

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 708 650**

51 Int. Cl.:

C12N 15/11 (2006.01)

C12N 5/00 (2006.01)

C12N 15/00 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.03.2014 PCT/US2014/029606**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.09.2014 WO14153209**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2014 E 14770117 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2018 EP 2970970**

54 Título: **Oligonucleótidos antisentido para el tratamiento de células madre tumorales**

30 Prioridad:

14.03.2013 US 201361785269 P

15.03.2013 US 201361790072 P

07.02.2014 US 201461937438 P

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

10.04.2019

73 Titular/es:

ANDES BIOTECHNOLOGIES GLOBAL, INC.
(100.0%)

863 Mitten Road, Suite 101
Burlingame, CA 94010, US

72 Inventor/es:

BURZIO ERIZ, LUIS O.;
BURZIO MENENDEZ, VERONICA A. y
VILLEGAS OLAVARRIA, JAIME E.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 708 650 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

Oligonucleótidos antisentido para el tratamiento de células madre tumorales

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a oligonucleótidos complementarios a un ARN mitocondrial quimérico no codificante para su uso en métodos de tratamiento y supresión de la metástasis en un individuo tratado anteriormente contra el cáncer. La divulgación también se refiere a oligonucleótidos complementarios a un ARN mitocondrial quimérico no codificante y a su uso en el tratamiento de un cáncer resistente (por ejemplo, un cáncer asociado al VPH resistente) en un individuo.

Antecedentes de la invención

15 El cáncer es una malignidad celular cuyo rasgo característico, la pérdida del control normal del ciclo celular, da como resultado un crecimiento no regulado, falta de diferenciación y capacidad para invadir otros tejidos y hacer metástasis. La carcinogénesis es un proceso de múltiples etapas mediante el cual una célula normal se transforma en una célula maligna (McKinnell et al., *"The Biology Basis of Cancer"*, Capítulo 3, 1998). La etiología del cáncer es compleja e incluye la alteración de la regulación del ciclo celular, anomalías cromosómicas y la rotura de los cromosomas. Se cree que los agentes infecciosos (por ejemplo, virus oncógenos), los productos químicos, la radiación (por ejemplo, la radiación ultravioleta o ionizante) y los trastornos inmunitarios son las principales causas de la carcinogénesis (McKinnell et al., *"The Biological Basis of Cancer"*, Capítulo 3, 1998).

25 Las pruebas recientes respaldan la opinión de que los tumores se organizan en una jerarquía de poblaciones celulares heterogéneas con diferentes propiedades biológicas. Se han propuesto dos modelos para explicar esta heterogeneidad dentro de los tumores y para el crecimiento tumoral. Un modelo de este tipo se basa en células madre cancerosas (CMC) que se cree que son responsables de aspectos del cáncer tales como el inicio, la progresión, la metástasis y la recidiva. Véase Chen et al., *Acta Pharmacol Sin.*, 34 (6): 732-740, 2013; Ponti et al., *Cancer Res*, 65 (13): 5506-11, 2005; Singh et al., *Cancer Res*, 63: 5821-5828, 2003; y Feng et al., *Oncology Reports*, 22: 1129-1134, 2009. Aunque las CMC en general representan una población muy pequeña de la población tumoral global, generalmente se consideran una subpoblación de inicio autorrenovable de células tumorales o una pequeña población de células cancerosas que pueden dar origen a nuevos tumores. Se han identificado CMC en una serie de cánceres, incluyendo, entre otros, cánceres de mama, cerebro, hemáticos, de hígado, riñón, cuello uterino, ovario, colon y pulmón, entre otros. Véase Ponti et al., *Cancer Res*, 65 (13): 5506-11, 2005; Feng et al., *Oncology Reports*, 22: 1129-1134, 2009; Zhang et al., *Cancer Res*, 68 (11): 4311: 4320, 2008; Singh et al., *Cancer Res*, 63: 5821-5828, 2003; Clarke et al., *Cancer Res*, 66: 9339, 2006; Sendurai et al., *Cell*, 133: 704, 2008; Ohata et al., *Cancer Res*, 72: 5101, 2012; y Mukhopadhyay et al., *Plos One*, 8 (11): e78725, 2013).

40 La resección quirúrgica de un tumor o tumores o de metástasis que se originan a partir de uno o más tumores primarios seguida de la administración sistémica de terapia antineoplásica es el protocolo clínico establecido para el tratamiento de varios cánceres. Aunque es satisfactorio para el tratamiento de algunos tipos de cáncer, una complicación bien conocida del tratamiento del cáncer es la supervivencia de células tumorales residuales o CMC que no se eliminan eficazmente, lo que puede dar como resultado una recaída después de la remisión, regresando el cáncer al sitio primario de formación del tumor o en sitios distantes debido a la metástasis. Recientemente, se descubrió que las CMC también pueden contribuir a una recaída después de la remisión debido a la resistencia a la quimioterapia. Véase Domingo-Domenech et al., *Cancer Cell*, 22 (3): 373, 2012. Por tanto, existe la necesidad de desarrollar agentes terapéuticos que puedan dirigirse a células que contribuyan a la recaída y la metástasis (por ejemplo, las CMC). El descubrimiento de dichos agentes terapéuticos puede permitir el desarrollo de un tratamiento útil para prevenir la recidiva del cáncer después de la remisión (es decir, la recaída) o prevenir la propagación del tumor primario a los sitios secundarios (es decir, la metástasis). Véase Clarke et al., *Cancer Res*, 66: 9339, 2006.

Sumario de la invención

55 En el presente documento se desvelan, entre otras cosas, métodos para suprimir la metástasis de un cáncer en un individuo que comprenden administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS) o una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARNmtncS), en los que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable y en los que el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia. En algunas realizaciones, el oligonucleótido es suficientemente complementario a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante humano que comprende: un ARN ribosómico mitocondrial 16S antisentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida o un ARN ribosómico mitocondrial 16S sentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede ser complementario a la molécula de ARNmtncAS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el

oligonucleótido puede ser al menos un 85 % complementario a la molécula de ARNm_{nc}AS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el uno o más oligonucleótidos pueden comprender una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con al menos un agente antineoplásico. En una realización adicional, el al menos un agente antineoplásico se selecciona entre el grupo que consiste en remicade, docetaxel, celecoxib, melfalán, dexametasona, esteroides, gemcitabina, cisplatino, temozolomida, etopósido, ciclofosfamida, temodar, carboplatino, procarbazona, gliadel, tamoxifeno, topotecán, metotrexato, gefitinib, taxol, taxotere, fluorouracilo, leucovorina, irinotecán, xeloda, CPT-11, interferón alfa, interferón alfa pegilado, capecitabina, cisplatino, tiotepa, fludarabina, carboplatino, daunorrubicina liposómica, citarabina, doxetaxol, paclitaxel, vinblastina, IL-2, GM-CSF, dacarbazina, vinorelbina, ácido zoledrónico, palmitronato, biaxina, busulfán, prednisona, bortezomib, bifosfonato, trióxido de arsénico, vincristina, doxorubicina, paclitaxel, ganciclovir, adriamicina, fosfato de sodio de estramustina, sulindaco y etopósido. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se administran secuencialmente. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se administran simultáneamente. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con una radioterapia. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con cirugía. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con una terapia de trasplante de células madre alógeno. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con una terapia de trasplante de células madre autólogo. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el individuo puede haber sido tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia que comprendiera quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de los mismos. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el cáncer en el individuo puede haber recaído después del tratamiento con uno o más de entre bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona, doxorubicina, interferón alfa, lenalidomida, melfalán, interferón pegilado, alfa prednisona, talidomida y vincristina. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, en las que el cáncer puede ser un cáncer sólido. En una realización adicional, el cáncer sólido es cáncer de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer de cérvix, cáncer de colon, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de hígado y vías biliares, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de boca, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de faringe, cáncer de próstata, cáncer de riñón, cáncer de testículo o cáncer de tiroides. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, en donde el cáncer puede ser un cáncer no sólido. En una realización adicional, el cáncer no sólido es mieloma múltiple, leucemia o linfoma. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede reducir el número de células madre cancerosas en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede inhibir el crecimiento tumoral y/o la metástasis en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido.

En un aspecto, en el presente documento se desvelan métodos para prevenir la recaída del cáncer en un individuo que comprenden administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARN_{mtnc}AS) o una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARN_{mtnc}S), en los que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable y en los que el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia. En una realización adicional, el oligonucleótido es suficientemente complementario a una molécula de ARN mitocondrial quimérica no codificante humana que comprende: un ARN ribosómico mitocondrial 16S antisentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida o un ARN ribosómico mitocondrial 16S sentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede ser complementario a la molécula de ARNm_{nc}AS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede ser al menos un 85 % complementario a la molécula de ARNm_{nc}AS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el uno o más oligonucleótidos pueden comprender una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con al menos un agente antineoplásico. En una realización adicional, el al menos un agente antineoplásico se selecciona entre el grupo que consiste en remicade, docetaxel, celecoxib, melfalán, dexametasona, esteroides, gemcitabina, cisplatino, temozolomida, etopósido, ciclofosfamida, temodar, carboplatino, procarbazona, gliadel, tamoxifeno, topotecán, metotrexato, gefitinib, taxol, taxotere, fluorouracilo, leucovorina, irinotecán, xeloda, CPT-11, interferón alfa, interferón alfa pegilado, capecitabina, cisplatino, tiotepa, fludarabina, carboplatino, daunorrubicina liposómica, citarabina, doxetaxol, paclitaxel, vinblastina, IL-2, GM-CSF, dacarbazina, vinorelbina, ácido zoledrónico, palmitronato, biaxina, busulfán, prednisona, bortezomib, bifosfonato, trióxido de arsénico, vincristina, doxorubicina, paclitaxel, ganciclovir, adriamicina, fosfato de sodio de estramustina, sulindaco y etopósido. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se

5 administran secuencialmente. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se administran simultáneamente. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con una radioterapia. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con cirugía. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con una terapia de trasplante de células madre alógeno. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con una terapia de trasplante de células madre autólogo. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el individuo puede haber sido tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia que comprendiera quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de los mismos. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el cáncer en el individuo puede haber recaído después del tratamiento con uno o más de entre bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona, doxorubicina, interferón alfa, lenalidomida, melfalán, interferón pegilado, alfa prednisona, talidomida y vincristina. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, en las que el cáncer puede ser un cáncer sólido. En una realización adicional, el cáncer sólido es cáncer de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer de cérvix, cáncer de colon, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de hígado y vías biliares, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de boca, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de faringe, cáncer de próstata, cáncer de riñón, cáncer de testículo o cáncer de tiroides. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, en donde el cáncer puede ser un cáncer no sólido. En una realización adicional, el cáncer no sólido es mieloma múltiple, leucemia o linfoma. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede reducir el número de células madre cancerosas en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede inhibir el crecimiento tumoral y/o la metástasis en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido.

