución de colágeno se preparó mezclando 9 ml de colágeno de cola de rata (3 mg/ml en ácido acético al 0,1%; Sigma, Deisenhofen, Alemania) con 1,12 ml de 10X medio 199 (Invitrogen, Karlsruhe, Alemania), 1,12 ml de 10X tampón de colágeno (NaOH 0,05 N, HEPES 200 mM, NaHCO₃ 260 mM) y 0,6 ml de glutamina 200 mM. Los anillos se orientaron de tal manera que los bordes recortados eran perpendiculares a la parte inferior del pocillo. Se permitió que el colágeno solidificara mediante la incubación de las placas durante al menos una hora a 37°C. A continuación, se añadió 1 ml de medio MCDB131 con adiciones (SDF-1 y Spiegelmers) por pocillo. Los anillos se incubaron después a 37°C durante seis a siete días. Como control de los brotes, los experimentos se realizaron adicionalmente con VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular).

El brote fue documentado mediante la toma de fotografías con una cámara digital. En algunos casos los anillos se fijaron mediante la adición de 1 ml de paraformaldehído al 10% y se almacenaron a 2-8°C para una documentación posterior. Las imágenes se analizaron con el programa informático de procesamiento de imágenes Scion Image. Después de la calibración con ayuda de una imagen tomada de un micrómetro de etapas, se trazó una línea a una distancia de 0,33 mm desde un borde de un anillo. Se generó un histograma de trazo a lo largo de esta línea mediante el programa informático, los histogramas se imprimieron y se contaron los picos (que representaban los brotes que cruzaban la línea). Este número se tomó como índice de los brotes. Se evaluaron 4 a 5 anillos por condición. El análisis estadístico se realizó con WinSTAT de Excel.

30 **Resultados**

Se pudo demostrar que SDF-1 induce el brote y que este efecto se podía bloquear con el Spiegelmer que se une a SDF-1 humano 193-G2-012-5'-PEG. No se observó un bloqueo de la inducción de brotes a través de SDF-1 con el Spiegelmer PEGilado de control (Fig. 14 y 15).

35 **Ejemplo 8: Efecto del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, sobre la quimiosensibilización de células de leucemia**

Hay pruebas evidentes de que las células de leucemia se pueden proteger de las quimioterapias convencionales mediante una interacción entre sus receptores CXCR4 con SDF-1 secretado por las células del estroma, dentro de microambientes tisulares particulares, tales como el nicho de la médula ósea (abrev. BM). Por lo tanto, dirigir el eje CXCR4-SDF-1 utilizando el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, es un enfoque atractivo para interrumpir los efectos protectores de las células del estroma que secretan SDF-1 y para sensibilizar las células de leucemia frente a una quimioterapia posterior.

Con el fin de imitar la interacción *in vivo* del microambiente de la BM con células de leucemia, se estableció un sistema de cocultivo *in vitro* con células MS-5 del estroma de BM murinas y la línea celular de mieloma múltiple (abrev. MM) RPMI 8226. El objetivo del experimento era mostrar si el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, sensibiliza a las células de MM en cocultivo con células del estroma, frente a los efectos de agentes quimioterapéuticos. Las células del estroma MS-5 que secretan SDF 1 se incubaron con el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 o revNOX-A12 no funcional. La línea celular de MM RPMI-8226 se añadió a la capa de células del estroma confluentes. Las células se incubaron a continuación con el agente quimioterapéutico F ara A (fludarabina) durante 40 horas. Se midió la viabilidad celular.

50 **Método**

La línea de células del estroma murinas MS-5 (ACC 441) se adquirió en la DSMZ, la línea celular de mieloma múltiple RPMI8226 (CCL-155) se adquirió en la ATCC. La línea celular de mieloma múltiple RPMI8226 se mantuvo en medio RPMI 1640 GlutaMAX (Invitrogen) complementado con 10% de FBS (Biochrom) y penicilina-estreptomina, las células MS-5 se cultivaron en MEM alfa GlutaMAX (Invitrogen) con 10% de FBS y penicilina estreptomina. Para los experimentos de cocultivo de quimiosensibilización, las células del estroma MS-5 se sembraron el día antes en placas de 24 pocillos (los ocho pocillos interiores) a una concentración de 8 x 10⁴ / ml / pocillo en medio MEM alfa GlutaMAX (+ 10% de FBS) y se incubaron a 37°C en 5% de CO₂. La capa de células confluentes del estroma se

lavó y se añadieron 0,5 ml de medio RPMI 1640 (+ 1% de FBS) a los pocillos. El Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 o revNOX-A12 se añadió posteriormente a los pocillos hasta una concentración final de 100 nM y se incubó durante cuatro horas. Se añadieron $3,5 \times 10^5$ células RPMI8226 en medio RPMI 1640 (+ 1% de FBS) a la capa de células del estroma. Cuatro horas más tarde, se añadió 1 μ M de F-ara-A (Sigma Aldrich) a las células cuando era indicado. Después de 40 horas de incubación, las células se recogieron en tubos de 15 ml, en primer lugar se recogió el material sobrenadante y luego se tripsinizaron las células fijadas incluyendo las células MS-5. Las células recogidas se lavaron dos veces con PBS (+ 1% de BSA) y se resuspendieron en 2 ml de PBS (+ 1% de BSA). Se transfirieron 150 μ l de la suspensión celular a una placa en forma de U de 96 pocillos y después se incubaron con 50 μ l de reactivo ViaCount (Millipore) durante 15 minutos a temperatura ambiente. La viabilidad celular y el número de células se determinaron mediante citometría de flujo usando Guava EasyCyte 6HT/2L (Millipore).

Resultados

La viabilidad celular de las células RPMI-8226 cocultivadas con las células del estroma MS-5 estaba solo ligeramente afectada por el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12. F-ara-A 1 μ M no mostraba ningún efecto significativo sobre la viabilidad de las células RPMI-8226. Sin embargo, cuando NOX-A12 y F-ara-A se combinaban, se observó una disminución sinérgica de la viabilidad celular (Fig. 16). Por tanto, se mostró que el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 sensibiliza la línea celular de MM RPMI-8226 frente a un tratamiento del agente quimioterapéutico F-ara-A cuando se cocultiva con la línea de células de estroma de BM MS-5. La viabilidad de las células del estroma MS-5 no se ve afectada por F-ara-A ni por NOX-A12 (datos no mostrados). Estos resultados muestran una prueba de principio en el potencial de NOX-A12 para interrumpir los efectos protectores de SDF-1 secretado por las células del estroma de BM.

Ejemplo 9: Efecto del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, sobre la proliferación de las células de leucemia

El objetivo del experimento era mostrar si el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, tiene un impacto sobre la proliferación de las células de leucemia en cocultivo con células del estroma de médula ósea (abrev. BM). Las células del estroma MS-5 murinas que secretan SDF-1 se incubaron con Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 o el Spiegelmer no funcional, revNOX-A12. La línea de linfocitos T leucémicos Jurkat se añadió a la capa de células del estroma confluentes y se incubó durante 40 horas a 37°C y 5% de CO₂. La cantidad de células se cuantificó por citometría de flujo utilizando Guava EasyCyte y el reactivo ViaCount.

Método

La línea de células del estroma murinas MS-5 (ACC 441) fue adquirida en la DSMZ y se cultivó en MEM alfa GlutaMAX (Invitrogen) con 10% de FBS y penicilina-estreptomicina. Para los experimentos de cocultivo de proliferación, las células del estroma MS-5 se sembraron el día antes en placas de 24 pocillos (los ocho pocillos interiores) a una concentración de 8×10^4 / ml / pocillo en medio MEM alfa GlutaMAX (+ 10% de FBS) y se incubaron a 37°C en 5% de CO₂. La capa de células del estroma confluentes se lavó y se añadieron 0,5 ml de medio RPMI 1640 (+ 1% de FBS) a los pocillos. El Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, o el Spiegelmer revNOX-A12 se añadió posteriormente a los pocillos hasta una concentración final de 100 nM y se incubó durante cuatro horas. Se añadieron 2×10^5 células Jurkat (~fase de crecimiento logarítmico; se lavaron una vez) en medio RPMI 1640 (+ 1% de FBS) a la capa de células del estroma confluentes y se incubaron durante 48 horas a 37°C con 5% de CO₂. Después las células se recogieron en tubos de 15 ml, las células fijadas se tripsinizaron incluyendo las células MS-5. Las células recogidas se lavaron dos veces con PBS (+ 1% de BSA). Se transfirieron 150 μ l de esta suspensión celular a una placa en forma de U de 96 pocillos y después se incubaron con 50 μ l de reactivo ViaCount (Millipore) durante 15 minutos a temperatura ambiente. La viabilidad celular y el número de células se determinaron mediante citometría de flujo usando Guava EasyCyte 6HT/2L.

Resultados

Mientras que 1 nM del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 no mostraba ningún efecto sobre el número de células Jurkat después de 40 horas de cultivo, el número de células se redujo hasta el 20% cuando las células del estroma MS-5 se preincubaron con 10 o 100 nM de Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 (Fig. 17). Por lo tanto, el SDF-1 secretado por las células del estroma estimula aparentemente la proliferación de las células Jurkat. La inducción dependiente de SDF-1 de la proliferación se puede bloquear con el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, lo que conduce a la detección de una cantidad inferior de células leucémicas.

Ejemplo 10: Efecto del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, sobre las propiedades adhesivas de las células de leucemia

La interacción de las células leucémicas con proteínas de la matriz extracelular (abrev. ECM) tiene un papel crucial en la patogénesis de la leucemia. Por lo tanto, se sometió a ensayo el efecto del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, sobre la adhesión de las células de leucemia sobre la proteína fibronectina de la ECM. La estimulación de la línea de leucemia de linfocitos T Jurkat con SDF-1 condujo a una modulación dependiente de la dosis de la adhesión a fibronectina.

Métodos

Las células de leucemia de linfocitos T Jurkat (ACC 282) se adquirieron en la DSMZ y se conservaron en medio RPMI 1640 GlutaMAX (Invitrogen) complementado con 10% de FBS (Biochrom) y penicilina-estreptomicina. Para los experimentos de adhesión, placas de cultivo de 96 pocillos se incubaron con 10 µg/ml de fibronectina humana (R&D Systems) en PBS durante 2 horas a 37°C. Las placas se lavaron dos veces con 100 µl de PBS y posteriormente se bloquearon con PBS-BSA (0,1%) durante dos horas a 37°C. Los pocillos se lavaron con medio RPMI. Las células Jurkat de la fase de crecimiento logarítmico se lavaron con medio RPMI (+ 0,1% de BSA) y se incubaron con diversas concentraciones de SDF-1 humano (R&D Systems) y NOX-A12 durante 15 minutos a 37°C. NOX-A12 y SDF-1 se preincubaron durante 30 minutos. Se sembraron 1x 10⁵ células Jurkat estimuladas en placas de 96 pocillos recubiertas con fibronectina y se incubaron durante 30 minutos. A continuación, las placas se lavaron cinco veces con medio RPMI. Las células fijadas se cuantificaron mediante el uso del reactivo Cell Titer Glo (Promega). Para ello, se añadieron 50 µl de medio RPMI a cada pocillo, seguido de 50 µl de reactivo Cell Titer Glo. Las placas se mezclaron durante dos minutos, seguido de incubación a temperatura ambiente durante 10 minutos. El número de células se cuantificó mediante la señal de luminiscencia relativa.

Resultados

Concentraciones de bajas a medianas de SDF-1 (1 - 10 nM) disminuían la adhesión de las células Jurkat a la fibronectina, mientras que concentraciones más altas (30 - 300 nM) aumentaban las propiedades adhesivas de las células Jurkat (Fig. 18A). Se mostró que el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 revertía este efecto, el Spiegelmer de control revNOX-A12 no lo hacía (Fig. 18B). Por lo tanto, el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, podía tener un impacto sobre la interrupción de las interacciones de las células leucémicas con su entorno protector de ECM. Además, este ejemplo podría explicar el desprendimiento dependiente del Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12 y la movilización de las células hematopoyéticas desde el nicho de la médula ósea.

Ejemplo 11: Interrupción de la interacción de las células de mieloma múltiple con el entorno de la médula ósea *in vivo* para mejorar de este modo la sensibilidad de las células de mieloma múltiple frente a la terapia

El eje SDF-1/CXCR4 tiene un papel importante en la migración dirigida y el tráfico de las células de mieloma múltiple (abrev. MM) hacia la médula ósea (abrev. BM). Por lo tanto, la falta de adhesión de las células de MM del medio de BM circundante a través de la inhibición de SDF-1, aumenta la sensibilidad del MM a los agentes terapéuticos. Azab et al. publicaron un protocolo para someter a ensayo la potencia del inhibidor de CXCR4, AMD3100, para interrumpir la interacción de las células de MM con el entorno de BM *in vivo*, lo que afecta a la localización de las células de MM, lo que a su vez, potencia la sensibilidad de las células de MM a la quimioterapia. Se informó que el bloqueo del receptor de SDF-1, CXCR4, a través del antagonista específico de CXCR4 conducía a una interrupción de la interacción de las células de MM con el entorno de BM *in vivo*, a una mayor sensibilidad de las células de MM frente a la terapia y como resultado a una mayor reducción del tumor inducida por bortezomib (Azab et al. 2009). Basándose en este protocolo (Azab et al. 2009), el Spiegelmer que se une a SDF-1, NOX-A12, se somete a ensayo para estudiar su potencia para interrumpir la interacción de las células de MM con el entorno de BM *in vivo*, mejorando de este modo la sensibilidad de las células de MM frente a la terapia.

Para el modelo animal de MM, se emplean ratones con inmunodeficiencia combinada grave (SCID), para lo cual se inyectaron células Luc+/GFP+MM.1S (2 X 10⁶/ratón) en la vena de la cola de los ratones SCID. Después de 3 a 4 semanas, se detecta una progresión del tumor suficiente mediante la formación de imágenes por bioluminiscencia (para el protocolo, véase Azab et al. 2009). Los ratones se dividen aleatoriamente en 4 grupos: grupo 1, ratones de control (recibieron vehículo: 5% de glucosa); grupo 2, ratones tratados cada dos días con 20 mg/kg de inyección subcutánea de NOX-A12; grupo 3, ratones tratados con una inyección intraperitoneal de bortezomib de 0,5 mg/kg dos veces a la semana; grupo 4, ratones tratados con una inyección intraperitoneal de bortezomib de 0,5 mg/kg dos veces a la semana y cada dos días con una inyección subcutánea de 20 mg/kg de NOX-A12.