25 En otro aspecto más, en el presente documento se desvelan métodos para el tratamiento del cáncer metastásico en un individuo que comprenden administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS) o una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARNmtncS), en los que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable y en los que el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia. En una realización adicional, el oligonucleótido es suficientemente complementario a una molécula de ARN mitocondrial quimérica no codificante humana que comprende: un ARN ribosómico mitocondrial 16S antisentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida o un ARN ribosómico mitocondrial 16S sentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede ser complementario a la molécula de ARNmtncAS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede ser al menos un 85 % complementario a la molécula de ARNmtncAS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el uno o más oligonucleótidos pueden comprender una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con al menos un agente antineoplásico. En una realización adicional, el al menos un agente antineoplásico se selecciona entre el grupo que consiste en remicade, docetaxel, celecoxib, melfalán, dexametasona, esteroides, gemcitabina, cisplatino, temozolomida, etopósido, ciclofosfamida, temodar, carboplatino, procarbazona, gliadel, tamoxifeno, topotecán, metotrexato, gefitinib, taxol, taxotere, fluorouracilo, leucovorina, irinotecán, xeloda, CPT-11, interferón alfa, interferón alfa pegilado, capecitabina, cisplatino, tiotepa, fludarabina, carboplatino, daunorubicina liposómica, citarabina, doxetaxol, paclitaxel, vinblastina, IL-2, GM-CSF, dacarbazina, vinorelbina, ácido zoledrónico, palmitronato, biacina, busulfán, prednisona, bortezomib, bifosfonato, trióxido de arsénico, vincristina, doxorubicina, paclitaxel, ganciclovir, adriamicina, fosfato de sodio de estramustina, sulindaco y etopósido. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se administran secuencialmente. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se administran simultáneamente. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con una radioterapia. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con cirugía. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con una terapia de trasplante de células madre alógeno. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con una terapia de trasplante de células madre autólogo. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el individuo puede haber sido tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia que comprendiera quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de los mismos. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el cáncer en el individuo puede haber recaído después del tratamiento con uno o más de entre bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona, doxorubicina, interferón alfa, lenalidomida, melfalán, interferón pegilado, alfa prednisona, talidomida y vincristina. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, en las que el cáncer puede ser un cáncer sólido. En una realización adicional, el cáncer sólido es cáncer de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer de cérvix, cáncer de colon, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de hígado y vías biliares, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de boca, cáncer de

ovario, cáncer de páncreas, cáncer de faringe, cáncer de próstata, cáncer de riñón, cáncer de testículo o cáncer de tiroides. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, en donde el cáncer puede ser un cáncer no sólido. En una realización adicional, el cáncer no sólido es mieloma múltiple, leucemia o linfoma. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede reducir el número de células madre cancerosas en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede inhibir el crecimiento tumoral y/o la metástasis en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido.

En otro aspecto más, en el presente documento se desvelan métodos para el tratamiento de un cáncer resistente (por ejemplo, un cáncer asociado al VPH resistente) en un individuo que comprenden administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS) o una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARNmtncS), en los que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable. En una realización adicional, el oligonucleótido es suficientemente complementario a una molécula de ARN mitocondrial quimérica no codificante humana que comprende: un ARN ribosómico mitocondrial 16S antisentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida o un ARN ribosómico mitocondrial 16S sentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede ser complementario a la molécula de ARNmtncAS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede ser al menos un 85 % complementario a la molécula de ARNmtncAS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el uno o más oligonucleótidos pueden comprender una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con al menos un agente antineoplásico. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se administran secuencialmente. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se administran simultáneamente. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con una radioterapia. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede administrarse en combinación con cirugía. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede reducir el número de células madre cancerosas en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido puede inhibir el crecimiento tumoral y/o la metástasis en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido.

En otro aspecto, en el presente documento se proporcionan kits que comprenden uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS) o una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARNmtncS) e instrucciones para poner en práctica cualquier método desvelado en el presente documento. La invención proporciona un oligonucleótido para su uso en un método:

- (a) de supresión de la metástasis de un cáncer en un individuo; o
- (b) para el tratamiento del cáncer metastásico en un individuo;

en el que el oligonucleótido es complementario a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS) o complementario a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARNmtncS) y en el que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con la molécula de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable y en el que el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia.

Breve descripción de los dibujos

La **Figura 1** representa un esquema general del procedimiento experimental y el ensayo utilizados en el presente documento para medir el efecto de los oligonucleótidos antisentido dirigidos a ARNmtncAS sobre el número de esferas formadas en células de cáncer de colon, en función de la capacidad específica de las células madre cancerosas para formar estos cuerpos esféricos.

La **Figura 2** representa ejemplos representativos de esferas formadas en células de cáncer de colon primario después de ningún tratamiento, tratamiento solo con Lipofectamine, tratamiento con un oligonucleótido de control (Oligo 154 de control) o tratamiento con un oligonucleótido antisentido (OAS) dirigido a ARNmtncAS (OAS 1537S). El tratamiento con OAS 1537S suprimió la formación de esferas.

La **Figura 3** representa una cuantificación de la capacidad de las células de tumor de colon primarias para formar esferas. Aproximadamente el 0,6 % del número total de células sembradas pudieron formar esferas. Las células transfectadas con OAS 1537S no pudieron formar esferas.

La **Figura 4** muestra ejemplos representativos de esferas formadas en células de la estirpe celular de cáncer de colon HCT-116 después de ningún tratamiento, tratamiento solo con Lipofectamina, tratamiento con un

oligonucleótido de control (Oligo 154 de control) o tratamiento con un oligonucleótido antisentido dirigido a ARNm_{mtncAS} (OAS 1107S). El tratamiento con OAS 1107S suprimió la formación de esferas.

La **Figura 5** representa una cuantificación de la capacidad de las células de cáncer de colon HCT-116 para formar esferas. Aproximadamente el 0,3 % del número total de células sembradas pudieron formar esferas. Las células transfectadas con OAS 1107S no pudieron formar esferas.

La **Figura 6** representa un esquema general del procedimiento experimental y el ensayo utilizados en el presente documento para medir el efecto de los oligonucleótidos antisentido dirigidos a ARNm_{mtncAS} sobre el número de esferas formadas por la estirpe celular SiHa de cáncer de cuello uterino y células de cultivo primario de tumores de cuello uterino. El ensayo se basa en la capacidad de las células madre cancerosas para formar esferas, también denominadas cuerpos esferoides.

La **Figura 7** representa ejemplos representativos de esferas formadas por la estirpe celular SiHa de cáncer de cuello uterino y células de cultivo primario de tumores de cuello uterino después de ningún tratamiento (NT), tratamiento con un oligonucleótido de control (Oligo 154 de control: OAS-C) o tratamiento con un oligonucleótido antisentido dirigido a ARNm_{mtncAS} (OAS 1537S), o tratamiento con cisplatino 45 µM (CISP). El tratamiento con el OAS 1537S suprimió la formación de esferas. Las células CerCa 3 obtenidas del cultivo primario, que está infectado con VPH 45, son resistentes al tratamiento con cisplatino en comparación con otras dos células obtenidas del cultivo primario, que están infectadas con VPH 16.

La **Figura 8** representa la cuantificación de la formación de esferas por la estirpe celular SiHa y células de tumor de cuello uterino primarias (CerCa 1, CerCa 2 y CerCa 3) con o sin tratamiento. Las células transfectadas con OAS 1537S no pudieron formar esferas. El cultivo primario de CerCa 3 infectadas con VPH 45 fue resistente al tratamiento con cisplatino, pero no al tratamiento con OAS 1537S.

La **Figura 9** representa la ausencia de recaída del tumor y la ausencia de nódulos metastásicos en los pulmones y el hígado de ratones tratados con OAS 1560S (cuadrados) pero no con Oligo 154 de control (círculos) después de la extirpación quirúrgica de tumores de melanoma intradérmicos.

La **Figura 10** representa la presencia de nódulos negros metastásicos de recaída tumoral en los pulmones e hígados de los ratones tratados con Oligo 154 de control, pero no en los pulmones e hígados de los ratones tratados con OAS 1560S.

La **Figura 11** representa la ausencia de recaída del tumor y la supervivencia completa de ratones tratados con OAS 1560S (triángulos) pero no con OAS 154 de control (cuadrados) después de la extirpación quirúrgica de tumores de carcinoma de riñón intradérmico.

La **Figura 12** representa la ausencia de recaída y supervivencia de ratones tratados con OAS 1560S (cuadrados) pero no con OAS 154 de control (círculos) después de la extirpación quirúrgica de tumores de carcinoma de riñón intradérmicos.

La **Figura 13** representa la ausencia de recaída tumoral y la supervivencia completa de ratones tratados con OAS 1560S, pero no con OAS 154 de control, después de la extirpación quirúrgica de tumores de carcinoma de melanoma intradérmicos.

La **Figura 14** representa la ausencia de tumores y la supervivencia completa de ratones tratados con OAS 1560S, pero no con OAS 154 de control, después de la extirpación quirúrgica de tumores de carcinoma de vejiga subcutáneos, ip indica administración intraperitoneal e iv indica administración intravenosa.

La **Figura 15** representa la reducción en los tumores y el aumento en la supervivencia de ratones Rag -/- tratados con OAS 1537S, pero no con OAS 154 de control, después de la extirpación de un tumor de melanoma A375 humano.

Descripción detallada

En el presente documento se desvelan, entre otras cosas, composiciones que comprenden uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARN_{mtncAS}) o una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARN_{mtncS}) y usos de las mismas para suprimir la metástasis de un cáncer en un individuo. En determinadas realizaciones, la divulgación proporciona composiciones que comprenden uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARNm_{mtncAS} o a una molécula de ARNm_{mtncS} y usos de las mismas para tratar o prevenir la recaída de un cáncer en un individuo. En determinadas realizaciones, la divulgación proporciona composiciones que comprenden uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARNm_{mtncAS} o a una molécula de ARNm_{mtncS} y usos de las mismas para tratar el cáncer metastático en un individuo. En determinadas realizaciones, la divulgación proporciona composiciones que comprenden uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARNm_{mtncAS} o a una molécula de ARNm_{mtncS} y usos de las mismas para tratar un cáncer resistente (por ejemplo, un cáncer resistente asociado al VPH) en un individuo. En algunas de las realizaciones del presente documento, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia (por ejemplo, quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas).

I. Técnicas generales

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología molecular, microbiología, biología celular, bioquímica, química de ácidos nucleicos e inmunología, que son bien conocidas por los expertos en la materia. Dichas técnicas se explican en detalle en la bibliografía, tal como *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, segunda edición (Sambrook et al., 1989) y *Molecular Cloning: A Laboratory*

Manual, tercera edición (Sambrook y Russel, 2001), (denominados conjuntamente en el presente documento "Sambrook"); *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel et al., editores, 1987, incluyendo los suplementos hasta 2001); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis et al., editores, 1994); Harlow y Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, Nueva York; Harlow y Lane (1999) *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (denominados conjuntamente en el presente documento "Harlow y Lane"), Beaucage et al. editores, *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry* John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 2000), *Handbook of Experimental Immunology*, 4ª edición (D.M. Weir y C.C. Blackwell, editores, Blackwell Science Inc., 1987); y *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J.M. Miller y M.P. Calos, editores, 1987). Otras referencias útiles incluyen *Harrison's Principles of Internal Medicine* (McGraw Hill; J. Isseleacher et al., editores), *Dubois' Lupus Erythematosus* (5ª ed.; D.J. Wallace y B.H. Hahn, editores).

II. Definiciones

Antes de describir la presente invención en detalle, ha de entenderse que la presente invención no se limita a composiciones o sistemas biológicos particulares, que pueden, por supuesto, variar. También ha de entenderse que la terminología utilizada en el presente documento tiene el propósito de describir realizaciones particulares solamente y no tiene por objeto ser limitante.

Como se usa en el presente documento, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen referencias plurales a menos que se indique lo contrario. De este modo, por ejemplo, la referencia a "un oligonucleótido" opcionalmente incluye una combinación de dos o más de dichos oligonucleótidos.

Se entiende que los aspectos y realizaciones de la invención que se describen en el presente documento incluyen "que comprende", "que consiste" y "que consiste esencialmente en" aspectos y realizaciones.

Una molécula de ácido nucleico "aislada" (por ejemplo, un "oligonucleótido aislado") es una molécula de ácido nucleico que se identifica y se separa de al menos una molécula de ácido nucleico contaminante con la que normalmente está asociada en la fuente natural del ácido nucleico. Una molécula de ácido nucleico aislada no está en la forma o el entorno en que se encuentra en la naturaleza. Las moléculas de ácido nucleico aisladas, por tanto, se distinguen de la molécula de ácido nucleico como existe en las células naturales.