La localización de las células tumorales de MM en la médula ósea se determina *in vivo* con microscopía confocal, usando un anticuerpo anti-SDF marcado con fluorescencia (para el protocolo, véase Azab et al. 2009), en donde la administración de NOX-A12 conduce a una movilización de las células MM desde la médula ósea a la sangre (tal como se determina por citometría de flujo *ex vivo*; para el protocolo, véase Azab et al. 2009) y a una reducción del crecimiento del tumor cuando se administra junto con bortezomib (mediante una detección *in vivo* de la bioluminiscencia; para el protocolo, véase Mitsiades et al., 2003; Mitsiades et al., 2004). Los efectos más fuertes sobre el crecimiento tumoral de bortezomib más NOX-A12 en comparación con un tratamiento solo con bortezomib, apoyan los datos del Ejemplo 8 que muestran unos efectos positivos de NOX-12 sobre la quimiosensibilización de las células de MM.

Referencias

Los datos bibliográficos completos de los documentos citados en esta memoria son, si no se indica lo contrario, los siguientes.

Alsayed Y., Ngo H., et al. (2007) Mechanisms of regulation of CXCR4/SDF-1 (CXCL12)-dependent migration and homing in multiple myeloma. *Blood* 109(7): 2708-17

- Altschul S.F., Gish W., et al. (1990) Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 215(3):403-10.
- Altschul S.F., Madden T.L., et al. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-402.
- 5 Arya S.K., Ginsberg C.C., et al. (1999) In vitro phenotype of SDF1 gene mutant that delays the onset of human immunodeficiency virus disease in vivo. *J Hum Virol* 2(3): 133-8
- Auerbach R., Lewis R., et al. (2003) Angiogenesis assays: a critical overview. *Clin Chem.* 49(1):32-40. Review.
- Azab A.K., Runnels J.M., et al. (2009) CXCR4 inhibitor AMD3100 disrupts the interaction of multiple myeloma cells with the bone marrow microenvironment and enhances their sensitivity to therapy. *Blood.* 113(18):4341-51.
- 10 Batchelor T.T., Sorensen A.G., et al. (2007) AZD2171, a pan-VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor, normalizes tumor vasculature and alleviates edema in glioblastoma patients. *Cancer Cell.* 11(1):83-95.
- Balabanian K., Lagane B., et al. (2005) The chemokine SDF-1/CXCL12 binds to and signals through the orphan receptor RDC1 in T lymphocytes. *J Biol Chem* 280(42): 35760-35766
- Balabanian, K., Lagane B., et al. (2005) WHIM syndromes with different genetic anomalies are accounted for by impaired CXCR4 desensitization to CXCL12. *Blood* 105(6): 2449-57
- 15 Balkwill F. (2004) Cancer and the chemokine network. *Nat Rev Cancer* 4(7): 540-50
- Brooks H.L. Jr., Caballero S. Jr., et al. (2004) Vitreous levels of vascular endothelial growth factor and stromal-derived factor 1 in patients with diabetic retinopathy and cystoid macular edema before and after intraocular injection of triamcinolone. *Arch Ophthalmol* 122(12): 1801-7
- 20 Broxmeyer H.E., Orschell C.M., (2005) Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *J Exp Med.* 201(8):1307-18.
- Buckley C.D., Amft N., et al. (2000) Persistent induction of the chemokine receptor CXCR4 by TGF-beta 1 on synovial T cells contributes to their accumulation within the rheumatoid synovium. *J Immunol* 165(6): 3423-9
- Burger J.A., Bürkle A, et al. (2007) The CXCR4 chemokine receptor in acute and chronic leukaemia: a marrow homing receptor and potential therapeutic target. *Br J Haematol.* 137(4):288-96.
- 25 Burger J.A., Ghia P., et al. (2009) The microenvironment in mature B-cell malignancies: a target for new treatment strategies. *Blood.* 114(16):3367-75. Review.
- Burger J.A., Kipps T.J. et al. (2002) Chemokine receptors and stromal cells in the homing and homeostasis of chronic lymphocytic leukemia B cells. *Leuk Lymphoma.* 43(3):461-6.
- 30 Burger J.A. and Peled A. (2009) CXCR4 antagonists: targeting the microenvironment in leukemia and other cancers. *Leukemia* 23(1): 43-52
- Burger J.A., Tsukada N., et al. (2000) Blood-derived nurse-like cells protect chronic lymphocytic leukemia B cells from spontaneous apoptosis through stromal cell-derived factor-1. *Blood.* 96(8):2655-63.
- Bums J.M., Summers B.C., et al. (2006) A novel chemokine receptor for SDF-1 and I-TAC involved in cell survival, cell adhesion, and tumor development. *J Exp Med* 203(9): 2201-2213
- 35 Butler J.M., Guthrie S.M., et al. (2005) SDF-1 is both necessary and sufficient to promote proliferative retinopathy. *J Clin Invest* 115(1): 86-93
- Cabioglu, N., Sahin A., et al. (2005) Chemokine receptor CXCR4 expression in breast cancer as a potential predictive marker of isolated tumor cells in bone marrow. *Clin Exp Metastasis* 22(1): 39-46
- 40 Ceradini D.J., Kulkarni A.R., et al. (2004) Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med.* 10(8):858-64.
- Corcione A., Ottonello L., et al. (2000) Stromal cell-derived factor-1 as a chemoattractant for follicular center lymphoma B cells. *J Natl Cancer Inst* 92(8): 628-35
- Damha M.J., Ogilvie K.K., et al. (1993) Oligoribonucleotide synthesis. The silyl-phosphoramidite method. *Methods Mol Biol* 20:81-114.
- 45 Damiano J.S., Cress A.E., et al. (1999) Cell adhesion mediated drug resistance (CAM-DR): role of integrins and resistance to apoptosis in human myeloma cell lines. *Blood.* 93(5):1658-67.

- Devine S.M., Flomenberg N., et al. (2004) Rapid mobilization of CD34+ cells following administration of the CXCR4 antagonist AMD3100 to patients with multiple myeloma and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 22(6):1095-102.
- 5 Dillmann F., Veldwijk M.R., et al. (2009) Plerixafor inhibits chemotaxis toward SDF-1 and CXCR4-mediated stroma contact in a dose-dependent manner resulting in increased susceptibility of BCR-ABL+ cell to Imatinib and Nilotinib. *Leuk Lymphoma* 50 (10)16.
- Ehtesham M., Stevenson C.B., et al. (2008) Preferential expression of chemokine receptor CXCR4 by highly malignant human gliomas and its association with poor patient survival. *Neurosurgery* 63(4):E820
- Engl T., Relja B., et al. (2006) CXCR4 chemokine receptor mediates prostate tumor cell adhesion through alpha5 and beta3 integrins. *Neoplasia* 8(4):290-301.
- 10 Fedyk E.R., Jones D., et al. (2001) Expression of stromal-derived factor-1 is decreased by IL-1 and TNF and in dermal wound healing. *J Immunol* 166(9):5749-54.
- Geminder H., Sagi-Assif O., et al. (2001) A possible role for CXCR4 and its ligand, the CXC chemokine stromal cell-derived factor-1, in the development of bone marrow metastases in neuroblastoma. *J Immunol* 167(8): 4747-57
- 15 Grassi F., Cristino S., et al. (2004) CXCL12 chemokine up-regulates bone resorption and MMP-9 release by human osteoclasts: CXCL12 levels are increased in synovial and bone tissue of rheumatoid arthritis patients. *J Cell Physiol* 199(2): 244-51
- Grunewald M., Avraham I., et al. (2006) VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. *Cell* 124(1): 175-89
- 20 Gulino, A.V., Moratto D., et al. (2004) Altered leukocyte response to CXCL12 in patients with warts hypogammaglobulinemia, infections, myelokathexis (WHIM) syndrome. *Blood* 104(2): 444-52
- Holm N.T., Abreo F., et al. (2009) Elevated chemokine receptor CXCR4 expression in primary tumors following neoadjuvant chemotherapy predicts poor outcomes for patients with locally advanced breast cancer (LABC). *Breast Cancer Res Treat* 113(2):293-9. Epub 2008 Feb 13
- 25 Hwang J.H., Chung H.K., et al. (2003) CXC chemokine receptor 4 expression and function in human anaplastic thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 88(1): 408-16
- Jin L., Tabe Y., et al. (2008) CXCR4 up-regulation by imatinib induces chronic myelogenous leukemia (CML) cell migration to bone marrow stroma and promotes survival of quiescent CML cells. *Mol Cancer Ther* 7(1): 48-58
- Kanbe K., Takagishi K., et al. (2002) Stimulation of matrix metalloprotease 3 release from human chondrocytes by the interaction of stromal cell-derived factor 1 and CXC chemokine receptor 4. *Arthritis Rheum* 46(1): 130-7
- 30 Kawai T., Choi U., et al. (2005) Enhanced function with decreased internalization of carboxy-terminus truncated CXCR4 responsible for WHIM syndrome. *Exp Hematol* 33(4): 460-8
- Kioi M., Vogel H., et al. (2010) Inhibition of vasculogenesis, but not angiogenesis, prevents the recurrence of glioblastoma after irradiation in mice. *J Clin Invest* 120(3): 694-705
- 35 Klussmann S. (2006). *The Aptamer Handbook - Functional Oligonucleotides and their Applications*. Edited by S. Klussmann. WILEY-VCH, Weinheim, Germany, ISBN 3-527-31059-2
- Koshiba T., Hosotani R., et al. (2000) Expression of stromal cell-derived factor 1 and CXCR4 ligand receptor system in pancreatic cancer: a possible role for tumor progression. *Clin Cancer Res* 6(9): 3530-5
- Kozin S.V., Kamoun W.S., et al. (2010) Recruitment of myeloid but not endothelial precursor cells facilitates tumor regrowth after local irradiation. *Cancer Res* 70(14): 5679-85
- 40 Krumbholz M., Theil D., et al. (2006) Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment. *Brain* 129: 200-211
- Kryczek I., Lange A., et al. (2005) CXCL12 and vascular endothelial growth factor synergistically induce neoangiogenesis in human ovarian cancers. *Cancer Res* 65(2): 465-72
- 45 Kurtova A.V., Balakrishnan K., et al. (2009) Diverse marrow stromal cells protect CLL cells from spontaneous and drug-induced apoptosis: development of a reliable and reproducible system to assess stromal cell adhesion-mediated drug resistance. *Blood* 114(20):4441-50.
- Kusser W. (2000) Chemically modified nucleic acid aptamers for in vitro selections: evolving evolution. *J Biotechnol* 74(1): 27-38

- Lagneaux L., Delforge A., et al. (1998) Chronic lymphocytic leukemic B cells but not normal B cells are rescued from apoptosis by contact with normal bone marrow stromal cells. *Blood*. 91(7):2387-96.
- Li J.K., Yu L., et al. (2008) Inhibition of CXCR4 activity with AMD3100 decreases invasion of human colorectal cancer cells in vitro. *World J Gastroenterol* 14(15): 2308-2313
- 5 Maksym R.B., Tarnowski M., et al. (2009) The role of stromal-derived factor-1--CXCR7 axis in development and cancer. *Eur J Pharmacol*. 625(1-3):31-40. Review.
- Marechal V., Arenzana-Seisdedos F., et al. (1999) Opposite effects of SDF-1 on human immunodeficiency virus type 1 replication. *J Virol* 73(5): 3608-15
- 10 McGinnis S., Madden T.L. et al. (2004) BLAST: at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools. *Nucleic Acids Res*. 32(Web Server issue):W20-5.
- Meads M.B., Hazlehurst L.A., et al. (2008) The bone marrow microenvironment as a tumor sanctuary and contributor to drug resistance. *Clin Cancer Res*. 14(9):2519-26. Review.
- Meleth A.D., Agron E., et al. (2005) Serum inflammatory markers in diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46(11): 4295-301
- 15 Miao, Z., Luker K.E., et al. (2007) CXCR7 (RDC1) promotes breast and lung tumor growth in vivo and is expressed on tumor-associated vasculature. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(40): 15735-40
- Mitsiades C.S., Mitsiades N.S., et al. (2003) Fluorescence imaging of multiple myeloma cells in a clinically relevant SCID/NOD in vivo model: biologic and clinical implications. *Cancer Res*. 63(20):6689-96.
- Mitsiades C.S., Mitsiades N., et al. (2004) Focus on multiple myeloma. *Cancer Cell*. 6(5):439-44. Review.
- 20 Mizell J., Smith M., et al. (2009) Overexpression of CXCR4 in primary tumor of patients with HER-2 negative breast cancer was predictive of a poor disease-free survival: a validation study. *Ann Surg Oncol*. 16(10):2711-6.
- Muller, A., Homey B., et al. (2001) Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 410(6824): 50-6
- Murdoch, C. (2000) CXCR4: chemokine receptor extraordinaire. *Immunol Rev* 177: 175-84
- 25 Needleman and Wunsch (1970) A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *J Mol Biol*. 48(3):443-53.
- Nervi B., Ramirez P., et al. (2009) Chemosensitization of acute myeloid leukemia (AML) following mobilization by the CXCR4 antagonist AMD3100. *Blood*. 113(24):6206-14. Epub 2008 Dec 2
- Pearson and Lipman (1988) Improved tools for biological sequence comparison. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 2444
- 30 Redjal N., Chan J.A., et al. (2006) CXCR4 inhibition synergizes with cytotoxic chemotherapy in gliomas. *Clin Cancer Res*. 12(22):6765-71.
- Salcedo R., Wasserman K., et al. (1999) Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor induce expression of CXCR4 on human endothelial cells: In vivo neovascularization induced by stromal-derived factor-1alpha. *Am J Pathol* 154(4): 1125-1135
- 35 Salcedo, R. and Oppenheim J.J. (2003) Role of chemokines in angiogenesis: CXCL12/SDF-1 and CXCR4 interaction, a key regulator of endothelial cell responses. *Microcirculation* 10(3-4): 359-70
- Salvucci O., Yao L., et al. (2002) Regulation of endothelial cell branching morphogenesis by endogenous chemokine stromal-derived factor-1. *Blood* 99(8): 2703-11
- 40 Saur D., Seidler B., et al. (2005) CXCR4 expression increases liver and lung metastasis in a mouse model of pancreatic cancer. *Gastroenterology*. 129(4):1237-50.
- Schimanski C.C., Galle P.R., et al. (2008) Chemokine receptor CXCR4-prognostic factor for gastrointestinal tumors. *World J Gastroenterol*. 14(30):4721-4.
- Scotton C.J., Wilson J.L., et al. (2002) Multiple actions of the chemokine CXCL12 on epithelial tumor cells in human ovarian cancer. *Cancer Res*. 62(20):5930-8.
- 45 Sengupta N., Caballero S., et al. (2005) Preventing stem cell incorporation into choroidal neovascularization by targeting homing and attachment factors. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 46(1):343-8.