Como se usa en el presente documento, la expresión "oligonucleótido complementario a un ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido" o "oligonucleótido complementario a un ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido" se refiere a un ácido nucleico que tiene suficiente complementariedad de secuencia con un ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido objetivo o un ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido objetivo, respectivamente. Un oligonucleótido "suficientemente complementario" a un ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido objetivo o un ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido objetivo significa que el oligonucleótido tiene una secuencia suficiente para hibridar con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable.

El término "oligonucleótido" se refiere a un polímero corto de nucleótidos y/o análogos de nucleótidos. Una "composición oligonucleotídica" desvelada en el presente documento incluye cualquier agente, compuesto o composición que contenga uno o más oligonucleótidos e incluye, por ejemplo, composiciones que comprenden oligonucleótidos monocatenarios y/o bicatenarios (bc), incluyendo, por ejemplo, ARN monocatenario, ADN monocatenario, oligonucleótidos híbridos de ADN/ADN y ARN/ADN, así como oligonucleótidos derivados/modificados de los mismos. Dichas "composiciones oligonucleotídicas" también pueden incluir productos oligonucleotídicos amplificados, por ejemplo, productos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Una "composición oligonucleotídica" desvelada en el presente documento también puede incluir composiciones reconocidas en la técnica diseñadas para imitar la actividad de oligonucleótidos, tales como moléculas de ácido nucleico peptídico (ANP).

La frase "corresponde a" o "secuencia que corresponde a" como se relaciona con el ARN que se describe en el presente documento (por ejemplo, ARNmtncAS), indica que el ARN tiene una secuencia que es idéntica o sustancialmente igual a un ARN o un ARN codificado por un ADN análogo, que se describe en el presente documento. Por ejemplo, un ARNmtncAS que corresponde a la SEQ ID NO: 4 indica que el ARNmtncAS tiene una secuencia que es idéntica o sustancialmente igual a la del ARN de la SEQ ID NO: 203 o el ARN codificado por el ADN análogo de la SEQ ID NO: 4.

"Porcentaje (%) de identidad de secuencia de ácido nucleico" o "porcentaje (%) de complementariedad" con respecto a una secuencia de nucleótidos de referencia (por ejemplo, secuencia ARNmtncS o secuencia ARNmtncAS) se define como el porcentaje de restos de ácido nucleico en una secuencia candidata (por ejemplo, secuencia de oligonucleótidos) que son idénticos a los restos de ácido nucleico de la secuencia de nucleótidos de referencia, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para conseguir el porcentaje máximo de identidad de secuencia y no considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. La alineación con el propósito de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de ácido nucleico puede conseguirse de diversas maneras que están dentro de la técnica, por ejemplo, usando un software informático

disponible públicamente tal como BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la materia pueden determinar los parámetros apropiados para alinear secuencias, incluidos cualesquier algoritmos necesarios para conseguir la alineación máxima en la longitud completa de las secuencias que se comparan. Por ejemplo, el % de identidad de secuencia de ácido nucleico de una secuencia de ácido nucleico A dada, con o frente a una secuencia de ácido nucleico B dada (que puede como alternativa parafrasearse como una secuencia de ácido nucleico A dada que tiene o comprende un determinado % de identidad de secuencia de ácido nucleico en, con o frente a una secuencia de ácido nucleico B dada) se calcula de la siguiente manera:

$$100 \text{ veces la fracción } X/Y$$

donde X es el número de restos de ácido nucleico puntuados como coincidencias idénticas por la secuencia en esa alineación del programa de A y B, y donde Y es el número total de restos de ácido nucleico en B. Se apreciará que cuando la longitud de la secuencia de ácido nucleico A no sea igual a la longitud de la secuencia de ácido nucleico B, el % de identidad de secuencia de ácido nucleico de A con respecto a B no será igual al % de identidad de secuencia de ácido nucleico de B con respecto a A.

Un "trastorno" o "enfermedad" es cualquier afección que se beneficiaría del tratamiento con una sustancia/molécula o un método que se desvela en el presente documento. Esto incluye trastornos o enfermedades crónicos y agudos, incluyendo aquellas afecciones patológicas que predisponen al mamífero al trastorno en cuestión. En una realización, el trastorno o enfermedad es un cáncer. En otra realización, el trastorno o enfermedad es un cáncer metastásico.

El término "cáncer" se refiere a o describe la afección fisiológica en los mamíferos que se caracteriza normalmente por un crecimiento/proliferación celular no regulado. Los ejemplos de cáncer incluyen, pero no se limitan a, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia.

Las expresiones "cáncer metastásico" o "metástasis del cáncer" se refieren a un cáncer primario susceptible de metástasis o cáncer que se ha diseminado (es decir, metastatizó) desde un cáncer primario, tejido canceroso primario o células cancerosas primarias (por ejemplo, células madre cancerosas) desde una parte del cuerpo a una o más partes del cuerpo para formar un cáncer secundario o cánceres secundarios. El cáncer metastásico o la metástasis del cáncer también se refieren a un cáncer localmente avanzado que se ha diseminado desde un cáncer primario a los tejidos o ganglios linfáticos cercanos. El cáncer metastásico incluye tumores que se definen como de alto grado y/o estadio alto, por ejemplo, tumores con una puntuación de Gleason de 6 o más en el cáncer de próstata son más propensos a metastatizarse. El cáncer metastásico también se refiere a tumores definidos por uno o más marcadores moleculares que se correlacionan con la metástasis.

Las expresiones "cáncer recidivante", "recaída de un cáncer", "recaída del cáncer" o "recaída del tumor" se refieren a la reaparición o la recidiva de un cáncer después de un período de mejoría. Normalmente, el período de mejoría es después de la administración de una terapia que dio como resultado la disminución o desaparición de los signos y síntomas de cáncer. El período de mejoría puede ser la disminución o desaparición de todos los signos y síntomas de cáncer. El período de mejoría también puede ser la disminución o desaparición de algunos, pero no todos, los signos y síntomas de cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer recidivante es un cáncer que ha dejado de responder o no responde parcialmente a un fármaco o una terapia. Por ejemplo y sin limitación, el cáncer recidivante incluye cáncer en pacientes cuya primera progresión se produce en ausencia de cualquier tratamiento después de un tratamiento satisfactorio con un fármaco o una terapia; un cáncer en pacientes que progresan con un tratamiento o en los 60 días posteriores al tratamiento; y un cáncer en pacientes que progresan mientras reciben tratamiento.

Las expresiones "célula madre cancerosa", "células madre cancerosas" o "CMC" como se usan en el presente documento se refieren a una subpoblación de células tumorales o células cancerosas. Las células madre cancerosas poseen características asociadas a las células madre normales, tales como la capacidad de originar diferentes tipos celulares que se encuentran en un cáncer o tumor particular. Las células madre cancerosas tienen la capacidad de impulsar la producción o formación de un tumor o tumores a través de la autorrenovación y/o diferenciación. Se han identificado células madre cancerosas en diversos tipos de cáncer que incluyen, pero no se limitan a, cánceres de mama, cerebro, sangre, hígado, riñón, cuello uterino, ovario, colon y pulmón, entre otros.

Como se usa en el presente documento, "tratamiento" se refiere a la intervención clínica en un intento de alterar el curso natural del individuo o la célula que se está tratando y puede realizarse ya sea para la profilaxis o durante el curso de la patología clínica. Los efectos deseables del tratamiento incluyen la prevención de la aparición o la recidiva de la enfermedad, el alivio de los síntomas, la disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, la prevención o la supresión de la metástasis, la disminución de la velocidad de progresión de la enfermedad, la mejora o la paliación de la patología y la remisión o la mejora del pronóstico. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos que se describen en el presente documento se usan para prevenir o suprimir la metástasis. Un individuo se "trata" satisfactoriamente, por ejemplo, usando un oligonucleótido que se desvela en el presente documento si el individuo muestra una reducción observable y/o medible en ausencia de uno o más de los siguientes: reducción en el número de células cancerosas o ausencia de células cancerosas; reducción en el tamaño del tumor; inhibición (es decir, ralentización hasta cierto punto y preferentemente detención) de la

infiltración de células cancerosas en órganos periféricos incluyendo la propagación del cáncer en tejidos blandos y huesos; inhibición (es decir, ralentización hasta cierto punto y preferentemente detención) de la metástasis tumoral; inhibición, hasta cierto punto, del crecimiento tumoral o de la recaída tumoral; y/o alivio hasta cierto punto, uno o más de los síntomas asociados al cáncer específico; reducción de la morbilidad y la mortalidad y mejora de la calidad de vida.

Como se usa en el presente documento, el término "prevención" incluye proporcionar profilaxis con respecto a la aparición o la recidiva de una enfermedad en un individuo. Un individuo puede estar predispuesto o ser susceptible a un trastorno o estar en riesgo de desarrollar un trastorno, pero aún no habérsele diagnosticado el trastorno. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos que se describen en el presente documento se usan para prevenir o suprimir la metástasis.

Como se usa en el presente documento, un individuo "en riesgo" de desarrollar un trastorno puede o puede no tener una enfermedad o síntomas de enfermedad detectables, y puede o puede no haber mostrado una enfermedad o síntomas de enfermedad detectables antes de los métodos de tratamiento que se describen en el presente documento. "En riesgo" denota que un individuo tiene uno o más factores de riesgo, que son parámetros medibles que se correlacionan con el desarrollo de cáncer (por ejemplo, cáncer metastásico), como se sabe en la técnica. Un individuo que tenga uno o más de estos factores de riesgo tiene una mayor probabilidad de desarrollar el trastorno que un individuo sin uno o más de estos factores de riesgo.

Un "individuo" o "sujeto" puede ser un vertebrado, un mamífero o un ser humano. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, animales de granja (tales como vacas), animales deportivos, mascotas (tales como caballos), primates, ratones y ratas. Los individuos también incluyen animales de compañía incluyendo, pero no limitados a, perros y gatos. En un aspecto, un individuo es un ser humano.

Un "profesional de la salud", como se usa en el presente documento, puede incluir, sin limitación, médicos, enfermeras, asistentes médicos, técnicos de laboratorio, científicos investigadores, trabajadores de oficina empleados por los mismos o cualquier persona implicada en la determinación, el diagnóstico, la ayuda en el diagnóstico o que influya en el curso del tratamiento para el individuo.

Una "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de compuesto terapéutico, tal como un oligonucleótido u otra terapia antineoplásica, administrada a un individuo, ya sea como una dosis única o como parte de una serie de dosis, que es eficaz para producir un resultado terapéutico o profiláctico deseado.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" es al menos la concentración mínima requerida para efectuar una mejora medible de un trastorno particular. Una cantidad terapéuticamente eficaz en el presente documento puede variar de acuerdo con factores tales como la patología, la edad, el sexo y el peso del paciente, y la capacidad del oligonucleótido para desencadenar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente eficaz también puede ser una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del oligonucleótido sea superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del oligonucleótido puede reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño tumoral; inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferentemente detener) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferentemente detener) la metástasis tumoral; inhibir, hasta cierto punto, el crecimiento tumoral; y/o aliviar hasta cierto punto uno o más de los síntomas asociados al cáncer. En la medida en que el oligonucleótido pueda prevenir el crecimiento y/o la destrucción de las células cancerosas existentes, puede ser citostático y/o citotóxico.

Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, en las dosis y durante los períodos de tiempo necesarios, para conseguir el resultado profiláctico deseado. Por ejemplo, una cantidad profilácticamente eficaz de los oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento es al menos la concentración mínima que previene o atenúa el desarrollo de al menos un síntoma de cáncer metastásico.

La administración "en combinación con" uno o más agentes terapéuticos adicionales incluye la administración simultánea (concurrente) y consecutiva en cualquier orden.

La expresión "formulación farmacéutica" se refiere a una preparación que está en una forma de manera que permite que la actividad biológica del principio activo sea eficaz y que no contenga componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para un sujeto al que se administraría la formulación. Dichas formulaciones son estériles.

Una formulación "estéril" es aséptica o está libre de cualquier microorganismo vivo y sus esporas.

El término "prospecto" se usa para referirse a instrucciones habitualmente incluidas en los paquetes comerciales de productos terapéuticos, que contienen información acerca de las indicaciones, el uso, la dosificación, la administración, las contraindicaciones y/o las advertencias sobre el uso de dichos productos terapéuticos.

El término "aproximadamente", como se usa en el presente documento, se refiere al intervalo de error habitual para el valor respectivo fácilmente conocido por el experto en este campo técnico.

5 Se pretende que cada limitación numérica máxima proporcionada en toda la presente memoria descriptiva incluya todas las limitaciones numéricas más bajas, como si dichas limitaciones numéricas más bajas estuvieran expresamente escritas en el presente documento. Cada limitación numérica mínima proporcionada en toda la presente memoria descriptiva incluirá todas las limitaciones numéricas más altas, como si dichas limitaciones numéricas más altas estuvieran expresamente escritas en el presente documento. Cada intervalo numérico proporcionado en la presente memoria descriptiva incluirá todos los intervalos numéricos más estrechos que pertenezcan a dicho intervalo numérico más amplio, como si dichos intervalos numéricos más estrechos estuvieran expresamente escritos en el presente documento.

III. Oligonucleótidos y otras terapias antineoplásicas

15 Las células humanas expresan una serie de moléculas de ARN mitocondrial quimérico únicas. Estas moléculas son no codificantes (es decir, no se sabe que sirvan como molde para la traducción de una proteína) y comprenden el ARN ribosómico mitocondrial 16S unido covalentemente en el extremo 5' a una secuencia de repetición invertida. Las moléculas de ARN mitocondrial quimérico se encuentran en dos formas: sentido y antisentido.

20 La molécula de ARN mitocondrial no codificante quimérico sentido (ARNmtncS) corresponde al ARN ribosómico mitocondrial 16S transcrito a partir de la "cadena H" del genoma mitocondrial circular (documento WO 2005/001030). Unida covalentemente al extremo 5' de esta molécula de ARN hay una secuencia de nucleótidos o una secuencia de repetición invertida que corresponde a un ARN transcrito a partir de la "cadena L" del gen 16S mitocondrial. El tamaño de la secuencia de repetición invertida en el ARNmtncS puede variar de aproximadamente 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 25 725, 750, 775 u 800 nucleótidos o más a entre aproximadamente 100-200, 150-250, 200-300, 250-350, 400-500, 450-550, 500-600, 550-650, 600-700, 650-750 o 700-800 nucleótidos o más, incluyendo cualquier número entre estos valores. En una realización, la secuencia de repetición invertida en el ARNmtncS corresponde a un fragmento de 815 nucleótidos del ARN transcrito a partir de la cadena L del gen 16S del genoma mitocondrial. En otra realización, la secuencia de repetición invertida en el ARNmtncS corresponde a un fragmento de 754 nucleótidos del ARN transcrito a partir de la cadena L del gen 16S del genoma mitocondrial. En otra realización más, la secuencia de repetición invertida en el ARNmtncS corresponde a un fragmento de 694 nucleótidos del ARN transcrito a partir de la cadena L del gen 16S del genoma mitocondrial. En otra realización, el ARNmtncS corresponde a la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 3. En otra realización, el ARNmtncS comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 200, la SEQ ID NO: 201 y la SEQ ID NO: 202.

La molécula de ARN mitocondrial no codificante quimérico antisentido (ARNmtncAS) corresponde al ARN ribosómico mitocondrial 16S transcrito a partir de la "cadena L" del genoma mitocondrial circular. Unida covalentemente al extremo 5' de esta molécula de ARN hay una secuencia de nucleótidos o la secuencia de repetición invertida correspondiente a un ARN transcrito a partir de la "cadena H" del gen 16S mitocondrial. El tamaño de la secuencia de repetición invertida en el ARNmtncAS puede variar de aproximadamente 25, 50, 75, 100, 125, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 25 725, 750, 775, 800 nucleótidos o más a entre aproximadamente 100-200, 150-250, 200-300, 250-350, 400-500, 450-550, 500-600, 550-650, 600-700, 650-750 o 700-800 o más, incluyendo cualquier número entre estos valores. En otra realización, el ARNmtncAS corresponde a la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 o la SEQ ID NO: 6. En otra realización, el ARNmtncAS comprende una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 203, la SEQ ID NO: 204 y la SEQ ID NO: 205.

50 Puede encontrarse información adicional relacionada con moléculas de ARN mitocondrial quimérico en la Patente de los EE.UU. N.º 8.318.686.

En un aspecto, la invención proporciona uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARNmtncAS o una molécula de ARNmtncS, en la que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable para su uso en un método que se desvela en el presente documento. En algunos aspectos, en el presente documento se proporcionan métodos para suprimir la metástasis de un cáncer en un individuo usando uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento. En algunos aspectos, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar o prevenir la recaída de un cáncer en un individuo. En algunos aspectos, en el presente documento se proporcionan métodos para tratar el cáncer metastásico en un individuo. En algunas realizaciones en el presente documento, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia (por ejemplo, quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas). En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARNmtncAS o una molécula de ARNmtncS que se describen en el presente documento tienen una o más de las siguientes características cuando se usan en un método que se desvela en el presente documento: (1) se hibridan con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico (es decir, una molécula de ARNmtncAS o una molécula de ARNmtncS) para formar un dúplex estable; (2) se hibridan con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico expresadas por las células tumorales e inhiben, detienen, destruyen o suprimen las células tumorales; (3) se

hibridan con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico expresadas por las células madre cancerosas (CMC) e inhiben, detienen, destruyen o suprimen las CMC; (4) suprimen la metástasis de un cáncer en un individuo (por ejemplo, un individuo tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia); (5) tratan o previenen la recaída de un cáncer en un individuo (por ejemplo, un individuo tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia); (6) tratan el cáncer metastásico en una persona (por ejemplo, una persona tratada anteriormente contra el cáncer con una terapia); y (7) prolongan la supervivencia general en un individuo tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia (por ejemplo, quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas).

En un aspecto, los oligonucleótidos para su uso en cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento pueden ser complementarios a una molécula de ARNm_{nc}S y/o a una molécula de ARNm_{nc}AS desveladas en el presente documento. Sin quedar ligado a la teoría, se cree que los oligonucleótidos complementarios se unen a los ARNm_{nc} e interfieren con sus funciones celulares. Como se usa en el presente documento, una secuencia de oligonucleótidos es "complementaria" a una porción de un ARNm_{nc}, como se menciona en el presente documento, si el oligonucleótido posee una secuencia que tiene suficiente complementariedad para poder hibridarse con el ARNm_{nc} para formar un dúplex estable. La capacidad de hibridarse dependerá del grado de complementariedad y de la longitud del oligonucleótido. En general, cuanto más largo sea el oligonucleótido de hibridación, mayor será el número de desapareamientos de bases con un ARNm_{nc} que puede contener y aún formar un dúplex estable. En algunos aspectos, el uno o más oligonucleótidos utilizados de acuerdo con los métodos que se desvelan en el presente documento son al menos 8 (tal como al menos 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 o más) pares de bases en longitud. Los expertos en la materia pueden determinar un grado tolerable de desapareamiento mediante el uso de procedimientos convencionales para determinar el punto de fusión del complejo hibridado. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos tienen una complementariedad de al menos un 85 % (tal como al menos el 86 %, el 87 %, el 88 %, el 89 %, el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 %, el 99 % o el 100 %) con una molécula de ARNm_{nc}S y/o con una molécula de ARNm_{nc}AS desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, el oligonucleótido complementario es un oligonucleótido antisentido. En una realización, el uno o más oligonucleótidos son complementarios a uno o más ARNm_{nc} codificados por una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1-6. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198.

a. Modificaciones de oligonucleótidos

El enlace internucleosídico de origen natural de ARN y ADN es un enlace fosfodiéster de 3' a 5'. Los oligonucleótidos (por ejemplo, un oligonucleótido antisentido) utilizados para suprimir la metástasis de un cáncer, tratar o prevenir la recaída de un cáncer, o tratar el cáncer metastásico de acuerdo con cualquiera de los métodos que se desvelan en el presente documento pueden tener uno o más enlaces internucleosídicos modificados, es decir, no de origen natural. Con respecto a la terapéutica, los enlaces internucleosídicos modificados se seleccionan con frecuencia sobre los oligonucleótidos que tienen enlaces internucleosídicos de origen natural debido a propiedades deseables tales como, por ejemplo, captación celular potenciada, afinidad potenciada por ácidos nucleicos diana y estabilidad aumentada en presencia de nucleasas presentes en fluidos corporales.

Los oligonucleótidos (por ejemplo, un oligonucleótido antisentido) que tienen enlaces internucleosídicos modificados incluyen enlaces internucleosídicos que conservan un átomo de fósforo, así como enlaces internucleosídicos que no tienen un átomo de fósforo. Los enlaces internucleosídicos representativos que contienen fósforo incluyen, pero no se limitan a, fosfodiésteres, fosfotriésteres, metilfosfonatos, fosforamidato y fosforotioatos. Los métodos de preparación de enlaces que contienen fósforo y que no contienen fósforo son bien conocidos en la técnica.

En una realización, los oligonucleótidos (por ejemplo, un oligonucleótido antisentido) dirigidos a una molécula de ARNm_{nc}S y/o a una molécula de ARNm_{nc}AS desveladas en el presente documento comprenden uno o más enlaces internucleosídicos modificados. En algunas realizaciones, los enlaces internucleosídicos modificados son enlaces fosforotioato.

Como se sabe en la técnica, un nucleósido es una combinación de base y azúcar. La porción de base del nucleósido es normalmente una base heterocíclica. Las dos clases más comunes de dichas bases heterocíclicas son las purinas y las pirimidinas. Los nucleótidos son nucleósidos que incluyen adicionalmente un grupo fosfato unido covalentemente a la porción de azúcar del nucleósido. Para aquellos nucleósidos que incluyen un azúcar de pentofuranosilo, el grupo fosfato puede estar unido al resto hidroxilo 2', 3' o 5' del azúcar. En la formación de oligonucleótidos, los grupos fosfato unen covalentemente los nucleósidos adyacentes entre sí para formar un compuesto polimérico lineal. A su vez, los extremos respectivos de esta estructura polimérica lineal pueden unirse adicionalmente para formar una estructura circular, sin embargo, generalmente se prefieren las estructuras lineales abiertas. Dentro de la estructura del oligonucleótido, los grupos fosfato se denominan habitualmente formadores de

la cadena principal internucleosídica del oligonucleótido. El enlace normal o la cadena principal de ARN y ADN es un enlace fosfodiéster de 3' a 5'.

5 Los ejemplos específicos, aunque no limitantes, de oligonucleótidos (por ejemplo, un oligonucleótido antisentido) útiles en los métodos que se desvelan en el presente documento incluyen oligonucleótidos que contienen cadenas principales modificadas o enlaces internucleosídicos no naturales. Como se define en la presente memoria descriptiva, los oligonucleótidos que tienen cadenas principales modificadas incluyen aquellos que conservan un átomo de fósforo en la cadena principal y aquellos que no tienen un átomo de fósforo en la cadena principal. Para los fines de la presente memoria descriptiva y como se hace referencia a veces en la técnica, los oligonucleótidos modificados que no tienen un átomo de fósforo en su cadena principal internucleosídica también pueden considerarse oligonucleósidos.