- Shaked Y., Henke E., et al. (2008) Rapid chemotherapy-induced acute endothelial progenitor cell mobilization: implications for antiangiogenic drugs as chemosensitizing agents. *Cancer Cell*. 14(3):263-73.
- Shirozu M., Nakano T., et al. (1995) Structure and chromosomal localization of the human stromal cell-derived factor 1 (SDF1) gene. *Genomics* 28(3): 495-500
- 5 Smith and Waterman (1981), *Adv. Appl. Math.* 2: 482
- Soriano A., Martinez C., et al. (2002) Plasma stromal cell-derived factor (SDF)-1 levels, SDF1-3'A genotype, and expression of CXCR4 on T lymphocytes: their impact on resistance to human immunodeficiency virus type 1 infection and its progression. *J Infect Dis* 186(7): 922-31
- 10 Su L., Zhang J, et al. (2005) Differential expression of CXCR4 es associated with the metastatic potential of human non-small cell lung cancer cells. *Clin Cancer Res*. 11(23):8273-80.
- Tseng D., Lartey F. et al. (2010) J.K., Yu L., et al. (2008) (MS108) Inhibition of SDF-1/CXCR7 radiosensitizes ENU induced glioblastomas in the rat. 56th Annual Meeting Radiation Research Society, September 25-29, 2010, Grand Wailea Resort Hotel and Spa, Maui, Hawaii, USA
- 15 Venkatesan N., Kim S.J., et al. (2003) Novel phosphoramidite building blocks in synthesis and applications toward modified oligonucleotides. *Curr Med Chem* 10(19): 1973-91
- Wang J., Shiozawa Y., et al. (2008) The role of CXCR7/RDC1 as a chemokine receptor for CXCL12/SDF-1 in prostate cancer. *J Biol Chem* 283(7): 4283-4294 Epub 2007 Dec 5
- Wang J., Guan E., et al. (2001) Role of tyrosine phosphorylation in ligand-independent sequestration of CXCR4 in human primary monocytes-macrophages. *J Biol Chem* 276(52): 49236-43
- 20 Wang N., Wu Q.L., et al. (2005) Expression of chemokine receptor CXCR4 in nasopharyngeal carcinoma: pattern of expression and correlation with clinical outcome. *J Transl Med* 3: 26.
- Xu L., Duda D.G., et al. (2009) Direct evidence that bevacizumab, an anti-VEGF antibody, up-regulates SDF1alpha, CXCR4, CXCL6, and neuropilin 1 in tumors from patients with rectal cancer. *Cancer Res*. 69(20):7905-10.
- 25 Yamaguchi J., Kusano K.F., et al. (2003) Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation* 107(9): 1322-8
- Yang J., Zhang B. et al. (2008) Breast cancer metastasis suppressor 1 inhibits SDF-1alpha-induced migration of non-small cell lung cancer by decreasing CXCR4 expression. *Cancer Lett* 269(1):46-56
- 30 Zagzag D., Esencay M., et al. (2008) Hypoxia- and vascular endothelial growth factor-induced stromal cell-derived factor-1alpha/CXCR4 expression in glioblastomas: one plausible explanation of Scherer's structures. *Am J Pathol* 173(2): 545-560
- Zeelenberg I.S., Ruuls-Van Stalle L., et al. (2003) The chemokine receptor CXCR4 es required for outgrowth of colon carcinoma micrometastases. *Cancer Res*. 63(13):3833-9.
- Zheng K., Li H.Y., et al. (2010) Chemokine receptor CXCR7 regulates the invasion, angiogenesis and tumor growth of human hepatocellular carcinoma cells. *J Exp Clin Cancer Res*. 29:31.
- 35 Zhou Y., Larsen P.H., et al. (2002) CXCR4 es a major chemokine receptor on glioma cells and mediates their survival. *J Biol Chem* 277(51): 49481-7
- Zhu A.X., Sahani D.V., et al. (2009) Efficacy, safety, and potential biomarkers of sunitinib monotherapy in advanced hepatocellular carcinoma: a phase II study. *J Clin Oncol* 27(18): 3027-35

Lista de secuencias

- 40 <110> NOXXON Pharma AG
- <120> Ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 y su uso en el tratamiento del cáncer
- <130> N 10087 PCT
- <150> EP 10 009 397.0
- <151> 09-09-2010
- 45 <160> 225
- <170> PatentIn versión 3.3

ES 2 678 497 T3

<210> 1
 <211> 68
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-péptido

<400> 1
 Lys Pro Val Ser Leu Ser Tyr Arg Cys Pro Cys Arg Phe Phe Glu Ser
 1 5 10 15

His Val Ala Arg Ala Asn Val Lys His Leu Lys Ile Leu Asn Thr Pro
 20 25 30

Asn Cys Ala Leu Gln Ile Val Ala Arg Leu Lys Asn Asn Asn Arg Gln
 35 40 45

Val Cys Ile Asp Pro Lys Leu Lys Trp Ile Gln Glu Tyr Leu Glu Lys
 50 55 60

Ala Leu Asn Lys
 65

10 <210> 2
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-péptido

<400> 2
 Lys Pro Val Ser Leu Ser Tyr Arg Cys Pro Cys Arg Phe Phe Glu Ser
 1 5 10 15

His Val Ala Arg Ala Asn Val Lys His Leu Lys Ile Leu Asn Thr Pro
 20 25 30

Asn Cys Ala Leu Gln Ile Val Ala Arg Leu Lys Asn Asn Asn Arg Gln
 35 40 45

Val Cys Ile Asp Pro Lys Leu Lys Trp Ile Gln Glu Tyr Leu Glu Lys
 50 55 60

20 Ala Leu Asn Lys Arg Phe Lys Met
 65 70

<210> 3
 <211> 68
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

25 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-péptido

ES 2 678 497 T3

<400> 3

Lys Pro Val Ser Leu Ser Tyr Arg Cys Pro Cys Arg Phe Phe Glu Ser
1 5 10 15

His Ile Ala Arg Ala Asn Val Lys His Leu Lys Ile Leu Asn Thr Pro
20 25 30

Asn Cys Ala Leu Gln Ile Val Ala Arg Leu Lys Asn Asn Asn Arg Gln
35 40 45

Val Cys Ile Asp Pro Lys Leu Lys Trp Ile Gln Glu Tyr Leu Glu Lys
50 55 60

Ala Leu Asn Lys
65

<210> 4

<211> 71

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> característica_misc

<223> D-péptido

10 <220>

<221> característica_misc

<223> biotinilado en el extremo C-terminal

<400> 4

Lys Pro Val Ser Leu Ser Tyr Arg Cys Pro Cys Arg Phe Phe Glu Ser
1 5 10 15

His Val Ala Arg Ala Asn Val Lys His Leu Lys Ile Leu Asn Thr Pro
20 25 30

Asn Cys Ala Leu Gln Ile Val Ala Arg Leu Lys Asn Asn Asn Arg Gln
35 40 45

Val Cys Ile Asp Pro Lys Leu Lys Trp Ile Gln Glu Tyr Leu Glu Lys
50 55 60

Ala Leu Asn Lys Arg Phe Lys
65 70

15 <210> 5

<211> 47

<212> ADN

<213> artificial

<220>

20 <223> sintético

<220>

<221> característica_misc

<223> L-ARN

<400> 5

25 agcguggugu gaucuagaug uaguggcuga uccuagucag guacgcu 47

<210> 6
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN
 10 <400> 6
 agcguggugu gaucuagaug uauuggcuga uccuagucag guacgcu 47

 <210> 7
 <211> 47
 <212> ADN
 15 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 20 <223> L-ARN

 <400> 7
 agcguggugu gaucuagaug uauuggcuga uccuagucag gugcgcu 47

 <210> 8
 <211> 45
 <212> ADN
 25 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 30 <223> L-ARN

 <400> 8
 gcgaggugug aucuagaugu aguggcugau ccuagucagg ugcgc 45

 <210> 9
 <211> 45
 <212> ADN
 35 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 40 <223> L-ARN

 <400> 9
 gcguggugug aucuagaugu aguggcugau ccuagucagg ugcgc 45

 <210> 10
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 50 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 10
 5 gcauggugug aucuagaugu aguggcugau ccuagucagg ugccc 45

<210> 11
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial

10 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 11
 15 gcguggugug aucuagaugu aauggcugau ccuagucagg gacgc 45

<210> 12
 <211> 45
 <212> ADN
 20 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

25 <400> 12
 gcguggugug aucuagaugu agaggcugau ccuagucagg uacgc 45

<210> 13
 <211> 45
 <212> ADN
 30 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

35 <400> 13
 gcguggugug aucuagaugu aaaggcugau ccuagucagg uacgc 45

<210> 14
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 14
 45 gcguggugug aucuagaugu aguggcuguu ccuagucagg uaugc 45

<210> 15
 <211> 45

50

<212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 5 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 15
 gcguggugug aucuagaugu aguggcugau ccuaguuagg uacgc 45

 10 <210> 16
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 15 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 16
 20 gcguggugug aucuagaugu aguggcugau ccuagucagg uacgc 45

 <210> 17
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> artificial

 25 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 17
 30 cgugguguga ucuagaugua guggcugauc cuagucaggu acg 43

 <210> 18
 <211> 41
 <212> ADN
 35 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 40 <223> L-ARN

 <400> 18
 guggugugau cuagauguag uggcugaucc uagucaggua c 41

 <210> 19
 <211> 39
 45 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 50 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 19
 uggugugauc uagauguagu ggcugauccu agucaggua 39

<210> 20
 <211> 37
 5 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 10 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 20
 ggugugaucu agauguagug gcugauccua gucaggu 37

<210> 21
 <211> 35
 15 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 20 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 21
 gugugaucua gauguagugg cugauccuag ucagg 35

<210> 22
 <211> 45
 25 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 30 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 22
 35 gcguggugug aucuagaugu auuggcugau ccuagucagg uacgc 45

<210> 23
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 40 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 23
 45 gcgcgugug aucuagaugu auuggcugau ccuagucagg cgcgc 45

<210> 24
 <211> 43
 50 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 5 <223> L-ARN

<400> 24
 gcgcguguga ucuagaugua uggcugauc cuagucaggg cgc 43

<210> 25
 <211> 43
 10 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 15 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 25
 gggcguguga ucuagaugua uggcugauc cuagucaggg ccc 43

<210> 26
 <211> 43
 20 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

25 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 26
 ggccguguga ucuagaugua uggcugauc cuagucaggg gcc 43

30 <210> 27
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> artificial

35 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

40 <400> 27
 gcccguguga ucuagaugua uggcugauc cuagucaggg ggc 43

<210> 28
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial

45 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

50 <220>
 <221> característica_misc

<222> (1)..(1)
 <223> Resto 40 kDa-PEG fijado el extremo 5'

<400> 28
 gcguggugug aucuagaugu auuggcugau ccuagucagg uacgc 45

5 <210> 29
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 10 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 29
 15 agcguggugu gaucuagaug uaguggcuga uccuagucag guacgcu 47

<210> 30
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 20 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 30
 25 agcguggugu gaucuagaug uauuggcuga uccuagucag guacgcu 47

<210> 31
 <211> 47
 <212> ADN
 30 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 35 <223> D-ARN

<400> 31
 agcguggugu gaucuagaug uauuggcuga uccuagucag gugcgcu 47

<210> 32
 <211> 45
 40 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 32
 gcgaggugug aucuagaugu aguggcugau ccuagucagg ugcgc 45

<210> 33
 50 <211> 45

<212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 5 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 33
 gcguggugug aucuagaugu aguggcugau ccuagucagg ugcg 45

 10 <210> 34
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 15 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 20 <400> 34
 gcauggugug aucuagaugu aguggcugau ccuagucagg ugccc 45

 <210> 35
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial

 25 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 30 <400> 35
 gcguggugug aucuagaugu aauggcugau ccuagucagg gacgc 45

 <210> 36
 <211> 45
 <212> ADN
 35 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 40 <223> D-ARN

 <400> 36
 gcguggugug aucuagaugu agaggcugau ccuagucagg uacgc 45

 <210> 37
 <211> 45
 45 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 50 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 37
 gcguggugug aucuagaugu aaaggcugau ccuagucagg uacgc 45
 <210> 38
 <211> 45
 5 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> sintético
 <220>
 10 <221> característica_misc
 <223> D-ARN
 <400> 38
 gcguggugug aucuagaugu aguggcuguu ccuagucagg uaugc 45
 <210> 39
 15 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> sintético
 20 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN
 <400> 39
 gcguggugug aucuagaugu aguggcugau ccuaguuagg uacgc 45
 25 <210> 40
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 30 <223> sintético
 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN
 <400> 40
 35 gcguggugug aucuagaugu aguggcugau ccuagucagg uacgc 45
 <210> 41
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> artificial
 40 <220>
 <223> sintético
 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN
 45 <400> 41
 cgugguguga ucuagaugua guggcugauc cuagucaggu acg 43
 <210> 42
 <211> 41
 <212> ADN
 50 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 5 <223> D-ARN

<400> 42
 guggugugau cuagauguag uggcugaucc uagucaggua c 41

<210> 43
 <211> 39
 10 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 15 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 43
 uggugugauc uagauguagu ggcugauccu agucaggua 39

<210> 44
 <211> 37
 20 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

25 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 44
 ggugugaucu agauguagug gcugauccua gucaggu 37

30 <210> 45
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 35 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 45
 40 gugugaucua gauguagugg cugauccuag ucagg 35

<210> 46
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial

45 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

50 <400> 46
 gcguggugug aucuagaugu auuggcugau ccuagucagg uacgc 45

<210> 47
 <211> 45
 <212> ADN
 <213> artificial
 5 <220>
 <223> sintético
 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN
 10 <400> 47
 gcgcggugug aucuagaugu auuggcugau ccuagucagg cgcg 45
 <210> 48
 <211> 43
 <212> ADN
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> sintético
 <220>
 <221> característica_misc
 20 <223> D-ARN
 <400> 48
 gcgcguguga ucuagaugua uuggcugauc cuagucaggg cg 43
 <210> 49
 <211> 43
 25 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> sintético
 <220>
 <221> característica_misc
 30 <223> D-ARN
 <400> 49
 gggcguguga ucuagaugua uuggcugauc cuagucaggg ccc 43
 <210> 50
 35 <211> 43
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 <223> sintético
 40 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN
 <900> 50
 ggccguguga ucuagaugua uuggcugauc cuagucaggg gcc 43
 45 <210> 51
 <211> 43
 <212> ADN
 <213> artificial
 <220>
 50 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 51
 5 gcccguguga ucuagaugua uggcugauc cuagucaggg ggc 43

 <210> 52
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> artificial

 10 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 15 <400> 52
 gugugaucua gauguadwgg cugwuccuag uyagg 35

 <210> 53
 <211> 35
 <212> ADN
 20 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 25 <223> L-ARN