15 En algunas realizaciones, las cadenas principales de oligonucleótidos modificados incluyen, por ejemplo, fosforotioatos, fosforotioatos quirales, fosforoditioatos, fosfotriésteres, aminoalquilfosfotriésteres, fosfonatos de metilo y otros alquilos, incluyendo fosfonatos de 3'-alquileo, fosfonatos de 5'-alquileo y fosfonatos quirales, fosfinatos, fosforamidatos incluyendo 3'-amino fosforamidato y aminoalquilfosforamidatos, tiono-fosforamidatos, tioalquilfosfonatos, tioalquilfosfotriésteres, selenofosfatos y boranofosfatos que tienen enlaces normales 3'-5', análogos unidos 2'-5' de éstos, y aquellos que tienen polaridad invertida en los que uno o más enlaces internucleosídicos es una unión de 3' a 3', de 5' a 5' o de 2' a 2'. Los oligonucleótidos que tienen polaridad invertida comprenden un único enlace de 3' a 3' en el enlace internucleosídico más hacia 3', es decir, un único resto de nucleósido invertido que puede ser abásico (falta la nucleobase o tiene un grupo hidroxilo en de la misma). También se incluyen diversas sales, sales mixtas y formas de ácido libre. Las cadenas principales oligonucleotídicas que no incluyen un átomo de fósforo tienen cadenas principales que están formadas por enlaces internucleosídicos de alquilo o cicloalquilo de cadena corta, heteroátomo mixto y enlaces internucleosídicos de alquilo o cicloalquilo, o uno o más enlaces internucleosídicos heteroaromáticos o heterocíclicos de cadena corta. Estos incluyen aquellos que tienen enlaces morfolino (formados en parte a partir de la porción de azúcar de un nucleósido); cadenas principales de siloxano; cadenas principales de sulfuro, sulfóxido y sulfona; cadenas principales de formacetilo y tioformacetilo; cadenas principales de formacetilo y tioformacetilo de metileno; cadenas principales de riboacetilo; cadenas principales que contienen alqueno; cadenas principales de sulfamato; cadenas principales de metiliminino y metilendihidrazino; cadenas principales de sulfonato y sulfonamida; cadenas principales de amida; y otros que tienen partes componentes de N, O, S y CH₂ mixtas.

35 En otras realizaciones, tanto el azúcar como el enlace internucleosídico, es decir, la cadena principal, de las unidades de nucleótidos se reemplazan con grupos nuevos. Las unidades básicas se mantienen para la hibridación con un compuesto objetivo de ácido nucleico apropiado. Un compuesto oligomérico de este tipo, un mimético de oligonucleótido, se denomina un ácido nucleico peptídico (ANP). En los compuestos de ANP, la cadena principal de azúcar de un oligonucleótido se reemplaza con una cadena principal que contiene amida, en particular una cadena principal de aminoetilglicina. Las nucleobases se conservan y se unen directa o indirectamente a átomos de nitrógeno aza de la porción de amida de la cadena principal. Las patentes representativas de los Estados Unidos que enseñan la preparación de compuestos de ANP incluyen, pero no se limitan a, la patente de los EE.UU. N.º 5.539.082; 5.714.331; y 5.719.262. Puede encontrarse contenido adicional de compuestos de ANP en Nielsen et al., *Science*, 254: 1497-1500, 1991.

45 Las patentes representativas de los Estados Unidos que enseñan la preparación de los enlaces anteriores que contienen fósforo y que no contienen fósforo incluyen, pero no se limitan a, las Patentes de los EE.UU. N.º 5.541.306; 5.550.111; 5.563.253; 5.571.799; 5.587.361; 5.194.599; 5.565.555; 5.527.899; 5.721.218; 5.672.697 y 5.625.050. 5.596.086; 5.602.240; 5.610.289; 5.602.240; 5.608.046; 5.610.289; 5.618.704; 5.623.070; 5.663.312; 5.633.360; 5.677.437; 5.792.608; 5.646.269 y 5.677.439.

50 Los oligonucleótidos modificados (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido) complementarios a ARNm_{ntc}S y/o ARNm_{ntc}AS utilizados como terapias antineoplásicas en combinación con cualquiera de los métodos que se desvelan en el presente documento (por ejemplo, método de supresión de metástasis de un cáncer) también pueden contener uno o más restos de azúcar sustituidos. Por ejemplo, el anillo de azúcar de furanosilo puede modificarse de varias maneras, incluyendo la sustitución con un grupo sustituyente, un puente para formar un ácido nucleico bicíclico "ANB" y la sustitución del 4'-O con un heteroátomo tal como S o N(R) como se describe en la Patente de los EE.UU. N.º 7.399.845. Otros ejemplos de ANB se describen en la Solicitud de Patente Internacional publicada N.º WO 2007/146511.

60 Los oligonucleótidos (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido) para su uso en los métodos que se desvelan en el presente documento (por ejemplo, el método de supresión de metástasis de un cáncer) pueden contener opcionalmente uno o más nucleótidos que tengan restos de azúcar modificados. Las modificaciones del azúcar pueden transmitir estabilidad de nucleasa, afinidad de unión o alguna otra propiedad biológica beneficiosa a los compuestos antisentido. El anillo de azúcar de furanosilo de un nucleósido puede modificarse de varias maneras, incluyendo, pero no limitadas a: la adición de un grupo sustituyente, en particular en la posición 2'; la unión de dos átomos de anillo no germinales para formar un ácido nucleico bicíclico (ANB); y la sustitución de un átomo o grupo tal como -S-, -N(R)- o -C(R1)(R2) por el oxígeno de anillo en la posición 4'. Los azúcares modificados incluyen, pero

no se limitan a: azúcares sustituidos, especialmente azúcares sustituidos en 2' que tienen un grupo sustituyente 2'-F, 2'-OCH₂ (2'-OMe) o un 2'-O(CH₂)₂-OCH₃ (2'-O-metoxietilo o 2'-MOE); y azúcares modificados bicíclicos (ANB), que tienen una unión 4'-(CH₂)_n-O-2', donde n = 1 o n = 2. Los métodos para la preparación de azúcares modificados son bien conocidos por los expertos en la materia.

5 En determinadas realizaciones, un nucleósido modificado en 2' tiene un resto de azúcar bicíclico. En determinadas realizaciones de este tipo, el resto de azúcar bicíclico es un azúcar D en la configuración alfa. En determinadas realizaciones de este tipo, el resto de azúcar bicíclico es un azúcar D en la configuración beta. En determinadas realizaciones de este tipo, el resto de azúcar bicíclico es un azúcar L en la configuración alfa. En determinadas realizaciones de este tipo, el resto de azúcar bicíclico es un azúcar L en la configuración beta.

15 En otras realizaciones, el resto de azúcar bicíclico comprende un grupo de unión entre los átomos de carbono 2' y 4'. En determinadas realizaciones de este tipo, el grupo de unión comprende de 1 a 4 grupos birradicales unidos. En determinadas realizaciones, el resto de azúcar bicíclico comprende de 1 a 4 grupos birradicales unidos. En determinadas realizaciones, el resto de azúcar bicíclico comprende 2 o 3 grupos birradicales unidos. En determinadas realizaciones, el resto de azúcar bicíclico comprende 2 grupos birradicales unidos. En determinadas realizaciones, un grupo birradical unido se selecciona entre -O-, -S-, -N(R1)-, -C(R1)(R2)-, -C(R1)=C(R1)-, -C(R1)=N-, -C(=NR1)-, -Si(R1)(R2)-, -S(=O)₂-, -S(=O)-, -C(O)- y -C(=S)-; donde cada R1 y R2 es, independientemente, H, hidroxilo, alquilo C1-C12, alquilo C1-C12 sustituido, alqueno C2-C12, alqueno C2-C12 sustituido, alquino C2-C12, alquino C2-C12 sustituido, arilo C5-C20, arilo C5-C20 sustituido, un radical heterociclo, un radical heterociclo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical alicíclico C5-C7, radical alicíclico C5-C7 sustituido, halógeno, oxo sustituido (-O-), amino, amino sustituido, azido, carboxilo, carboxilo sustituido, acilo, acilo sustituido, CN, tior, tior sustituido, sulfonilo (S(=O)₂-H), sulfonilo sustituido, sulfoxilo (S(=O)-H) o sulfoxilo sustituido; y cada grupo sustituyente es, independientemente, halógeno, alquilo C1-C12, alquilo C1-C12 sustituido, alqueno C2-C12, alqueno C2-C12 sustituido, alquino C2-C12, alquino C2-C12 sustituido, amino, amino sustituido, acilo, acilo sustituido, aminoalquilo C1-C12, aminoalcoxi C1-C12, aminoalquilo C1-C12 sustituido, aminoalcoxi C1-C12 sustituido o un grupo protector.

30 Los oligonucleótidos (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido) para su uso en cualquiera de los métodos que se desvelan en el presente documento (por ejemplo, el método de supresión de la metástasis de un cáncer) también pueden incluir modificaciones o sustituciones de nucleobases (con frecuencia denominadas en la técnica simplemente como "base"). Las modificaciones o sustituciones de nucleobases pueden distinguirse estructuralmente, pero son funcionalmente indistinguibles, de nucleobases no modificadas de origen natural o sintéticas. Las nucleobases tanto naturales como modificadas son capaces de participar en la formación de enlaces de hidrógeno. Dichas modificaciones de nucleobase pueden transmitir estabilidad de nucleasa, afinidad de unión o alguna otra propiedad biológica beneficiosa a los compuestos oligonucleotídicos. Las nucleobases modificadas incluyen nucleobases sintéticas y naturales tales como, por ejemplo, 5-metilcitosina (5-me-C). Determinadas sustituciones de nucleobases, incluyendo las sustituciones de 5-metilcitosina, son particularmente útiles para aumentar la afinidad de unión de un compuesto oligonucleotídico (tal como un compuesto oligonucleotídico antisentido) para un ácido nucleico diana (tal como un ARNm).

45 Las nucleobases adicionales no modificadas incluyen 5-hidroximetil citosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, derivados de 6-metilo y otros alquilos de adenina y guanina, derivados de 2-propilo y otros alquilos de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina y 2-tiocitosina, 5-halouracilo y citosina, 5-propinil (-C≡C-CH₃) uracilo y citosina y otros derivados de alquino de bases pirimidínicas, 6-azo uracilo, citosina y timina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo, 8-amino, 8-tior, 8-tioalquilo, 8-hidroxilo y otras adeninas y guaninas 8-sustituidas, 5-halo en particular 5-bromo, 5-trifluorometilo y otras uracilos y citosinas 5-sustituidas, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 2-F-adenina, 2-amino-adenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, 7-desazaguanina y 7-desazaadenina y 3-desaza-guanina y 3-desazaadenina.

50 Los restos de bases heterocíclicas también pueden incluir aquellos en los que la base púrica o pirimidínic se reemplaza por otros heterociclos, por ejemplo, 7-desaza-adenina, 7-desazaguanosina, 2-aminopiridina y 2-piridona. Las nucleobases que son particularmente útiles para aumentar la afinidad de unión de los compuestos antisentido incluyen pirimidinas 5-sustituidas, 6-aza-pirimidinas y purinas N-2, N-6 y O-6 sustituidas, incluyendo 2 aminopropiladenina, 5-propiniluracilo y 5-propinilcitosina.

Como se usa en el presente documento, las nucleobases "sin modificar" o "naturales" incluyen las bases purínicas adenina (A) y guanina (G) y las bases pirimidínicas timina (T), citosina (C) y uracilo (U).