 <400> 53
 gugugaucua gauguadugg cugauccuag ucagg 35

 <210> 54
 <211> 27
 30 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 35 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 54
 aaaguaacac guaaaaugaa agguaac 27

 <210> 55
 40 <211> 26
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 45 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 55
 aaagcaacau gucaaugaaa gguagc 26

 50 <210> 56
 <211> 18

<212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 5 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 56
 gguuagggcu aaagucgg 18

 10 <210> 57
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 15 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 57
 20 gguuagggcu agaagucgg 19

 <210> 58
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial

 25 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 58
 30 gguuagggcu cgaagucgg 19

 <210> 59
 <211> 19
 <212> ADN
 35 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 40 <223> L-ARN

 <400> 59
 gguuagggcu ugaagucgg 19

 <210> 60
 <211> 38
 45 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 50 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 60
 gcugugaaaag caacauguca augaaaggua gccgcagc 38

5 <210> 61
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

10 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<900> 61
 gcugugaaaag uaacauguca augaaaggua accacagc 38

15 <210> 62
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

20 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 62
 gcugugaaaag uaacacguca augaaaggua accgcagc 38

25 <210> 63
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

30 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

35 <400> 63
 gcugugaaaag uaacacguca augaaaggua accacagc 38

<210> 64
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

40 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

45 <400> 64
 gcuguaaaaag uaacauguca augaaaggua acuacagc 38

<210> 65
 <211> 38
 <212> ADN
 50 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 5 <223> L-ARN

<400> 65
 gcuguaaaag uaacaaguca augaaaggua acuacagc 38

<210> 66
 <211> 38
 10 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 15 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 66
 gcugugaaag uaacaaguca augaaaggua accacagc 38

<210> 67
 <211> 38
 20 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

25 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 67
 gcagugaaag uaacauguca augaaaggua accacagc 38

30 <210> 68
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 35 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 68
 40 gcugugaaag uaacauguca augaaaggua accacugc 38

<210> 69
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

45 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

50 <400> 69
 gcuaugaaag uaacauguca augaaaggua accauagc 38

<210> 70
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

5 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

10 <400> 70
 gcugcgaaag cgacauguca augaaaggua gccgcagc 38

<210> 71
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

15 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

20 <400> 71
 gcugugaaag caacauguca augaaaggua gccacagc 38

<210> 72
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

25 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

30 <400> 72
 gcugugaaag uaacauguca augaaaggua gccgcagc 38

<210> 73
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial

35 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

40 <400> 73
 agcgugaaag uaacacguua aaugaaaggu aaccacgcu 39

<210> 74
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> artificial

45 <220>
 <223> sintético

50

- <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN
- 5 <220>
 <221> característica_misc
 <222> (16)..(16)
 <223> a o ausente
- <400> 74
 aaagyraah gumaaaugaa agguarc 27
- 10 <210> 75
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> artificial
- 15 <220>
 <223> sintético
- <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN
- 20 <400> 75
 aaagyraah gumaaugaaa gguarc 26
- <210> 76
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> artificial
- 25 <220>
 <223> sintético
- <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN
- 30 <400> 76
 aaagyraah gumaaaugaa agguarc 27
- <210> 77
 <211> 26
 <212> ADN
 35 <213> artificial
- <220>
 <223> sintético
- <220>
 <221> característica_misc
 40 <223> L-ARN
- <400> 77
 aaagyaacah gucaaugaaa gguarc 26
- <210> 78
 <211> 36
 45 <212> ADN
 <213> artificial
- <220>
 <223> sintético
- <220>
 50 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 78
 cugugaaagc aacaugucaa ugaaagguag cgcag 36

5 <210> 79
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

10 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 79
 ugugaaagca acaugucaau gaaagguagc cgca 34

15 <210> 80
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

20 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 80
 gugaaagcaa caugucaaug aaagguagcc gc 32

25 <210> 81
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> artificial

30 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

35 <400> 81
 ugaagcaac augucaauga aagguagccg 30

<210> 82
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> artificial

40 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

45 <400> 82
 gaaagcaaca ugucaaugaa agguagcc 28

<210> 83
 <211> 26
 <212> ADN
 50 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 5 <223> L-ARN

<400> 83
 aaagcaacau gucaaugaaa gguagc 26

<210> 84
 <211> 36
 10 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 15 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 84
 gcgugaaagc aacaugucua ugaaagguag ccgcg 36

<210> 85
 <211> 36
 20 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

25 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 85
 gcgcgaaagc aacaugucua ugaaagguag ccgcg 36

30 <210> 86
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 35 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 86
 40 gcggaaagca acaugucaau gaaagguagc ccgc 34

<210> 87
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

45 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

50 <400> 87
 cgugaaagca acaugucaau gaaagguagc cgcg 34

<210> 88
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

5 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

10 <400> 88
 gcgcaaagca acaugucaau gaaagguagc gugc 34

<210> 89
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

15 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

20 <400> 89
 gugcaaagca acaugucaau gaaagguagc gcgc 34

<210> 90
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

25 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

30 <400> 90
 cgcgaaagca acaugucaau gaaagguagc cgug 34

<210> 91
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

35 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

40 <400> 91
 gggcaaagca acaugucaau gaaagguagc gccc 34

<210> 92
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

45 <220>
 <223> sintético

50

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 92
 5 ggccaaagca acaugucaau gaaagguagc ggcc 34

<210> 93
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

10 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

15 <400> 93
 gcccaaagca acaugucaau gaaagguagc gggc 34

<210> 94
 <211> 34
 <212> ADN
 20 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 25 <223> L-ARN

<400> 94
 ccccaaagca acaugucaau gaaagguagc gggg 34

<210> 95
 <211> 39
 30 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 35 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 95
 gugcugcggg gguuagggcu agaagucggc cugcagcac 39

40 <210> 96
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

45 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 96
 agcguggcga gguuagggcu agaagucggu cgacacgcu 39

50 <210> 97
 <211> 39

<212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 5 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 97
 guuuugcgga gguuagggcu agaagucggu cagcagcac 39

 10 <210> 98
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 15 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 98
 20 cgugcggccu aagagguuag ggcuuaaagu cggucuuugg ccaacacg 48

 <210> 99
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> artificial

 25 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 99
 30 cgugcgcuuug agauaggggu uagggcuuaa agucggcuga uucucacg 48

 <210> 100
 <211> 48
 <212> ADN
 35 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 40 <223> L-ARN

 <400> 100
 cgugauuggu gagggguuag ggcuugaagu cggccuuguc cagucacg 48

 <210> 101
 <211> 39
 45 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 50 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 101
 agcgugaagg gguuagggcu cgaagucggc ugacacgcu 39

 <210> 102
 <211> 39
 5 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 10 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 102
 gugcugcggg gguuagggcu cgaagucggc cgcagcac 39

 <210> 103
 15 <211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 20 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 103
 uguuucccg gguuagggcu ugaagucggc cgcagcac 39

 <210> 104
 25 <211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 30 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 104
 35 uguugcagg gguuagggcu ugaagucggc cgcagcac 39

 <210> 105
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 40 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 105
 45 gugcugcggg gguuagggcu caaagucggc cgcagcac 39

 <210> 106
 <211> 38
 <212> ADN
 50 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 5 <223> L-ARN

<400> 106
 gugcugccgg gguuagggu aaagucggcc gacagcac 38

<210> 107
 <211> 39
 10 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 15 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 107
 gugcuguggg ggucagggcu agaagucggc cugcagcac 39

<210> 108
 <211> 19
 20 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

25 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<220>
 <221> característica_misc
 30 <222> (13)..(13)
 <223> A o ausente

<400> 108
 gguyagggu hraagucgg 19

<210> 109
 35 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

40 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 109
 gguyagggu hraagucgg 19

45 <210> 110
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> artificial

50 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

5 <400> 110
 gguyagggcu hragucgg 18
 <210> 111
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> artificial

10 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

15 <400> 111
 gguuagggcu hgaagucgg 19
 <210> 112
 <211> 38
 <212> ADN
 20 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

25 <400> 112
 ugagauaggg guuagggcuu aaagucggcu gauucua 38
 <210> 113
 <211> 36
 30 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

35 <400> 113
 gagauagggg uuagggcuua aagucggcug auucuc 36
 <210> 114
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

40 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

45 <400> 114
 gggguuaggg cuuaagucg gcugauucu 29

50 <210> 115
 <211> 37

<212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 5 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 115
 gcguggcgag guuagggcua gaagucgguc gacacgc 37

 10 <210> 116
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 15 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 116
 20 cguggcgagg uuagggcuag aagucggucg acacg 35

 <210> 117
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> artificial

 25 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 117
 30 cgggcgaggu uagggcuaga agucggucga ccg 33

 <210> 118
 <211> 33
 <212> ADN
 35 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 40 <223> L-ARN

 <400> 118
 cgggcgaggu uagggcuaga agucggucgc ccg 33

 <210> 119
 <211> 31
 45 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 50 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 119
 cggcgagguu agggcuagaa gucggucgcc g 31

5 <210> 120
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

10 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 120
 cgggagguua gggcuagaag ucggucccg 29

15 <210> 121
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

20 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 121
 gggagguuag ggcuaagaagu cgguccc 27

25 <210> 122
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> artificial

30 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

35 <400> 122
 ccgcgguuag ggcuaagaagu cggcgcg 27

<210> 123
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> artificial

40 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

45 <400> 123
 cccggguuag ggcuaagaagu cggcggg 27

<210> 124
 <211> 27
 <212> ADN
 50 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

5 <400> 124
 gccggguuag gccuagaagu cggcgcc 27

<210> 125
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

10 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

15 <400> 125
 cccgcgguaa gggcuagaag ucggcggg 29

<210> 126
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

20 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

25 <400> 126
 gccgcgguaa gggcuagaag ucggcgggc 29

<210> 127
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

30 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

35 <400> 127
 ccccgguua gggcuagaag ucggcgggg 29

<210> 128
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

40 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

45 <400> 128
 cggcgguua gggcuagaag ucggcgccg 29

<210> 129
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

5 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

10 <400> 129
 gggcggguua gggcuagaag ucggcgccc 29

<210> 130
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> artificial

15 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

20 <400> 130
 ucugcgggg guuagggcua gaagucggcc ugcagca 37

<210> 131
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> artificial

25 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

30 <400> 131
 gcugcggggg uuagggcuag aagucggccu gcagc 35

<210> 132
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> artificial

35 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

40 <400> 132
 cugcggggu uagggcuaga agucggccug cag 33

<210> 133
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> artificial

45 <220>
 <223> sintético

50

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 133
 5 ugcggggguu agggcuagaa gucgccugc a 31

 <210> 134
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

 10 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 15 <400> 134
 gcggggguua gggcuagaag ucggccugc 29

 <210> 135
 <211> 29
 <212> ADN
 20 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 25 <223> L-ARN

 <400> 135
 gccggggguua gggcuagaag ucggccggc 29

 <210> 136
 <211> 31
 30 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 35 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 136
 ggccggggguu agggcuagaa gucgccggc c 31

 <210> 137
 40 <211> 31
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 45 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 137
 cgccggggguu agggcuagaa gucgccggc g 31

 50 <210> 138
 <211> 10

<212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 5 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <220>
 <221> característica_misc
 10 <222> (7)..(7)
 <223> n e s a, c, g, t o u

 <400> 138
 rksbusnvgr 10

 <210> 139
 15 <211> 10
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 20 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <220>
 <221> característica_misc
 25 <222> (3)..(3)
 <223> n e s a, c, g, t o u

 <400> 139
 yynrcassmy 10

 <210> 140
 30 <211> 10
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 35 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <400> 140
 rksbugsvgr 10

 40 <210> 141
 <211> 10
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 45 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

 <220>
 50 <221> característica_misc
 <222> (3)..(3)
 <223> n e s a, c, g, t o u

ES 2 678 497 T3

<400> 141
 ycnrcassmy 10

<210> 142
 <211> 48
 5 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 10 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 142
 cgugguccgu ugugucaggu cuauucgccc cggugcaggg cauccgcg 48

<210> 143
 15 <211> 49
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 20 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 143
 gcagugugac gcgagcaguga uaggacagag cugauccgc ucaggugag 49

<210> 144
 25 <211> 49
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 30 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<400> 144
 35 caacagcagu gugacgcgga cgugauagga cagagcugau cccgcucag 49

<210> 145
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 40 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<220>
 45 <221> característica_misc
 <222> (1)..(1)
 <223> Resto 40 kDa-PEG fijado el extremo 5'

<400> 145
 50 gcgugaaagc aacaugucaa ugaaagguag cgcgcg 36

<210> 146
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

5 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

10 <400> 146
 gcugugaaag caacauguca augaaaggua gccgcagc 38

<210> 147
 <211> 38
 <212> ADN

15 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

20 <400> 147
 gcugugaaag uaacauguca augaaaggua accacagc 38

<210> 148
 <211> 38
 <212> ADN

25 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

30 <400> 148
 gcugugaaag uaacacguca augaaaggua accgcagc 38

<210> 149
 <211> 38
 <212> ADN

35 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

40 <400> 149
 gcugugaaag uaacacguca augaaaggua accacagc 38

<210> 150
 <211> 38
 <212> ADN

45 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

50

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 150
 5 gcuguaaaag uaacauguca augaaaggua acuacagc 38

<210> 151
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

10 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

15 <400> 151
 gcuguaaaag uaacaaguca augaaaggua acuacagc 38

<210> 152
 <211> 38
 <212> ADN
 20 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

25 <400> 152
 gcugugaaag uaacaaguca augaaaggua accacagc 38

<210> 153
 <211> 38
 30 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 35 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 153
 gcagugaaag uaacauguca augaaaggua accacagc 38

<210> 154
 <211> 38
 40 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

45 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 154
 gcugugaaag uaacauguca augaaaggua accacugc 38

50 <210> 155
 <211> 38

<212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 5 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 155
 gcuaugaaag uaacauguca augaaaggua accauagc 38

 10 <210> 156
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 15 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 20 <400> 156
 gcugcgaaag cgacauguca augaaaggua gccgcagc 38

 <210> 157
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

 25 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 30 <400> 157
 gcugugaaag caacauguca augaaaggua gccacagc 38

 <210> 158
 <211> 38
 <212> ADN
 35 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 40 <223> D-ARN

 <400> 158
 gcugugaaag uaacauguca augaaaggua gccgcagc 38

 <210> 159
 <211> 39
 45 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 50 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 159
 agcgugaaaag uaacacguaa aaugaaaggu aaccacgcu 39

 <210> 160
 <211> 36
 5 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 10 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 160
 cugugaaaagc aacaugucuaa ugaaagguag ccgcag 36

 <210> 161
 15 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 20 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 161
 ugugaaagca acaugucaau gaaagguagc cgca 34