60 Las nucleobases modificadas incluyen otras nucleobases sintéticas y naturales tales como 5-metilcitosina (5-me-C), 5-hidroximetil citosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, derivados de 6-metilo y otros alquilos de adenina y guanina, derivados de 2-propilo y otros alquilos de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina y 2-tiocitosina, 5-halouracilo y citosina, 5-propinil (-C≡C-CH₃) uracilo y citosina y otros derivados de alquino de bases pirimidínicas, 6-azo uracilo, citosina y timina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo, 8-amino, 8-tior, 8-tioalquilo, 8-hidroxilo y otras adeninas y guaninas 8-sustituidas, 5-halo en particular 5-bromo, 5-trifluorometilo y otros uracilos y citosinas 5-sustituidas, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 2-F-adenina, 2-amino-adenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, 7-

desazaguanina y 7-desazadenina y 3-desazaguanina y 3-desazaadenina. Las nucleobases modificadas adicionales incluyen pirimidinas tricíclicas tales como fenoxazina citidina (1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxazin-2(3H)-ona), fenotiazina citidina (1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzotiazin-2(3H)-ona), O-fijaciones tales como una fenoxazina citidina sustituida (por ejemplo, 9-(2-aminoetoxi)-H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxazin-2(3H)-ona), carbazol citidina (2H-pirimido[4,5-b]indol-2-ona), piridoindol citidina (H-pirido[3',2':4,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-ona). Las nucleobases modificadas también pueden incluir aquellas en las que la base púrica o pirimidínica se reemplaza por otros heterociclos, por ejemplo, 7-desaza-adenina, 7-desazaguanosina, 2-aminopiridina y 2-piridona. Las nucleobases adicionales incluyen aquellas desveladas en la Patente de los EE.UU. 3.687.808, aquellas desveladas en *The Concise Encyclopedia Of Polymer Science and Engineering*, páginas 858-859, Kroschwitz, J.I., ed. John Wiley & Sons, 1990, aquellas desveladas por Englisch et al., *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613, y aquellas desveladas por Sanghvi, Y.S., Capítulo 15, *Antisense Research and Applications*, páginas 289-302, Crooke, S. T. y Lebleu, B. ed., CRC Press, 1993.

Las patentes representativas de los Estados Unidos que enseñan la preparación de algunas de las nucleobases modificadas indicadas anteriormente, así como otras nucleobases modificadas, incluyen, pero no se limitan a, las Patentes de los EE.UU. N.º 5.459.255; 5.484.908; 5.502.177; 5.525.711; 5.552.540; 5.587.469; 5.594.121. 5.596.091; 5.614.617; 5.645.985; 5.830.653; 5.763.588; 6.005.096; y 5.681.941.

b. Ribozimas

En otra realización, pueden usarse ribozimas para interferir con las moléculas de ARNmtnC que se describen en el presente documento para inducir muerte celular en células proliferativas asociadas a metástasis (por ejemplo, CMC). La secuencia de la ribozima puede diseñarse de acuerdo con la secuencia del ARNmtnCAS (por ejemplo, una secuencia correspondiente a la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 o la SEQ ID NO: 6 o una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 204 o SEQ ID NO: 205) o el ARNmtnCS (por ejemplo, una secuencia correspondiente a la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 3, o una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 202 o SEQ ID NO: 203) para escindir regiones específicas del transcrito. Las ribozimas son moléculas de ARN enzimático capaces de catalizar la escisión específica del ARN (Rossi, *Curr. Biology* 4: 469-471, 1994). El mecanismo de acción de la ribozima implica la hibridación específica de secuencia de la molécula de ribozima con el ARN diana complementario, seguido de una escisión endonucleolítica. La composición de moléculas de ribozima debe incluir una o más secuencias complementarias al ARN y debe incluir la secuencia catalítica bien conocida responsable de la escisión del ARN y se describe en la Patente de los EE.UU. N.º 5.093.246. Como tal, dentro del alcance de la divulgación, las moléculas de ribozima de cabeza de martillo pueden diseñarse por ingeniería genética para catalizar específica y eficazmente la escisión endonucleolítica de las moléculas de ARNmtnCAS o de ARNmtnCS que se desvelan en el presente documento. La construcción y la producción de ribozimas de cabeza de martillo son bien conocidas en la técnica y se describieron (Haseloff et al., *Gene*, 82: 43-52, 1989). Las ribozimas que se desvelan en el presente documento también pueden incluir endorribonucleasas de ARN (Zaug et al., *Science*, 224: 574-578, 1984). En algunas realizaciones, una ribozima descrita en el presente documento puede usarse en cualquier método que se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, un método de supresión de la metástasis de un cáncer en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de una o más ribozimas que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, un método para tratar o prevenir la recaída de cáncer en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de una o más ribozimas que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, un método para tratar el cáncer metastásico en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de una o más ribozimas que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, un método para tratar un cáncer resistente (por ejemplo, un cáncer resistente asociado al VPH) en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de una o más ribozimas que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia (por ejemplo, quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas).

c. Interferencia de ARN

En otro aspecto, la interferencia con la función de las moléculas de ARNmtnCAS y/o de ARNmtnCS que se desvelan en el presente documento para su uso en cualquiera de los métodos que se desvelan en el presente documento (por ejemplo, método de supresión de metástasis de un cáncer) puede conseguirse mediante interferencia de ARN o silenciamiento de ARN. La interferencia de ARN (ARNi) ha surgido como un enfoque novedoso y prometedor para el silenciamiento génico en células de mamíferos (Elbashir et al., *Nature* 411: 494-498, 2001; McManus et al., *Nature Rev. Genet.* 3: 737-747, 2002). Las moléculas de ARN bicatenario sintetizadas sintéticamente de aproximadamente 8 a 40 (tales como de aproximadamente 10 a 36, de 14 a 32, 18-28 o 22-24) pares de bases (pb) o al menos aproximadamente 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 pb de longitud, se hibridan específicamente con su ARN objetivo complementario, lo que conduce a la degradación del ARN. Se han silenciado varios genes diferentes satisfactoriamente mediante ARN interferente pequeño o ARNip (Lu et al., *Curr. Opin. Mol. Ther.* 5: 225-234, 2003; Wacheck et al., *Oligonucleotides* 13: 393-400, 2003). Por tanto, el ARN bicatenario sintético dirigido a las moléculas de ARNmtnCAS y/o ARNmtnCS que se desvelan en el presente documento puede usarse para degradar estos transcritos e inducir la muerte de células cancerosas (por ejemplo, muerte de CMC). Aquellos que estén familiarizados con la técnica entenderán que

la secuencia del ARNip tiene que ser complementaria a cualquier región de las moléculas de ARNmncAS y/o ARNmncS (tales como las complementarias a una cualquiera de entre una secuencia correspondiente a la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2, la SEQ ID NO: 3, la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y/o la SEQ ID NO: 6 o complementarias a una cualquiera de entre una secuencia que comprende la SEQ ID NO: 200, la SEQ ID NO: 201, la SEQ ID NO: 202, la SEQ ID NO: 203, la SEQ ID NO: 204 y/o la SEQ ID NO: 205). En algunas realizaciones, un ARN que se describe en el presente documento puede usarse en cualquier método que se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, un método de supresión de la metástasis de un cáncer en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más ARN que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, un método de tratamiento o prevención de la recaída del cáncer en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más ARN que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, un método de tratamiento del cáncer metastásico en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más ARN que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, un método de tratamiento de un cáncer resistente (por ejemplo, un cáncer asociado al VPH resistente) en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más ARN que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia (por ejemplo, quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas).

d. Entrega de oligonucleótidos

En una realización, puede usarse un vector recombinante para entregar uno o más oligonucleótidos (tales como cualquiera de los oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento) complementarios a una molécula de ARN mitocondrial no codificante quimérico sentido y/o antisentido al individuo. Esto puede incluir tanto la entrega sistémica como la entrega localizada a una región particular del cuerpo (tal como la médula ósea). En el presente documento se contempla cualquier vector capaz de permitir la producción recombinante de uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARNmnc quimérica antisentido o antisentido y/o que pueda entregar uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARNmnc quimérico antisentido o antisentido en una célula hospedadora. El vector puede ser ARN o ADN, procariótico o eucariota y normalmente es un virus o un plásmido. El vector puede ser parte de una vacuna de ADN o puede usarse como parte de cualquier otro método para entregar un gen heterólogo para la expresión en una célula hospedadora que es conocida por un experto en la materia. Los vectores recombinantes son capaces de replicarse cuando se transforman en una célula hospedadora adecuada. Los vectores víricos infectan una amplia gama de células humanas que no se dividen y se han utilizado ampliamente en vacunas vivas sin efectos secundarios adversos. Un vector vírico (tal como, por ejemplo, un vector adenovírico o un vector vírico adenoasociado (AAV, por sus siglas en inglés) (por ejemplo, AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6), etc. o los vectores de AAV híbridos que comprenden el mismo) es un ejemplo de un vector para su uso en los presentes métodos para entregar uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARNmnc quimérico sentido o antisentido a células cancerosas (tales como un plasmocito; véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2004/0224389 o una CMC). En algunas realizaciones, un vector recombinante (por ejemplo, un vector vírico) que se describe en el presente documento puede usarse en cualquier método que se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, un método de supresión de la metástasis de un cáncer en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de un vector recombinante (por ejemplo, un vector vírico) que comprende uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, un método para tratar o prevenir la recaída del cáncer en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de un vector recombinante (por ejemplo, un vector vírico) que comprende uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, un método para tratar el cáncer metastásico en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de un vector recombinante (por ejemplo, un vector vírico) que comprende uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, un método para tratar un cáncer resistente (por ejemplo, un cáncer asociado al VPH resistente) en un individuo comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de un vector recombinante (por ejemplo, un vector vírico) que comprende uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia (por ejemplo, quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas).

En otro aspecto, uno o más oligonucleótidos (tales como cualquiera de los oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento) complementarios a una molécula de ARN mitocondrial no codificante quimérica antisentido y/o sentido se encapsulan dentro de un microvehículo para la entrega a un individuo. En determinadas realizaciones, una mezcla de diferentes oligonucleótidos (tales como cualquiera de los oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento) complementarios a una molécula de ARN mitocondrial no codificante quimérico sentido y/o antisentido puede encapsularse con un microvehículo, de manera que el microvehículo encapsula más de una especie de oligonucleótido. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos (tales como cualquiera de los oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento) complementarios a una molécula de ARN mitocondrial no codificante quimérico sentido y/o antisentido encapsulados dentro del microvehículo comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos (tales como cualquiera de los oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento) complementarios a una molécula de ARN mitocondrial no codificante quimérico sentido y/o antisentido encapsulados dentro del microvehículo comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo

que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198.

Los métodos de encapsulación de oligonucleótidos en microvehículos son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en la solicitud internacional WO98/55495. Los sistemas de dispersión coloidal, tales como microesferas, perlas, complejos macromoleculares, nanocápsulas y sistemas a base de lípidos, tales como emulsiones de aceite en agua, micelas, micelas mixtas y liposomas pueden proporcionar una encapsulación eficaz de oligonucleótidos dentro de composiciones de microvehículos. La composición de encapsulación puede comprender adicionalmente cualquiera de una amplia diversidad de componentes. Estos incluyen, pero no se limitan a, alumbre, lípidos, fosfolípidos, estructuras de membrana lipídica (EML), polietilenglicol (PEG) y otros polímeros, tales como polipéptidos, glicopéptidos y polisacáridos.

Otras terapias antineoplásicas

En algunos aspectos, cualquiera de los métodos de tratamiento que se describen en el presente documento puede comprender administrar una o más terapias antineoplásicas adicionales al individuo. En algunas realizaciones, la una o más terapias antineoplásicas se seleccionan entre el grupo que consiste en quimioterapia, radioterapia y cirugía. Agentes quimioterápicos y antineoplásicos se usan indistintamente en el presente documento. Pueden usarse diversas clases de agentes antineoplásicos. Los ejemplos no limitantes incluyen: agentes alquilantes, antimetabolitos, antraciclinas, alcaloides vegetales, inhibidores de la topoisomerasa, podofilotoxina, anticuerpos (por ejemplo, monoclonales o policlonales), inhibidores de la tirosina cinasa (por ejemplo, mesilato de imatinib (Gleevec® o Glivec®)), tratamientos hormonales, receptores solubles y otros antineoplásicos

Los inhibidores de la topoisomerasa también son otra clase de agentes antineoplásicos que pueden usarse en el presente documento. Las topoisomerasas son enzimas esenciales que mantienen la topología del ADN. La inhibición de las topoisomerasas de tipo I o de tipo II interfiere tanto con la transcripción como con la replicación del ADN alterando el superenrollamiento apropiado del ADN. Algunos inhibidores de la topoisomerasa de tipo I incluyen las camptotecinas: irinotecán y topotecán. Los ejemplos de inhibidores de tipo II incluyen amsacrina, etopósido, fosfato de etopósido y tenipósido. Estos son derivados semisintéticos de las epipodofilotoxinas, alcaloides que se producen naturalmente en la raíz de la manzana de mayo americana (*Podophyllum peltatum*).

Los antineoplásicos incluyen el inmunosupresor dactinomicina, doxorrubicina, epirubicina, bleomicina, mecloretamina, ciclofosfamida, clorambucilo, ifosfamida. Los compuestos antineoplásicos generalmente actúan modificando químicamente el ADN de una célula.

Los agentes alquilantes pueden alquilar muchos grupos funcionales nucleófilos en las condiciones presentes en las células. Cisplatino y carboplatino y oxaliplatino son agentes alquilantes. Deterioran la función celular mediante la formación de enlaces covalentes con los grupos amino, carboxilo, sulfhidrilo y fosfato en moléculas biológicamente importantes.

Los alcaloides de la vinca se unen a sitios específicos en la tubulina, inhibiendo el ensamblaje de la tubulina en microtúbulos (fase M del ciclo celular). Los alcaloides de la vinca incluyen: vincristina, vinblastina, vinorelbina y vindesina.

Los antimetabolitos se parecen a las purinas (azatioprina, mercaptopurina) o pirimidina e impiden que estas sustancias se incorporen al ADN durante la fase "S" del ciclo celular, deteniendo el desarrollo y la división normales. Los antimetabolitos también afectan a la síntesis de ARN.

Los alcaloides y terpenoides vegetales derivan de las plantas y bloquean la división celular mediante la prevención de la función de los microtúbulos. Puesto que los microtúbulos son vitales para la división celular, sin ellos, la división celular no puede producirse. Los principales ejemplos son alcaloides de la vinca y taxanos.

La podofilotoxina es un compuesto derivado de plantas de la que se ha informado que ayuda con la digestión y que se usa para producir otros dos fármacos citostáticos, etopósido y tenipósido. Evitan que la célula entre en la fase G1 (el inicio de la replicación del ADN) y la replicación del ADN (la fase S).

Los taxanos como grupo incluyen paclitaxel y docetaxel. El paclitaxel es un producto natural, originalmente conocido como Taxol y derivado en primer lugar de la corteza del árbol de tejo del Pacífico. El docetaxel es un análogo semisintético de paclitaxel. Los taxanos potencian la estabilidad de los microtúbulos, evitando la separación de los cromosomas durante la anafase.

En algunos aspectos, el agente antineoplásico puede seleccionarse entre remicade, docetaxel, celecoxib, melfalán, dexametasona (Decadron®), esteroides, gemcitabina, cisplatino, temozolomida, etopósido, ciclofosfamida, temodar, carboplatino, procarbazona, gliadel, tamoxifeno, topotecán, metotrexato, gefitinib (Iressa®), taxol, taxotere, fluorouracilo, leucovorina, irinotecán, xeloda, CPT-11, interferón alfa, interferón alfa pegilado (por ejemplo, PEG-INTRON-A), capecitabina, cisplatino, tiotepa, fludarabina, carboplatino, daunorrubicina liposómica, citarabina, doxetaxol, paclitaxel, vinblastina, IL-2, GM-CSF, dacarbazona, vinorelbina, ácido zoledrónico, palmitronato, biaxina,

busulfán, prednisona, bortezomib (Velcade®), bifosfonato, trióxido de arsénico, vincristina, doxorubicina (Doxil®), paclitaxel, ganciclovir, adriamicina, fosfato de sodio de estramustina (Emcyt®), sulindaco o etopósido.

5 En otras realizaciones, el agente antineoplásico puede seleccionarse entre bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona, doxorubicina, interferón alfa, lenalidomida, melfalán, interferón alfa pegilado, prednisona, talidomida o vincristina.

10 En algunos aspectos, la una o más terapias antineoplásicas es radioterapia. Como se usa en el presente documento, el término "radioterapia" se refiere a la administración de radiación para destruir células cancerosas. La radiación interactúa con moléculas en la célula, tales como el ADN, para inducir la muerte celular. La radiación también puede dañar las membranas celulares y nucleares y otros orgánulos. Dependiendo del tipo de radiación, el mecanismo de daño del ADN puede variar, al igual que la eficacia biológica relativa. Por ejemplo, las partículas pesadas (es decir, protones, neutrones) dañan el ADN directamente y tienen una mayor eficacia biológica relativa. La radiación electromagnética produce una ionización indirecta que actúa a través de radicales libres hidroxilo de corta duración producidos principalmente por la ionización del agua celular. Las aplicaciones clínicas de la radiación consisten en radiación de haz externo (de una fuente externa) y braquiterapia (usando una fuente de radiación implantada o insertada en el paciente). La radiación de haz externo consiste en rayos X y/o rayos gamma, mientras que la braquiterapia emplea núcleos radiactivos que se descomponen y emiten partículas alfa o partículas beta junto con un rayo gamma. La radiación también contemplada en el presente documento incluye, por ejemplo, la entrega dirigida de radioisótopos a células cancerosas. También se contemplan otras formas de factores que dañan el ADN en el presente documento, tales como las microondas y la radiación UV.

25 La radiación puede administrarse en una dosis única o en una serie de dosis pequeñas en un esquema de dosis fraccionada. La cantidad de radiación contemplada en el presente documento varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 Gy, incluyendo, por ejemplo, de aproximadamente 5 a aproximadamente 80, de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 Gy o aproximadamente 10 Gy. La dosis total puede aplicarse en una pauta fraccionada. Por ejemplo, la pauta puede comprender dosis individuales fraccionadas de 2 Gy. Los intervalos de dosificación para los radioisótopos varían ampliamente y dependen de la semivida del isótopo y de la intensidad y el tipo de radiación emitida. Cuando la radiación comprende el uso de isótopos radiactivos, el isótopo puede conjugarse con un agente de direccionamiento, tal como un anticuerpo terapéutico, que transporta el radionucleótido al tejido diana (por ejemplo, tejido tumoral). Los isótopos radiactivos adecuados incluyen, pero no se limitan a, astatina²¹¹, ¹⁴carbono, ⁵¹chromo, ³⁶cloro, ⁵⁷hierro, ⁵⁸cobalto, cobre⁶⁷, ¹⁵²Eu, galio⁶⁷, ³hidrógeno, yodo¹²³, yodo¹³¹, indio¹¹¹, ⁵⁹ion, ³²fósforo, renio¹⁸⁶, ⁷⁵selenio, ³⁵azufre, tecnicio^{99m} y/o itrio.

35 La cirugía que se describe en el presente documento incluye la extirpación en la que todo o parte de un tejido canceroso se extirpa, se escinde y/o se destruye físicamente. La resección del tumor se refiere a la extirpación física de al menos parte de un tumor. Además de la extirpación del tumor, el tratamiento quirúrgico incluye cirugía con láser, criocirugía, electrocirugía y cirugía controlada de manera microscópica (cirugía de Mohs). La extirpación de precánceres o tejidos normales también se contempla en el presente documento.

40

Trasplante de células madre y tratamiento ex vivo de células madre hematopoyéticas autólogas

45 En otros aspectos, cualquiera de los métodos de tratamiento que se describen en el presente documento puede incluir terapia de trasplante autólogo o alógeno de células madre. En los últimos años, la quimioterapia de dosis altas con trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas se ha convertido en el tratamiento preferido para determinados cánceres tales como el mieloma múltiple, el linfoma no Hodgkin, el linfoma de Hodgkin y la leucemia. Si bien no es curativo, este procedimiento prolonga la supervivencia global y la remisión completa. Antes del trasplante de células madre, los pacientes reciben un tratamiento inicial de quimioterapia de inducción. Las pautas de inducción más comunes que se usan hoy en día son talidomida-dexametasona, pautas a base de bortezomib y lenalidomida-dexametasona (Kyle & Rajkumar, *Blood*, 111 (6): 2962-72, 2008). Por ejemplo, el trasplante autólogo de células madre periféricas es útil para hasta el 50 % de los pacientes con mieloma múltiple. A pesar de una baja tasa de mortalidad, los problemas con dicha terapia de trasplante incluyen la incapacidad de erradicar el tumor y la dificultad en la extirpación de células de mieloma y sus precursores de la colección de células madre utilizadas para el trasplante.

55

60 El trasplante alógeno (el trasplante de células madre de una persona sana al individuo afectado) es otra opción terapéutica para tratar determinados cánceres, tales como el mieloma múltiple, el linfoma no Hodgkin, el linfoma de Hodgkin y la leucemia, pero se usa con menos frecuencia porque puede no proporcionar una cura. Por ejemplo, la mayoría de los estudios que evalúan su uso en pacientes con mieloma múltiple muestran una supervivencia a largo plazo sin enfermedad del 10-20 %, con una fracción significativa de pacientes que desarrollan recaída.

65 Cuando se incluye como un tratamiento para suprimir o prevenir la metástasis de acuerdo con cualquiera de los métodos que se desvelan en el presente documento, el trasplante autólogo de células madre también puede incluir la etapa de tratar las células madre hematopoyéticas y/o la médula ósea que se han de trasplantar al individuo afectado con cualquiera de los agentes antineoplásicos que se desvelan en el presente documento, antes del trasplante al individuo afectado. En una realización, las células madre hematopoyéticas y/o la médula ósea para su

uso en el trasplante autólogo de células madre pueden tratarse con una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido) suficientemente complementarios a una molécula de ARNm_{nc}AS o ARNm_{nc}S (por ejemplo, cualquiera de las moléculas de ARNm_{nc}AS y/o ARNm_{nc}S que se desvelan en el presente documento) para formar un dúplex estable antes del trasplante en el individuo afectado. En otra realización, el uno o más oligonucleótidos son suficientemente complementarios a uno o más ARNm_{nc} codificados por una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1-6, para formar un dúplex estable. En otras realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198.

Se ha demostrado que el trasplante autólogo de médula ósea o células madre hemáticas también puede usarse para tratar varias formas de cánceres hemáticos (tales como, pero sin limitación, mieloma múltiple, leucemia y linfoma). En consecuencia, en algunos aspectos, cuando se incluye como tratamiento para un cáncer hemático, en el presente documento se proporciona un método de realización de un trasplante autólogo de células madre que incluye la etapa de tratar las células madre hematopoyéticas y/o la médula ósea que se han de trasplantar en el individuo afectado con cualquiera de los agentes antineoplásicos que se desvelan en el presente documento, antes del trasplante en el individuo afectado. En una realización, las células madre hematopoyéticas y/o la médula ósea para su uso en el trasplante autólogo de células madre en un individuo con un cáncer hemático pueden tratarse con una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido) suficientemente complementarios a una molécula de ARNm_{nc}AS o ARNm_{nc}S (por ejemplo, cualquiera de las moléculas de ARNm_{nc}AS y/o ARNm_{nc}S que se desvelan en el presente documento) para formar un dúplex estable antes del trasplante en el individuo afectado. En otra realización, el uno o más oligonucleótidos son suficientemente complementarios a uno o más ARNm_{nc} codificados por una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1-6, para formar un dúplex estable. En otras realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198.

30 IV. Composiciones

Cualquiera de los agentes antineoplásicos (tales como los agentes a base de oligonucleótidos) que se desvelan en el presente documento pueden administrarse en forma de composiciones (por ejemplo, composiciones farmacéuticas). Estos compuestos pueden administrarse mediante la administración sistémica o la administración local a través de diversas vías. La vía o vías de administración útiles en una aplicación particular son evidentes para un experto en la materia. Las vías de administración incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: oral, rectal, cerebroespinal, transdérmica, subcutánea, tópica, transmucosa, nasofaríngea, pulmonar, intravenosa, intramuscular e intranasal. En algunas realizaciones, la administración es una administración local. En algunas realizaciones, la administración local se selecciona entre el grupo que consiste en la administración en un órgano, en una cavidad, en un tejido y en la administración subcutánea. En algunas realizaciones, la administración es administración sistémica. En algunas realizaciones, la administración sistémica es la administración intravenosa o intraperitoneal. Estos compuestos son eficaces como composiciones tanto inyectables como orales. Dichas composiciones se preparan de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica y comprenden al menos un compuesto activo. Las composiciones del presente documento también pueden contener más de un compuesto activo según sea necesario para la indicación particular que se está tratando, preferentemente aquellas con actividades complementarias que no se afectan adversamente entre sí. Cuando se emplean como composiciones orales, los oligonucleótidos y otros agentes antineoplásicos que se desvelan en el presente documento están protegidos de la digestión ácida en el estómago por un protector farmacéuticamente aceptable.