 25 <210> 162
 <211> 32
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 30 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 162
 35 gugaaagcaa caugucaaug aaagguagcc gc 32

 <210> 163
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> artificial

 40 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 45 <400> 163
 ugaagcaac augucaauga aagguagccg 30

 <210> 164
 <211> 28
 <212> ADN
 50 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 5 <223> D-ARN

<400> 164
 gaaagcaaca ugucaaugaa agguagcc 28

<210> 165
 <211> 26
 10 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 15 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 165
 aaagcaacau gucaaugaaa gguagc 26

<210> 166
 <211> 36
 20 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

25 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 166
 gcgugaaagc aacaugucua ugaaagguag ccgcgc 36

30 <210> 167
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 35 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 167
 40 gcgcgaaagc aacaugucua ugaaagguag ccgcgc 36

<210> 168
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

45 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

50 <400> 168
 gcggaaagca acaugucaau gaaagguag ccgc 34

<210> 169
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

5 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

10 <400> 169
 cgugaaagca acaugucaau gaaagguagc gcgc 34

<210> 170
 <211> 34
 <212> ADN

15 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

20 <400> 170
 gcgcaaagca acaugucaau gaaagguagc gugc 34

<210> 171
 <211> 34
 <212> ADN

25 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

30 <400> 171
 gugcaaagca acaugucaau gaaagguagc gcgc 34

<210> 172
 <211> 34
 <212> ADN

35 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

40 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 172
 cgcgaaagca acaugucaau gaaagguagc cgug 34

45 <210> 173
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

50

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 173
 5 gggcaaagca acaugucaau gaaagguagc gcc 34

 <210> 174
 <211> 34
 <212> ADN
 <213> artificial

 10 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 15 <400> 174
 ggccaaagca acaugucaau gaaagguagc ggcc 34

 <210> 175
 <211> 34
 <212> ADN
 20 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 25 <400> 175
 gcccaaagca acaugucaau gaaagguagc gggc 34

 <210> 176
 <211> 34
 30 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 35 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 176
 ccccaaagca acaugucaau gaaagguagc gggg 34

 <210> 177
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial

 40 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 45 <400> 177
 gugcugcggg gguuagggcu agaagucggc cugcagcac 39

 50 <210> 178
 <211> 39

<212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 5 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 178
 agcguggcga gguuagggu agaagucggu cgacacgcu 39

 10 <210> 179
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 15 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 20 <400> 179
 guguugcgga gguuagggu agaagucggu cagcagcac 39

 <210> 180
 <211> 48
 <212> ADN
 <213> artificial

 25 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 30 <400> 180
 cgugcgccu aagagguag ggcuaaagu cggucuuugg ccaacacg 48

 <210> 181
 <211> 48
 <212> ADN
 35 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 40 <223> D-ARN

 <400> 181
 cgugcgcuug agauaggggu uagggcuaa agucggcuga uucucacg 48

 <210> 182
 <211> 48
 45 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 50 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 182
 cgugauuggu gagggguuag ggcuugaagu cggccuuguc cagucacg 48

 <210> 183
 <211> 39
 5 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 10 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 183
 agcgugaagg gguuagggu cgaagucggc ugacacgcu 39

 <210> 184
 15 <211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 20 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 184
 gugcugcggg gguuagggu cgaagucggc cgcagcac 39

 25 <210> 185
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 30 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 185
 35 guguucccg gguuagggu ugaagucggc cgcagcac 39

 <210> 186
 <211> 39
 <212> ADN
 <213> artificial

 40 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 45 <400> 186
 guguugcagg gguuagggu ugaagucggc cgcagcac 39

 <210> 187
 <211> 39
 <212> ADN
 50 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 5 <223> D-ARN

<400> 187
 gugcugcggg gguuagggu caaagucggc cugcagcac 39

<210> 188
 <211> 38
 10 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 15 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 188
 gugcugccgg gguuagggu aaagucggcc gacagcac 38

<210> 189
 <211> 39
 20 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

25 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 189
 gugcuguggg ggucagggu agaagucggc cugcagcac 39

30 <210> 190
 <211> 38
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 35 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 190
 40 ugagauagg gguaggguu aaagucggcu gauucua 38

<210> 191
 <211> 36
 <212> ADN
 <213> artificial

45 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

50 <400> 191
 gagauagggg uuaggguua aagucggcug auucuc 36

<210> 192
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

5 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

10 <400> 192
 gggguuagg cuuaagucg gcugauucu 29

<210> 193
 <211> 37
 <212> ADN

15 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

20 <400> 193
 gcguggcgag guuaggcua gaagucgguc gacacg 37

<210> 194
 <211> 35
 <212> ADN

25 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

30 <400> 194
 cguggcgagg uuaggcuag aagucggucg acacg 35

<210> 195
 <211> 33
 <212> ADN

35 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

40 <400> 195
 cgggcgaggu uaggcuaga agucggucga ccg 33

<210> 196
 <211> 33
 <212> ADN

45 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

50

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 196
 5 cgggcgaggu uagggcuaga agucggucgc ccg 33

 <210> 197
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> artificial

 10 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 15 <400> 197
 cggcgagguu agggcuagaa gucggucgcc g 31

 <210> 198
 <211> 29
 <212> ADN
 20 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 25 <400> 198
 cgggagguua gggcuagaag ucggucccg 29

 <210> 199
 <211> 27
 30 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 35 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 199
 gggagguuag ggcuaagaagu cgguccc 27

 <210> 200
 40 <211> 27
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 45 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 200
 ccgcgguuag ggcuaagaagu cgggcgg 27

 50 <210> 201
 <211> 27

<212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 5 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 201
 cccggguuag ggcuaagaagu cggcggg 27

 10 <210> 202
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 15 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 202
 20 ggcggguuag ggcuaagaagu cggcgcc 27

 <210> 203
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

 25 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

 <400> 203
 30 cccgcgguua gggcuagaag ucggcggg 29

 <210> 204
 <211> 29
 <212> ADN
 35 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 <221> característica_misc
 40 <223> D-ARN

 <400> 204
 gccgcgguua gggcuagaag ucggcggc 29

 <210> 205
 <211> 29
 45 <212> ADN
 <213> artificial

 <220>
 <223> sintético

 <220>
 50 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 205
 ccccgguua gggcuagaag ucggcggg 29

5 <210> 206
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

10 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 206
 cggcggguua gggcuagaag ucggcgccg 29

15 <210> 207
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

20 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 207
 gggcggguua gggcuagaag ucggcgccc 29

25 <210> 208
 <211> 37
 <212> ADN
 <213> artificial

30 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

35 <400> 208
 ugcugcggg guuagggcua gaagucggcc ugcagca 37

<210> 209
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> artificial

40 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

45 <400> 209
 gcugcggggg uuagggcuag aagucggccu gcagc 35

50 <210> 210
 <211> 33
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 5 <223> D-ARN

<400> 210
 cugcgggggu uagggcuaga agucggccug cag 33

<210> 211
 <211> 31
 10 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 15 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 211
 ugcggggguu agggcuagaa gucggccugc a 31

<210> 212
 <211> 29
 20 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

25 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 212
 gcggggguua gggcuagaag ucggccugc 29

30 <210> 213
 <211> 29
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 35 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 213
 40 gccggggguua gggcuagaag ucggccggc 29

<210> 214
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> artificial

45 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

50 <400> 214
 ggccggggguu agggcuagaa gucggccggc c 31

<210> 215
 <211> 31
 <212> ADN
 <213> artificial

5 <220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

10 <400> 215
 cgccgggguu agggcuagaa gucggccggc g 31

<210> 216
 <211> 48
 <212> ADN

15 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

20 <400> 216
 cgugguccgu ugugucaggu cuauucgcc cgugcaggg cauccgcg 48

<210> 217
 <211> 49
 <212> ADN

25 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

<220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

30 <400> 217
 gcagugugac gcggacguga uaggacagag cugauccgc ucaggugag 49

<210> 218
 <211> 49
 <212> ADN

35 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

40 <220>
 <221> característica_misc
 <223> D-ARN

<400> 218
 caacagcagu gugacgcgga cgugauagga cagagcugau cccgcucag 49

45 <210> 219
 <211> 40
 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

50

<220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

5 <220>
 <221> característica_misc
 <222> (1)..(1)
 <223> Resto 40 kDa-PEG fijado el extremo 5'
 <400> 219
 uaaggaaacu cggucugaug cgguagcgcu gugcagagcu 40

10 <210> 220
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> artificial

15 <220>
 <223> sintético

20 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN
 <400> 220
 cgugcgcuug agauagg 17
 <210> 221
 <211> 12
 <212> ADN
 <213> artificial

25 <220>
 <223> sintético

30 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN
 <400> 221
 cugauucuca cg 12
 <210> 222
 <211> 10
 <212> ADN
 35 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

40 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN
 <400> 222
 cugauucuca 10
 <210> 223
 <211> 29
 45 <212> ADN
 <213> artificial

<220>
 <223> sintético

50 <220>
 <221> característica_misc
 <223> L-ARN

<220>
 <221> característica_misc
 <222> (1)..(1)
 <223> Resto 40 kDa-PEG fijado el extremo 5'
 5 <400> 223
 gccggggguua gggcuagaag ucggccggc 29
 <210> 224
 <211> 29
 <212> ADN
 10 <213> artificial
 <220>
 <223> sintético
 <220>
 <221> característica_misc
 15 <223> L-ARN
 <220>
 <221> característica_misc
 <222> (1)..(1)
 <223> Resto 40 kDa-PEG fijado el extremo 5'
 20 <400> 224
 cgggagguua gggcuagaag ucggucccg 29
 <210> 225
 <211> 45
 <212> ADN
 25 <213> artificial
 <220>
 <223> sintético
 <220>
 <221> característica_misc
 30 <223> L-ARN
 <220>
 <221> característica_misc
 <222> (1)..(1)
 <223> Resto 40 kDa-PEG fijado el extremo 5'
 35 <400> 225
 cgcauggacu gauccuaguc gguuauguag aucuagugug guggcg 45

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 y de bloquear la interacción entre SDF-1 y el receptor de SDF-1, CXCR7, en donde la molécula de ácido nucleico es para uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como una terapia complementaria, o para uso como un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, en donde la enfermedad o el trastorno es un cáncer que expresa el receptor de SDF-1, CXCR7.
2. La molécula de ácido nucleico para uso según la reivindicación 1, en donde el cáncer es un cáncer seleccionado a partir del grupo de cáncer hematológico y tumores sólidos, en donde preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia y mieloma y los tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo que comprende glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de ovario y cáncer de pulmón.
3. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde la terapia complementaria sensibiliza al sujeto, por lo que el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno.
4. La molécula de ácido nucleico para uso según la reivindicación 3, en donde la terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno comprende la administración de un agente farmacéuticamente activo adicional y/o radiar al sujeto y/o una cirugía y/o una terapia celular.
5. La molécula de ácido nucleico para uso según la reivindicación 4, en donde el agente farmacéuticamente activo adicional se selecciona a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.
6. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de 1 a 5, en donde el tratamiento o la prevención de la enfermedad o el trastorno se produce mediante la molécula de ácido nucleico inhibiendo la interacción entre SDF-1 y el receptor de SDF-1, CXCR7.
7. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende en dirección 5'→3' un primer tramo terminal de nucleótidos, un tramo central de nucleótidos y un segundo tramo terminal de nucleótidos, o un segundo tramo terminal de nucleótidos, un tramo central de nucleótidos y un primer tramo terminal de nucleótidos,
- en donde la molécula de ácido nucleico se selecciona a partir del grupo que comprende una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B, una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C, una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A y una molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo D;
- en donde el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende la siguiente secuencia de nucleótidos:
- 5' GUGUGAUCUAGAUGUADWGGCUGWUCCUAGUYAGG 3' (SEQ ID NO: 52), y
- en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₁X₂SVNS 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' BVBSX₃X₄ 3', en donde
- X₁ está o bien ausente o es A, X₂ es G, X₃ es C y X₄ está o bien ausente o es U;
- o
- X₁ está ausente, X₂ está o bien ausente o es G, X₃ está o bien ausente o es C y X₄ está ausente;
- en donde el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende la siguiente secuencia de nucleótidos: GGUYAGGGCUHRX_AAGUCGG (SEQ ID NO: 108),
- en donde X_A está o bien ausente o es A, y
- en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' RKSBUSNVGR 3' (SEQ ID NO: 138) y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' YYNRCASSMY 3' (SEQ ID NO: 139),
- o

en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X_SSSSV 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' BSSSX_S 3', en donde X_S está o bien ausente o es S,

5 o

en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CGUGCGCUUGAGAUAGG 3' (SEQ ID NO: 220) y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CUGAUUCUCACG 3' (SEQ ID NO: 221);

10 o

el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' UGAGAUAGG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CUGAUUCUCA 3' (SEQ ID NO: 222);

15 o

el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' GAGAUAGG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CUGAUUCUC 3';

20 en donde el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' AAAGYRACAHGUMAAX_AUGAAAGGUARC 3' (SEQ ID NO: 74),

en donde X_A está o bien ausente o es A, y

en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₁X₂NNBV 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' BNBX₃X₄ 3',

25 en donde X₁ está o bien ausente o es R, X₂ es S, X₃ es S y X₄ está ausente o es Y,

o

X₁ está ausente, X₂ está o bien ausente o es S, X₃ está o bien ausente o es S y X₄ está ausente; y

en donde la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo D comprende una secuencia de nucleótidos según una cualquiera de SEQ ID NO: 142 a SEQ ID NO: 144.

30 8. La molécula de ácido nucleico para uso según la reivindicación 7, en donde el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende la siguiente secuencia de nucleótidos:

5' GUGUGAUCUAGAUGUADUGGCUGAUCCUAGUCAGG 3' (SEQ ID NO: 53).

35 9. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₁X₂SSBS 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de 5' BVSSX₃X₄ 3',

en donde X₁ está ausente, X₂ está o bien ausente o es G, X₃ está o bien ausente o es C y X₄ está ausente, preferiblemente el primer tramo terminal de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos de 5' GCGUG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos de 5' UACGC 3'.

40 10. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en donde la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo B comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de SEQ ID NO: 5 a SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 22 a SEQ ID NO: 28.

preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NO: 5 a SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 22 y SEQ ID NO: 28, y

45 más preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NO: 22 y SEQ ID NO: 28.

11. La molécula de ácido nucleico para uso según la reivindicación 7, en donde el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' GGUYA-GGCUHRAAGUCGG 3' (SEQ ID NO: 109), 5' GGUYAGGCUHRAGUCGG 3' (SEQ ID NO: 110) o 5'

GGUUAGGGCUHGAAGUCGG 3' (SEQ ID NO: 111), preferiblemente 5' GGUUAGGGCUHGAAGUCGG 3' (SEQ ID NO: 111).

5 12. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7 y 11, en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' RKSBUGSVGR 3' (SEQ ID NO: 140) y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' YCNR-CASSMY 3' (SEQ ID NO: 141).

10 13. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7 y 11, en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' SGGSR 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de 5' YSCCS 3'.

15 14. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7 y 11 a 13, en donde la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo C comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de SEQ ID NO: 95 a SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 112 a SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 223 y SEQ ID NO: 224, y

preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 128, SEQ ID NO: 129, SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 223 y SEQ ID NO: 224.

20 15. La molécula de ácido nucleico para uso según la reivindicación 7, en donde el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de

5' AAAGYRACAHGUMAAUGAAAGGUARC 3' (SEQ ID NO: 75), o

5' AAAGYRACAHGUMAAAUGAAAGGUARC 3' (SEQ ID NO: 76), o

5' AAAGYAACAHGUCAAUGAAAGGUARC 3' (SEQ ID NO: 77), preferiblemente el tramo central de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' AAAG-YAACAHGUCAAUGAAAGGUARC 3' (SEQ ID NO: 77).

25 16. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7 y 15, en donde el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' X₂BBBS 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' SBBVX₃ 3',

en donde X₂ está o bien ausente o es S y X₃ está o bien ausente o es S;

30 preferiblemente, el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CUGUG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CGCAG 3';

35 o el primer tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' GCGUG 3' y el segundo tramo terminal de nucleótidos de la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de 5' CGCGC 3'.

17. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7 y 15 a 16, en donde la molécula de ácido nucleico que se une a SDF-1 de tipo A comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con una cualquiera de SEQ ID NO: 60 a SEQ ID NO: 73, SEQ ID NO: 78 a SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 84 a SEQ ID NO: 87, SEQ ID NO: 89 a SEQ ID NO: 94 y SEQ ID NO: 145,

40 preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 84 y SEQ ID NO: 146, y

más preferiblemente una cualquiera de SEQ ID NO: 84 y SEQ ID NO: 146.

45 18. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en donde la molécula de ácido nucleico comprende una modificación, en donde la modificación es preferiblemente un resto de alto peso molecular y/o en donde la modificación permite preferiblemente modificar las características de la molécula de ácido nucleico en términos de tiempo de residencia en un cuerpo animal o humano, preferiblemente un cuerpo humano.

19. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en donde la molécula de ácido nucleico es una molécula de ácido nucleico L.

50 20. Una composición farmacéutica que comprende como primer agente farmacéuticamente activo la molécula de ácido nucleico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 y opcionalmente un componente adicional, en

- donde el componente adicional se selecciona a partir del grupo que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable, un vehículo farmacéuticamente aceptable y un agente farmacéuticamente activo adicional, y en donde la composición farmacéutica es para uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, o para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como una terapia complementaria, o para uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, en donde la enfermedad o el trastorno es un cáncer que expresa el receptor de SDF-1, CXCR7.
- 5
21. La composición farmacéutica para uso según la reivindicación 20, en donde la terapia complementaria sensibiliza al sujeto, por lo que el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno.
- 10
22. La composición farmacéutica para uso según la reivindicación 21, en donde la terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno comprende la administración de un agente farmacéuticamente activo adicional y/o radiar al sujeto y/o una cirugía y/o una terapia celular.
- 15
23. La composición farmacéutica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 22, en donde el agente farmacéuticamente activo adicional es un agente farmacéuticamente activo seleccionado a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, preferiblemente vincristina, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.
- 20
24. La composición farmacéutica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 23, en donde el cáncer es un cáncer seleccionado a partir del grupo de cáncer hematológico y tumores sólidos, en donde preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo de leucemia y mieloma y los tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo que comprende glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de ovario y cáncer de pulmón.
- 25
25. Un medicamento que comprende una o varias unidades de dosificación de al menos un primer agente farmacéuticamente activo, en donde el primer agente farmacéuticamente activo es una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en donde el medicamento es para uso en un método para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, o para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno, o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como una terapia complementaria, o para uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, en donde la enfermedad o el trastorno es un cáncer que expresa el receptor de SDF-1, CXCR7.
- 30
26. El medicamento para uso según la reivindicación 25, en donde la terapia complementaria sensibiliza al sujeto, por lo que el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno.
- 35
27. El medicamento para uso según la reivindicación 26, en donde la terapia para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades o el trastorno comprende la administración de un agente farmacéuticamente activo adicional y/o radiar al sujeto y/o una cirugía y/o una terapia celular.
- 40
28. El medicamento para uso según cualquiera de las reivindicaciones 25 a 27, en donde el medicamento comprende un agente farmacéuticamente activo adicional, preferentemente una o varias unidades de dosificación de un agente farmacéuticamente activo adicional, en donde el agente farmacéuticamente activo adicional se selecciona a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, preferiblemente vincristina, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.
- 45
29. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 25 a 28, en donde el cáncer es un cáncer seleccionado a partir del grupo de cáncer hematológico y tumores sólidos, en donde preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia y mieloma y los tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo que comprende glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de ovario y cáncer de pulmón.
- 50
30. Uso de una molécula de ácido nucleico como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno o para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece una enfermedad o un trastorno o que tiene riesgo de desarrollar una enfermedad o un trastorno, como una terapia complementaria, en donde la enfermedad o el trastorno es un cáncer que expresa el receptor de SDF-1, CXCR7.
- 55
31. Uso según la reivindicación 30, en donde la terapia complementaria sensibiliza al sujeto, por lo que el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno.

32. Uso según la reivindicación 31, en donde la terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno comprende la administración de un agente farmacéuticamente activo adicional y/o radiar al sujeto y/o una cirugía y/o una terapia celular.
- 5 33. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 30 a 32, preferiblemente la reivindicación 30, en donde el medicamento se usa en combinación con un agente farmacéuticamente activo adicional, en donde el agente farmacéuticamente activo adicional es un agente farmacéuticamente activo seleccionado a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, preferiblemente vincristina, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno, sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.
- 10 34. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 30 a 33, en donde el cáncer es un cáncer seleccionado a partir del grupo de cáncer hematológico y tumores sólidos, en donde preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia y mieloma y los tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo que comprende glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de ovario y cáncer de pulmón.
- 15 35. Una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, para uso en un método para el tratamiento de un sujeto que padece o que tiene riesgo de desarrollar un cáncer que expresa el receptor de SDF-1, CXCR7, en donde el método comprende
- una etapa a) de administrar al sujeto una cantidad farmacéuticamente eficaz de la molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20; y
 - 20 - una etapa b) de radiar al sujeto y/o una cirugía y/o una terapia celular y/o administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente farmacéuticamente activo adicional al sujeto, en donde el agente farmacéuticamente activo adicional es un agente farmacéuticamente activo seleccionado a partir del grupo que comprende un anticuerpo, un agente alquilante, un antimetabolito, un alcaloide vegetal, preferiblemente vincristina, un terpenoide vegetal, un inhibidor de la topoisomerasa, leucovorina, metotrexato, tamoxifeno,
 - 25 sorafenib, lenalidomida, bortezomib, dexametasona, fluorouracilo y prednisona.
36. La molécula de ácido nucleico para uso según la reivindicación 35, en donde la cantidad farmacéuticamente eficaz de una molécula de ácido nucleico capaz de unirse a SDF-1 como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, se administra como una terapia complementaria o parte de una terapia complementaria.
- 30 37. La molécula de ácido nucleico para uso según la reivindicación 36, en donde la terapia complementaria sensibiliza al sujeto, por lo que el sujeto sensibilizado es más sensible a una terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno.
38. La molécula de ácido nucleico para uso según la reivindicación 37, en donde la terapia para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad o el trastorno comprende la administración de un agente farmacéuticamente activo adicional y/o radiar al sujeto y/o una cirugía y/o una terapia celular como se realiza en la etapa b).
- 35 39. La molécula de ácido nucleico para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 35 a 38, en donde el cáncer es un cáncer seleccionado a partir del grupo de cáncer hematológico y tumores sólidos, en donde preferiblemente el cáncer hematológico se selecciona a partir del grupo que comprende leucemia y mieloma y los tumores sólidos se seleccionan a partir del grupo que comprende glioblastoma, cáncer colorrectal, cáncer de mama, linfoma, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer renal, cáncer de ovario y cáncer de pulmón.
- 40

Ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo A

Nombre	nt.	Secuencia: 5' -3'	Comp.
192-A10-001	38	GCUGUG AAAGCAACAUGUCAAA-UGAAAGGUAGC CGCAGC	
192-G10	38	GCUGUG AAAGUAACAUGUCAAA-UGAAAGGUAAAC CACAGC	<
192-F10	38	GCUGUG AAAGUAACACGUCAAA-UGAAAGGUAAAC CGCAGC	<
192-B11	38	GCUGUG AAAGUAACACGUCAAA-UGAAAGGUAAAC CACAGC	=
192-C9	38	GCUGUA AAAGUAACAUGUCAAA-UGAAAGGUAAAC UACAGC	<
192-E10	38	GCUGUA AAAGUAACAAGUCAAA-UGAAAGGUAAAC UACAGC	<
192-C10	38	GCUGUG AAAGUAACAAGUCAAA-UGAAAGGUAAAC CACAGC	=
192-D11	38	GCAGUG AAAGUAACAUGUCAAA-UGAAAGGUAAAC CACAGC	<
192-G11	38	GCUGUG AAAGUAACAUGUCAAA-UGAAAGGUAAAC CACUGC	<
192-H11	38	GCUAUG AAAGUAACAUGUCAAA-UGAAAGGUAAAC CAUAGC	<
192-D10	38	GCUGCG AAAGCGACAUGUCAAA-UGAAAGGUAGC CGCAGC	<<
192-E9	38	GCUGUG AAAGCAACAUGUCAAA-UGAAAGGUAGC CACAGC	<<
192-H9	38	GCUGUG AAAGUAACAUGUCAAA-UGAAAGGUAGC CGCAGC	<<
191-A6	39	AGCGUG AAAGUAACACGUAAAAUGAAAGGUAAAC CACGCU	<

Nucleótidos terminales que se pueden hibridar entre sí (negrita)

nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF-1

nt.:= nucleótidos [Escriba una cita del documento o del resumen de un punto interesante. Puede colocar el cuadro de texto en el documento en cualquier posición. Utilice la pestaña "herramientas de dibujo", si desea cambiar el formato del cuadro de texto "cita de texto".]

Comp.:= Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión competitiva frente a 192-A10-001

=:= Afinidad de la unión igual a 192-A10-001; <:= Afinidad de la unión más débil que 192-A1-001

<<:= Afinidad de la unión mucho más débil que 192-A10-001

Fig. 1

Derivados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo A 192-A10-001

Nombre	nt.	Secuencia: 5' -3'	Comp.	PD: K _b [nM]	TAX C ₁₅₀ [nM]
192-A10-001	38	GCUGUGAAAAGCAAACAUGUCAUUGAAAAGGUAGCCGCAGC		1.5	0.1 - 0.2
192-A10-002	36	CUGUGAAAAGCAAACAUGUCAUUGAAAAGGUAGCCGCAG	=		=
192-A10-003	34	UGUGAAAAGCAAACAUGUCAUUGAAAAGGUAGCCGCA	<		<
192-A10-004	32	GUGAAAAGCAAACAUGUCAUUGAAAAGGUAGCCGC	<<		<<
192-A10-005	30	UGAAAAGCAAACAUGUCAUUGAAAAGGUAGCCG	<<<		<<
192-A10-006	28	GAAAAGCAAACAUGUCAUUGAAAAGGUAGCC	<<<<		<<
192-A10-007	26	AAAAGCAAACAUGUCAUUGAAAAGGUAGC	i. a.		

nucleótidos terminales en el extremo 5' y 3' que se pueden hibridar entre sí (negrita)

nt.: nucleótidos

nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF-1

i.a.: inactivo

=: afinidad de la unión igual a 192-A10-001

</<</<<<: más débil (<), mucho más débil (<<)) o aún mucho más débil (<<<<)) afinidad de la unión que 192-A1-001

Comp.: Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión competitiva frente a 192-A10-001

PD.: Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión por captación

TAX.: Los clones se analizaron como Spiegelmers en un ensayo de quimiotaxis *in vitro* en un cultivo celular

Fig. 2A

Derivados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo A 192-A10-001

Nombre	nt.	Secuencia: 5' - 3'	Comp.	PD: K _p [nM]	TAX Cl ₅₀ [nM]
192-A10-001	38	GCUGUGAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGCAGC		1.5	0.1 - 0.2
192-A10-002	36	CUGUGAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGCAG	=		=
192-A10-008	36	CGGUCAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGCGC	=	1.5	=
192-A10-015	36	CGCGCAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGCGC	<	4.6	
192-A10-014	34	CGGCAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGC	<	8.0	=
192-A10-016	34	CGUGAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCCGG	<		
192-A10-017	34	CGGCAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGUGC	i. a.		
192-A10-018	34	GUGCAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGC	<<<		
192-A10-019	34	CGGCAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGUG	<<		
192-A10-020	34	GGGCAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGCC	<<*		
192-A10-021	34	GGCCAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGCC	<<*		
192-A10-022	34	GCCCCAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGGC	<<*		
192-A10-023	34	CCCCAAAAGCAACAUGUCAAAUGAAAAGGUAGCCGGGG	<<*		

nucleótidos terminales en el extremo 5' y 3' que se pueden hibridar entre sí (negrita) **nt.:** nucleótidos

nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF-1

i. a.: inactivo **==:** afinidad de la unión igual a 192-A10-001/-008

</<</<<=> más débil (<<), mucho más débil (<<<) o aún mucho más débil (<<<<)> afinidad de la unión que 192-A1-001/ -008

Comp.: Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión competitiva frente a 192-A10-001 (*excepto los de 192-A10-020, -021, -022, y -023 que se analizaron frente a 193-A10-008 que tiene la misma afinidad de unión a SDF-1 que 192-A10-001)

PD.: Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión por captación

TAX.: Los clones se analizaron como Spiegelmers en un ensayo de quimiotaxis *in vitro* en un cultivo celular

Fig. 2B

Ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo B

Nombre	nt.	Secuencia: 5' -3'	C.
193-C2-001	47	AGCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGG UACGCU	+
193-G2-001	47	AGCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGG UACGCU	+
193-F2-001	47	AGCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAAUGGCUGAUCCUAGUCAGG UGCGCU	+
193-G1-002	45	GCGAG GUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGG UGCGC	<<
193-D2-002	45	GCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGG UGCGC	<
193-A1-002	45	GCAUG GUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUCAGG UGCCC	<<<
193-D3-002	45	GCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAAUGGCUGAUCCUAGUCAGG GACGC	<
193-B3-002	45	GCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAGAGGCUGAUCCUAGUCAGG UACGC	<<
193-H3-002	45	GCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAAAGGCUGAUCCUAGUCAGG UACGC	<
193-E3-002	45	GCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGUCCUAGUCAGG UAUGC	<<
193-D1-002	45	GCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAGUGGCUGAUCCUAGUUAGG UACGC	<<<

nucleótidos terminales que se pueden hibridar entre sí (negrita)

nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF-1

nt.:= nucleótidos

C.:= Los clones C2, G2 y F2 se analizaron como aptámeros en ensayos de unión competitiva frente a 192-A10-001; todos los demás clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión competitiva frente a 193-G2-012 que tiene la misma afinidad de unión a SDF-1 que 193-G2-001 (véase la Fig. 4b)

+= mejor afinidad de unión que 192-A10-001

</<</<<<:= débil (<), más débil (<<). o mucho más débil (<<<) afinidad de unión que 193-G2-001/ -012

Fig. 3

Derivados de ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo B 193-C2/G2-001

Nombre	nt.	Secuencia : 5'-3'	Comp.	PD K _b [nM]	Biacore K _b [nM]
193-G2-001	47	AGCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAUUGGUGAUCUAGUCAGG UACCGCU		0.3	0.5
193-C2-001	47	AGCGUG GUGUGAUCUAGAUGUAUUGGUGAUCUAGUCAGG UACCGCU	=		0.6
193-C2-002	45	GCUGUG GUGUGAUCUAGAUGUAUUGGUGAUCUAGUCAGG UACCGC	=		0.8
193-C2-003	43	CGUG GUGUGAUCUAGAUGUAUUGGUGAUCUAGUCAGG UACCG	<		
193-C2-004	41	GUG GUGUGAUCUAGAUGUAUUGGUGAUCUAGUCAGG UAC	<<		
193-C2-005	39	UG GUGUGAUCUAGAUGUAUUGGUGAUCUAGUCAGG UA	<<<		
193-C2-006	37	GGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGUGAUCUAGUCAGG U	<<<<		
193-C2-007	35	GUGUGAUCUAGAUGUAUUGGUGAUCUAGUCAGG	i. a.		

nucleótidos terminales en el extremo 5' y 3' que se pueden hibridar entre sí (negrita)

nt.:= nucleótidos

nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF-1

i. a.:= inactivo

:= afinidad de unión igual a 193-G2-001

</<</<<:= débil (<), más débil (<<) o mucho más débil (<<<)
afinidad de unión igual a 193-G2-001

Comp.:= Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión competitiva frente a 193-G2-001

PD.:= Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión por captación

Fig. 4A

Derivados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo B 193-C2/G2-001

Nombre	nt.	Secuencia: 5'-3'	Comp.	PD K _b [nM]	Biacore K _b [nM]
193-G2-001	47	AGCGUGGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGG UACGCU		0.3	0.5
193-G2-012	45	GC CGUGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGG UACGCGC	=	0.3	
193-G2-013	45	GC CGCGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGG CGCGC	<<	5.3	
193-G2-014	43	GC CGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGG GC CGC	<<	4.7	
193-G2-015	43	GC CGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGG GC CCC	<<*	4.5	
193-G2-016	43	GC CGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGG GC CCC	<<*	4.2	
193-G2-017	43	GC CGUGUGAUCUAGAUGUAUUGGCUGAUCCUAGUCAGG GC CCC	<<*	4.2	

nucleótidos terminales en el extremo 5' y 3' que se pueden hibridar entre sí (negrita) **nt.:=** nucleótidos

nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF-1 **==:** afinidad de unión igual a 193-G2-001/ -012

</<</<<:= débil (<), más débil (<<) o mucho más débil (<<<)

Comp.:= Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión competitiva frente a 193-G2-001 (* = excepto 193-G2-015, -016, -017 que se analizaron en un ensayo de unión competitiva frente a 193-G2-012 que tiene la afinidad de unión a SDF-1 idéntica a 193-G2-001)

PD.:= Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión por captación

Fig. 4B

Ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo C

Nombre	nt.	Secuencia: 5'-3'	Comp.
197-B2	39	GUGUCGGGGGGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAGCAC	<
191-D5-001	39	AGCGUGCCGAGUUAGGGCUAGAAGUCGGCCGACAGCGU	<
197-H1	39	GUGUUGCGGAGUUAGGGCUAGAAGUCGGUCAGCAGCAC	<
190-D3	48	CGUGCGCCUAGAGUUAGGGCUAAAAGUCGGUCUUUGGCCAAACAGG	<<
190-A3-001	48	CGUGCGCUUGAGAUAGGUUAGGGCUUAAAGUCGGCUGAUUCUCACG	<
190-A3-001*	48	CGUGCGCUUGAGAUAGGUUAGGGCUAAAAGUCGGCUGAUUCUCACG	<
190-A2	48	CGUGAUUGGUCAGGUUAGGGCUUAGAAGUCGGCCUUGUCCAGUCACG	<<
191-A5	39	AGCGUGAAGGGUUAGGGCUCCGAAAGUCGGCUGACAGCGU	<<
197-H3	39	GUGUCGCGGGGGUUAGGGCUCCGAAAGUCGGCCCGCAGCAC	<
197-B1	39	GUGUUCGCGGGUUAGGGCUUAGAAGUCGGCCGGCAGCAC	<<
197-E3	39	GUGUUGCAGGGUUAGGGCUUAGAAGUCGGCCUGCAGCAC	<
197-H2	39	GUGUCGCGGGGUUAGGGCUCAAAGUCGGCCUGCAGCAC	<<
197-D1	38	GUGUCGCGGGGUUAGGGCUAA-AGUCGGCCGACAGCAC	<<
197-D2	39	GUGUCGUGGGGGGUCAGGGCUAGAAGUCGGCCUGCAGCAC	<<

nucleótidos terminales que se pueden hibridar entre sí (negrita)

nt.: nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF-1

Comp.: Los clones se analizaron como aptámeros en ensayos de unión competitiva frente a 192-A10-001

==: afinidad de unión igual que 192-A10 ; <:= . afinidad de unión más débil que 192-A10 <<:= afinidad de unión mucho más débil que 192-A10

*:= hibridación alternativa

Fig. 5

Derivados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C 190-A3-001

Nombre	nt.	Secuencia: 5'-3'	Comp.
190-A3-001	48	CGUGCCUUGAGAUAGG GGUAGGGCCUAAAAGUCGGCUGAUUCUCACG	
190-A3-001*	48	CGUGCCUUGAGAUAGG GGUAGGGCCUAAAAGUCGG CUGAUUCUCACG	
190-A3-003	38	UGAGAUAGG GGUAGGGCCUAAAAGUCGGCUGAUUCUCA	=
190-A3-004	36	GAGAUAGG GGUAGGGCCUAAAAGUCGG CUGAUUCUC	=
190-A3-007	29	GG GGUAGGGCCUAAAAGUCGGCUGAUUCU	<<<

nucleótidos terminales en el extremo 5' y 3' que se pueden hibridar entre sí (negrita) nt.:= nucleótidos

nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF-1

</<</<<<:= más débil (<), mucho más débil (<<) o aún mucho más débil (=<<<) afinidad de la unión que 190-A3-001

Comp.:= Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión competitiva frente a 190-A3-001

*:= hibridación alternativa de los nucleótidos terminales

Fig. 6

Derivados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C 191-D5-001

Nombre	nt.	Secuencia: 5' -3'	Comp. frente a 191-D5-001	Comp. frente a 191-D5-007	K _d [nM]
191-D5-001	39	AGCGUGGCGA GGUUAAGGGCUAGAAGUCGG UCGACACGCU	<	<	0.73
191-D5-002	37	GCUGGCGA GGUUAAGGGCUAGAAGUCGG UCGACACGC	=		
191-D5-003	35	CGUGGCGA GGUUAAGGGCUAGAAGUCGG UCGACACG	=		
191-D5-004	33	CG-GGCGA GGUUAAGGGCUAGAAGUCGG UCGAC-CG	<		
191-D5-005	33	CG-GGCGA GGUUAAGGGCUAGAAGUCGG UCGCC-CG	=		
191-D5-006	31	CG--CGCA GGUUAAGGGCUAGAAGUCGG UCGC--CG	=		
191-D5-007	29	CG--G-GCA GGUUAAGGGCUAGAAGUCGG UC-C--CG	+		0.75
191-D5-010	27	G--G-GA GGUUAAGGGCUAGAAGUCGG UC-C--C	<		

nucleótidos terminales en el extremo 5' y 3' que se pueden hibridar entre sí (negrita) nt.:= nucleótidos

nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF-1 ::= afinidad de la unión igual a 191-D5-001/-007

</<</<<:= más débil (**<**), mucho más débil (**<<**) o aún mucho más débil (**<<<**) afinidad de unión que 191-D5-001/-007

Comp.:= Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión competitiva frente a 191-D5-001 o 191-D5-007, en donde ambos clones tienen una afinidad de la unión a SDF-1 idéntica a 191-D5-001

Fig. 7A

Derivados del ácido nucleico que se une a SDF-1 de Tipo C 191-D5-001

Nombre	nt.	Secuencia: 5' -3'	Comp. frente a 191-D5-007
191-D5-007	29	CG--G-GA GGUUAGGGCUAGAGUCGG UC-C--CG	
191-D5-010	27	G--G-GA GGUUAGGGCUAGAGUCGG UC-C--C	<
191-D5-017	27	CCGC GGUUAGGGCUAGAGUCGG GCGG	<
191-D5-029	27	CCCG GGUUAGGGCUAGAGUCGG CGGG	<
191-D5-024	27	GGCG GGUUAGGGCUAGAGUCGG CGCC	<
191-D5-017-29a	29	CCCG GGUUAGGGCUAGAGUCGG GCGG	<
191-D5-017-29b	29	GCCGC GGUUAGGGCUAGAGUCGG GCGC	<
191-D5-019-29a	29	CCCC GGUUAGGGCUAGAGUCGG CGGG	<
191-D5-024-29a	29	CGCC GGUUAGGGCUAGAGUCGG CGCC	=
191-D5-024-29b	29	GGCC GGUUAGGGCUAGAGUCGG CGCC	=

nucleótidos terminales en el extremo 5' y 3' que se pueden hibridar entre sí (negrita)

nt.:= nucleótidos

nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF-1

:= afinidad de la unión igual a 191-D5-007

</<</<<:= más débil (<), mucho más débil (<<)

(<<<) afinidad de la unión que 191-D5-007

o aún más débil

Comp.:= Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión competitiva frente a 191-D5-007

Fig. 7B

Derivados del ácido nucleico que se une a SDF de Tipo C 197-B2

Nombre	nt.	Secuencia: 5' -3'	Comp. frente a 197-B2	Comp. frente a 191-D5-007	TAX IC ₅₀ [nM]
197-B2	39	GUGCUGCGGG GGUAGGGCUAGAAAGUCGG CCUGCAGCAC	=	=	0.1-0.2
197-B2-001	37	UCCUGCGGG GGUAGGGCUAGAAAGUCGG CCUGCAGCA	=		
197-B2-002	35	GCUGCGGG GGUAGGGCUAGAAAGUCGG CCUGCAGC	=		
197-B2-003	33	CUGC GGGGGGUAGGGCUAGAAAGUCGG CCUGCAG	=		
197-B2-004	31	UGC GGGGGGUAGGGCUAGAAAGUCGG CCUGC	=		
197-B2-005	29	GCGGG GGUAGGGCUAGAAAGUCGG CCUGC	=		
197-B2-006	29	GCCGG GGUAGGGCUAGAAAGUCGG CCGCC	=		0.1-0.2
197-B2-006-31a	31	GGCCGG GGUAGGGCUAGAAAGUCGG CCGCC	=		
197-B2-006-31b	31	CGCCGG GGUAGGGCUAGAAAGUCGG CCGCC	=		

nucleótidos terminales en el extremo 5' y 3' que se pueden hibridar entre sí (negrita)

nucleótidos que pueden comprender principalmente un motivo que se une a SDF

i.a.:= inactivo

nt.:= nucleótidos

:= afinidad de la unión igual a 197-B2 o 191-D5-007

</<</<<<:= más débil (**<**), mucho más débil (**<<**) o aún mucho más débil (**<<<**) afinidad de la unión que 197-B2 o 191-D5-007

Comp.:= Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión competitiva frente a 197-B2 o 191-D5-007 en donde ambos clones tienen una afinidad de unión a SDF-1 idéntica

TAX:= Los clones se analizaron como Spiegelmers en un ensayo de quimiataxis *in vitro* en un cultivo celular

Fig. 8

Otros ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 (ácidos nucleicos que se unen a SDF-1 de Tipo D)

Nombre	nt.	Secuencia: 5'-3'	PD K _b [nM]
194-A2-001	48	CGUGG UCCGGUUGUGUCAGGUCUAUUCGCCCCCGGUGCAGGGCAU CCGCG	12.0
196-B12-003	49	GCAGUGAGCCGGACGUGA UAGGACAGAGCUGA UCCCGCUCAGGUGAG	7.6
196-B12-004	49	CAACAGCAGUGUGACCGGACCGUGA UAGGACAGAGCUGA UCCCGCUCAG	5.3

nucleótidos terminales en el extremo 5' y 3' que se pueden hibridar entre sí (negrita)

nt.:= nucleótidos

PD.:= Los clones se analizaron como aptámeros en un ensayo de unión por captación

Fig. 9

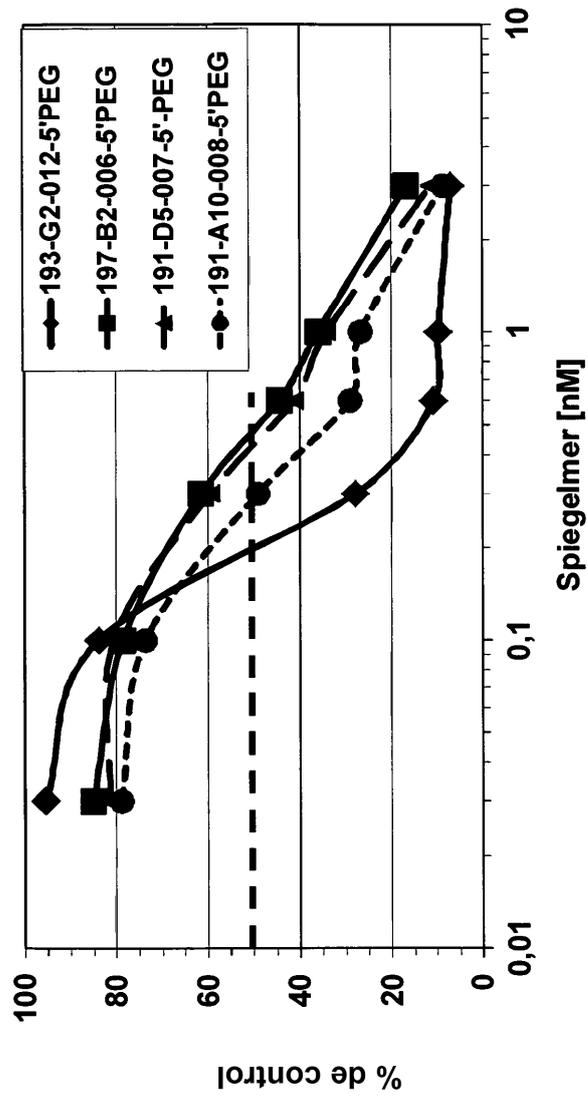
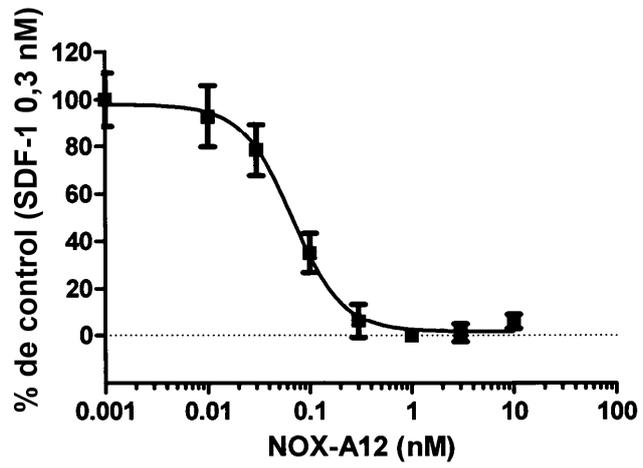


Fig. 10

A



B

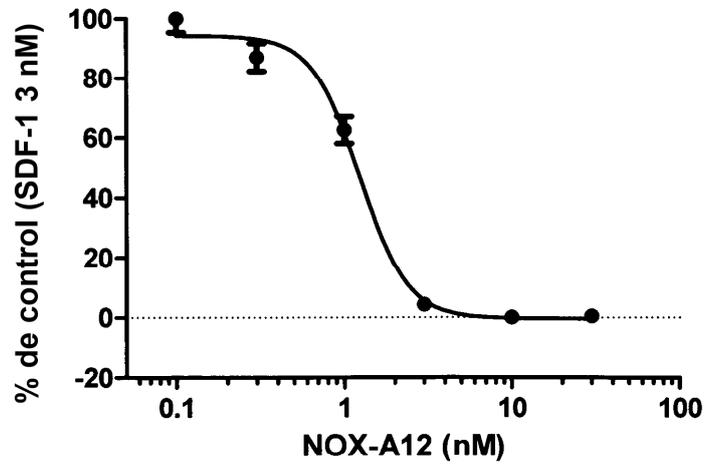


Fig. 11

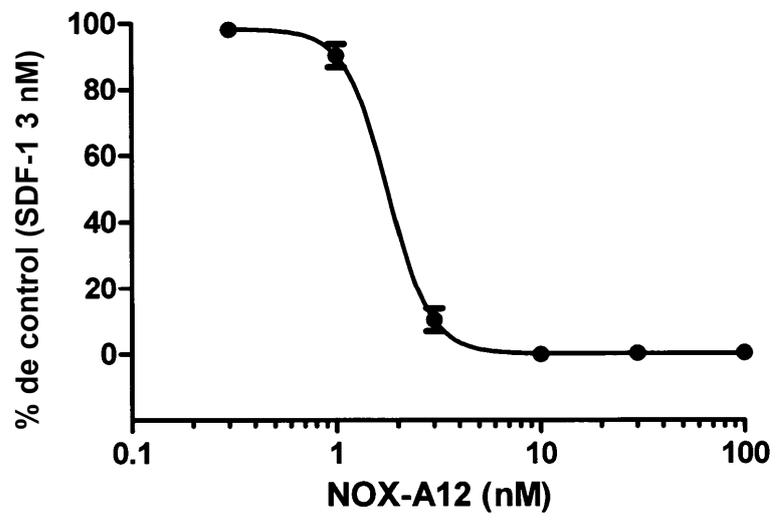


Fig. 12

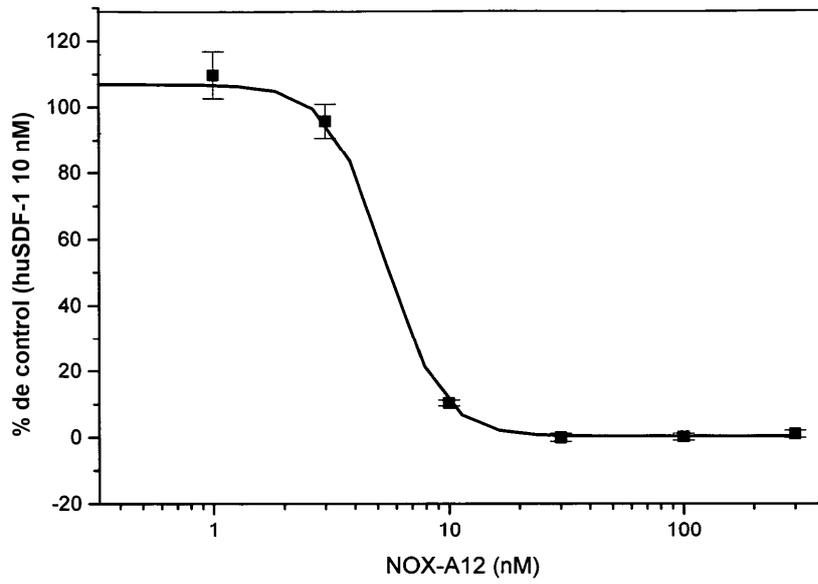


Fig. 13

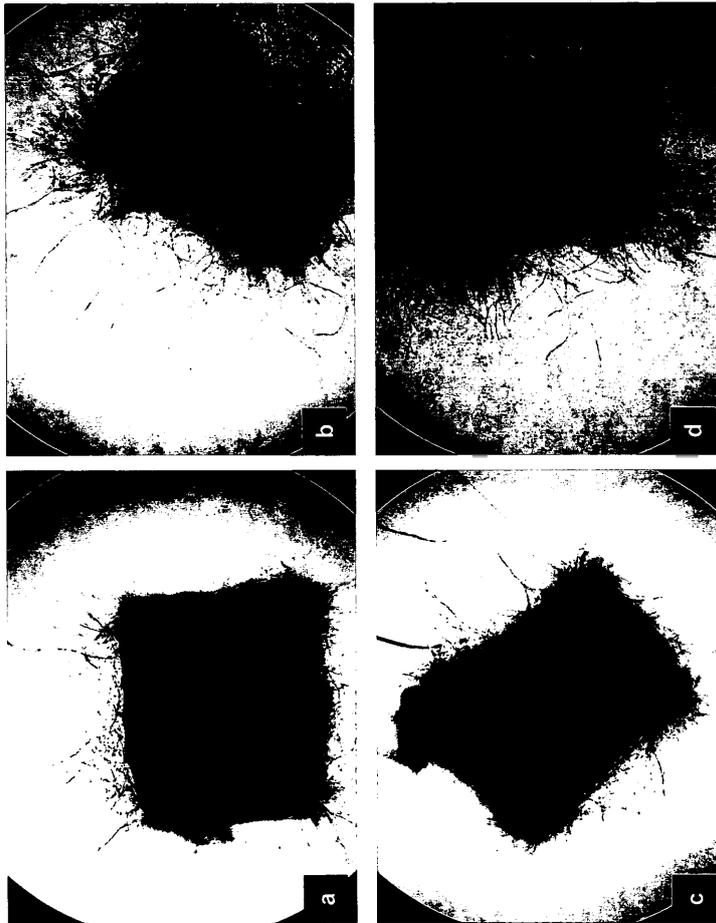


Fig. 14

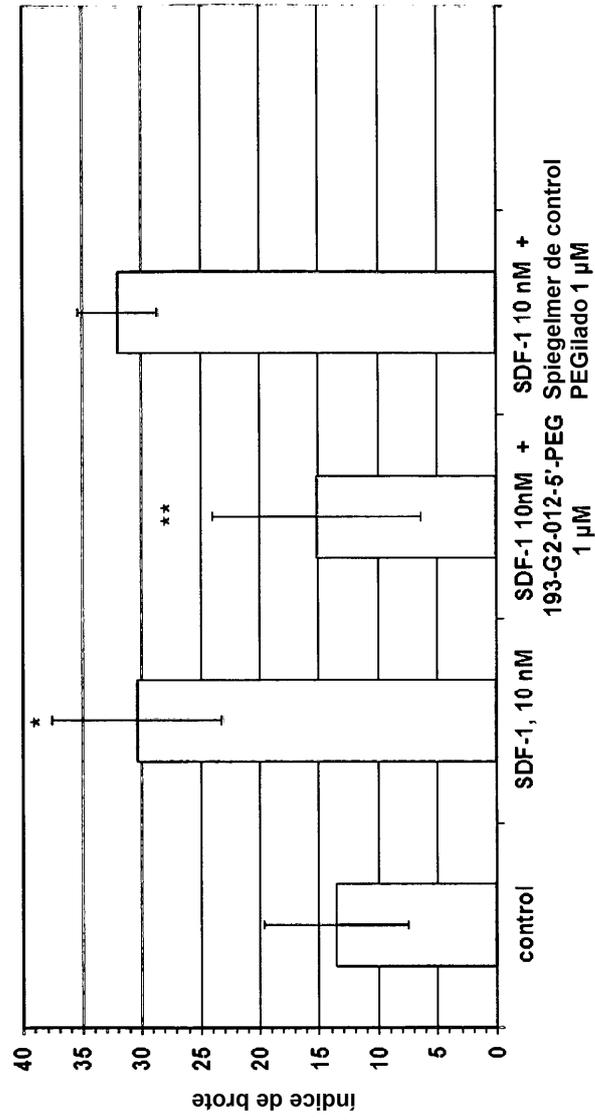


Fig. 15

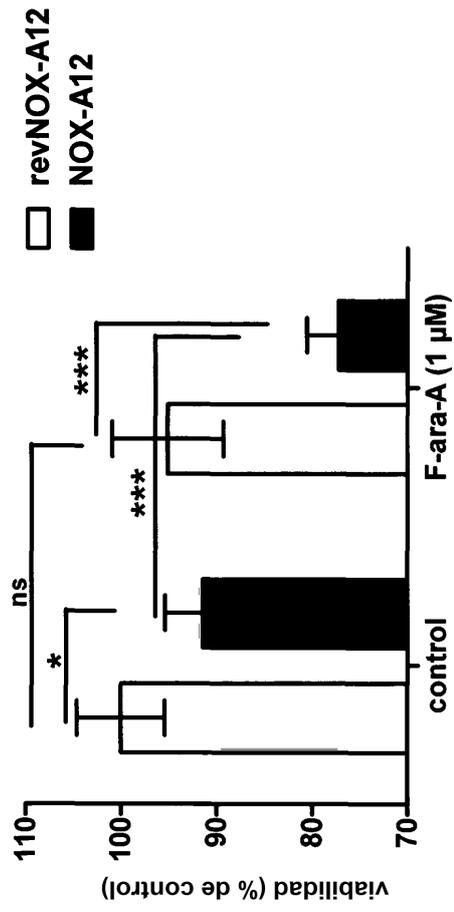


Fig. 16

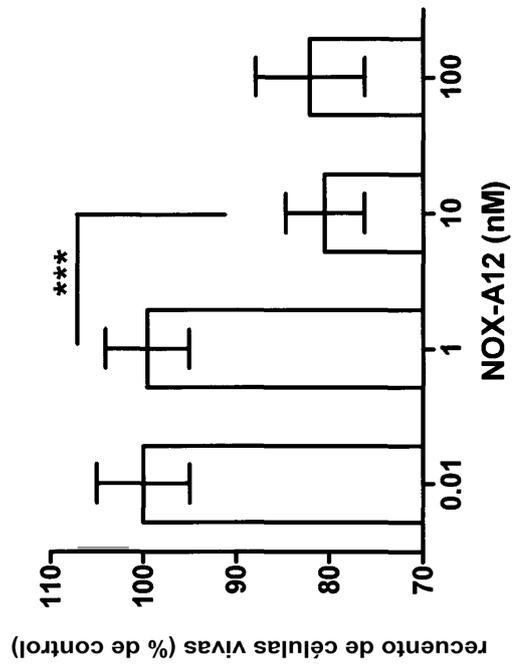


Fig. 17

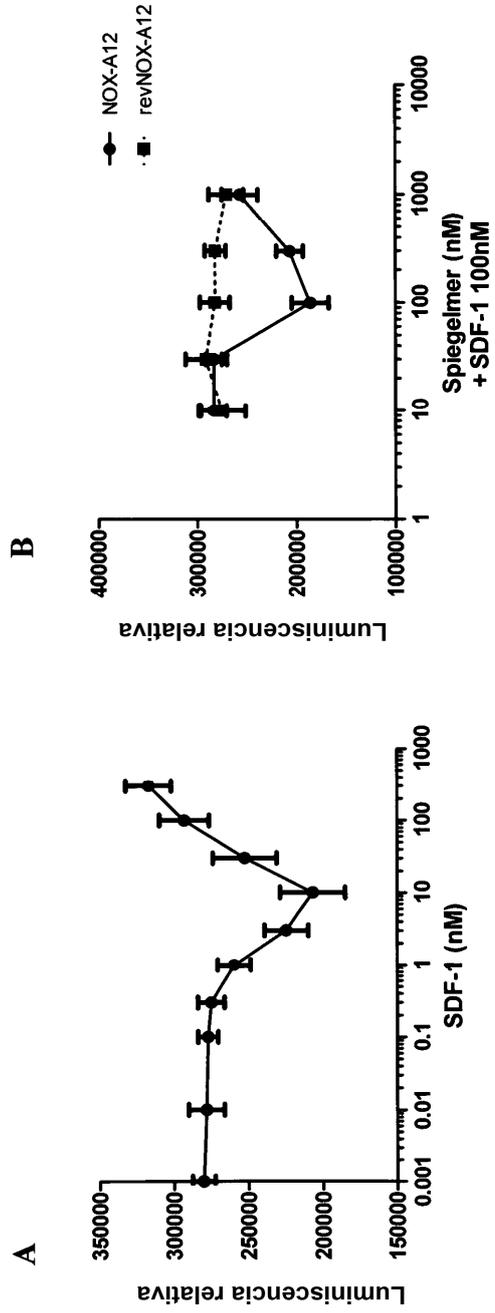


Fig. 18