La presente divulgación también incluye composiciones farmacéuticas que contienen, como principio activo, uno o más de los agentes antineoplásicos que se desvelan en el presente documento asociados a uno o más excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables. En la fabricación de las composiciones que se desvelan en el presente documento, el principio activo se mezcla por lo general con un excipiente o vehículo, se diluye con un excipiente o vehículo o se encierra dentro de dicho excipiente o vehículo que puede estar en forma de cápsula, sobre, papel u otro envase. Cuando el excipiente o vehículo sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido, que actúa como vehículo, excipiente o medio para el principio activo. Por tanto, las composiciones pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas, sobres, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (tales como un sólido o en un medio líquido), pomadas que contengan, por ejemplo, hasta el 10 % en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos en envases estériles.

En algunas realizaciones, en la preparación de una formulación, puede ser necesario moler el compuesto liofilizado activo para proporcionar el tamaño de partícula adecuado antes de la combinación con los otros ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, normalmente se muele hasta un tamaño de partícula inferior a una malla 200. Si el compuesto activo es sustancialmente hidrosoluble, el tamaño de partícula se ajusta normalmente mediante molienda para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo,

aproximadamente una malla 40.

Algunos ejemplos de excipientes o vehículos adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábiga, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua estéril, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y suspensoros; agentes conservantes tales como metil- y propilhidroxi-benzoatos; agentes edulcorantes; y agentes aromatizantes. Las composiciones que se describen en el presente documento pueden formularse para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada del principio activo después de la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.

Las composiciones pueden formularse en una forma de dosificación unitaria, conteniendo cada dosis de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 100 mg o más, tal como cualquiera de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 mg, de 1 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 30 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 40 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 60 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 70 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 80 mg o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 90 mg, inclusive, incluyendo cualquier intervalo entre estos valores, del principio activo. La expresión "formas de dosificación unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para individuos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente o vehículo farmacéutico adecuado.

Los agentes antineoplásicos (tales como agentes a base de oligonucleótidos) que se desvelan en el presente documento son eficaces en un amplio intervalo de dosis y generalmente se administran en una cantidad terapéuticamente eficaz. Sin embargo, se entenderá que la cantidad de los agentes antineoplásicos administrados realmente será determinada por un médico, a la luz de las circunstancias pertinentes, incluyendo la afección que se trata, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual y la gravedad de los síntomas del paciente.

Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, el principio principal de la terapia antineoplásica se mezcla con un excipiente o vehículo farmacéutico para formar una composición de preformulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto que se desvela en el presente documento. Cuando se hace referencia a estas composiciones de preformulación como homogéneas, se entiende que el principio activo se dispersa uniformemente en toda la composición, de manera que la composición puede subdividirse fácilmente en formas de dosificación unitarias igualmente eficaces, tales como comprimidos, píldoras y cápsulas.

Los comprimidos o píldoras que se desvelan en el presente documento pueden recubrirse o combinarse de otro modo para proporcionar una forma de dosificación que ofrezca la ventaja de una acción prolongada y para proteger las terapias antineoplásicas (tales como un oligonucleótido) a partir de la hidrólisis ácida en el estómago. Por ejemplo, el comprimido o píldora puede comprender un componente de dosificación interna y un componente de dosificación externa, estando este último en forma de una envoltura sobre el primero. Los dos componentes pueden separarse mediante una capa entérica que sirve para resistir la disgregación en el estómago y permitir que el componente interno pase intacto al duodeno o se retrase en la liberación. Se puede usar una diversidad de materiales para dichas capas o recubrimientos entéricos, incluyendo dichos materiales varios ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con materiales tales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

Las formas líquidas en las que las composiciones que se desvelan en el presente documento pueden incorporarse para la administración por vía oral o por inyección, incluyen soluciones acuosas, jarabes aromatizados adecuadamente, suspensiones acuosas u oleosas y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, así como elixires y vehículos farmacéuticos similares.

Las vías de administración parenterales incluyen, pero no se limitan a, la inyección directa en una vía venosa central, inyección intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intradérmica o subcutánea. Las formulaciones de oligonucleótidos (por ejemplo, una formulación de oligonucleótido y microvehículo) adecuadas para la administración parenteral generalmente se formulan en agua USP o agua para inyección y pueden comprender adicionalmente tampones de pH, agentes de carga de sales, conservantes y otros excipientes farmacéuticamente aceptables. El oligonucleótido u oligonucleótidos, por ejemplo, como complejos o encapsulados de microvehículos de oligonucleótidos, para la inyección parenteral pueden formularse en soluciones isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables tales como solución salina y solución salina tamponada con fosfato para inyección.

Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos, farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se describe en el presente documento. Las composiciones pueden administrarse por vía respiratoria oral o nasal por efecto local o sistémico.

Las composiciones en disolventes farmacéuticamente aceptables pueden nebulizarse mediante el uso de gases inertes. Las soluciones nebulizadas pueden inhalarse directamente desde el dispositivo de nebulización o el dispositivo de nebulización puede fijarse a una máscara facial o a una máquina de respiración de presión positiva intermitente. También pueden administrarse composiciones en solución, suspensión o polvo, por vía oral o nasal, desde dispositivos que entregan la formulación de una manera apropiada.

V. Métodos de tratamiento

A. Métodos para suprimir o prevenir la metástasis de un cáncer

En un aspecto, en el presente documento se proporciona uno o más oligonucleótidos (o una composición de los mismos) para su uso en la supresión o prevención de la metástasis de un cáncer en un individuo. En otro aspecto, en el presente documento se proporciona uno o más oligonucleótidos (o composiciones de los mismos) para su uso en combinación con al menos una terapia para suprimir o prevenir la metástasis de un cáncer en un individuo. En cualquiera de los aspectos, en el presente documento, el individuo puede haberse tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método de supresión de la metástasis de un cáncer en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento, en el que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable y en el que el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia. En una realización adicional, el método de supresión de la metástasis de un cáncer en un individuo comprende administrar uno o más oligonucleótidos en combinación con al menos una terapia que se desvela en el presente documento. En algunas realizaciones, la al menos una terapia se selecciona entre el grupo que consiste en un agente antineoplásico, una radioterapia, cirugía, una terapia de trasplante alógeno de células madre y una terapia de trasplante autólogo de células madre. En algunas de las realizaciones del presente documento, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia que comprende quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas. En algunas realizaciones, el individuo se ha tratado anteriormente con uno o más de entre bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona, doxorubicina, interferón alfa, lenalidomida, melfalán, interferón alfa pegilado, prednisona, talidomida y vincristina. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido y la al menos una terapia se administran secuencialmente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse a un individuo antes o después de que un tumor o tumores se hayan resecado quirúrgicamente del individuo. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y la al menos una terapia se administran simultáneamente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse a un individuo durante la resección quirúrgica de un tumor o tumores del individuo.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método de prevención de la metástasis de un cáncer en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento, en el que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable y en el que el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia. En una realización adicional, el método de supresión o prevención de la metástasis de un cáncer en un individuo comprende administrar el uno o más oligonucleótidos en combinación con al menos una terapia que se desvela en el presente documento. En algunas realizaciones, la al menos una terapia se selecciona entre el grupo que consiste en un agente antineoplásico, una radioterapia, cirugía, una terapia de trasplante alógeno de células madre y una terapia de trasplante autólogo de células madre. En algunas de las realizaciones del presente documento, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia que comprende quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas. En algunas realizaciones, el individuo se ha tratado anteriormente con uno o más de entre bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona, doxorubicina, interferón alfa, lenalidomida, melfalán, interferón alfa pegilado, prednisona, talidomida y vincristina. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido y la al menos una terapia se administran secuencialmente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse a un individuo antes o después de que un tumor o tumores se hayan resecado quirúrgicamente del individuo. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y la al menos una terapia se administran simultáneamente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse a un individuo durante la resección quirúrgica de un tumor o tumores del individuo.

Como ejemplos no limitantes, un método de supresión o de prevención de la metástasis del cáncer de acuerdo con la presente divulgación puede ser mediante la administración de uno o más oligonucleótidos (o una composición de los mismos) que se describen en el presente documento como una dosis diaria en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg, como de aproximadamente 0,5, aproximadamente 0,9, aproximadamente 1,0, aproximadamente 1,1, aproximadamente 1,5, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 8, aproximadamente 9, aproximadamente 10, aproximadamente 11, aproximadamente 12, aproximadamente 13, aproximadamente 14, aproximadamente 15, aproximadamente 16, aproximadamente 17, aproximadamente 18, aproximadamente 19, aproximadamente 20, aproximadamente 21, aproximadamente 22, aproximadamente 23, aproximadamente 23,

aproximadamente 25, aproximadamente 25, aproximadamente 26, aproximadamente 27, aproximadamente 28, aproximadamente 29, aproximadamente 30, aproximadamente 40, aproximadamente 45, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90 o aproximadamente 100 mg/kg, por día, al menos uno de los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 o como alternativa, al menos una de las semanas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 después del inicio del tratamiento o cualquiera de sus combinaciones, usando dosis únicas o divididas cada 24, 12, 8, 6, 4 o 2 horas o cualquier combinación de las mismas.

En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos (o una composición de los mismos) pueden administrarse en combinación con al menos una terapia (por ejemplo, un agente antineoplásico, una radioterapia, cirugía, una terapia de trasplante alógeno de células madre o una terapia de trasplante autólogo de células madre). En algunas realizaciones, la combinación se administra secuencialmente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse aproximadamente a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 días o, como alternativa, aproximadamente a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 semanas de separación de la administración de la al menos una terapia durante el tratamiento de combinación. En algunas realizaciones, la combinación se administra simultáneamente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse aproximadamente a 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18., 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58 o 59 minutos o, como alternativa, aproximadamente a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 horas después de la administración de la al menos una terapia durante el tratamiento de combinación.

25 B. Métodos de tratamiento o prevención de la recaída de un cáncer

En otros aspectos, en el presente documento se proporciona uno o más oligonucleótidos (o composiciones de los mismos) para su uso en el tratamiento o la prevención de la recaída de un cáncer en un individuo. En algunas realizaciones, el individuo ha respondido al tratamiento inicial y está en remisión.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método de tratamiento o prevención de la recaída del cáncer en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento, en el que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable y en el que el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia. En una realización adicional, el método de tratamiento o prevención de la recaída del cáncer en un individuo comprende administrar los uno o más oligonucleótidos en combinación con al menos una terapia que se desvela en el presente documento. En algunas realizaciones, la al menos una terapia se selecciona entre el grupo que consiste en un agente antineoplásico, una radioterapia, cirugía, una terapia de trasplante alógeno de células madre y una terapia de trasplante autólogo de células madre. En algunas de las realizaciones del presente documento, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia que comprende quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas. En algunas realizaciones, el individuo se ha tratado anteriormente con uno o más de entre bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona, doxorubicina, interferón alfa, lenalidomida, melfalán, interferón alfa pegilado, prednisona, talidomida y vincristina. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido y la al menos una terapia se administran secuencialmente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse a un individuo antes o después de que un tumor o tumores se hayan resecado quirúrgicamente del individuo. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y la al menos una terapia se administran simultáneamente. Por ejemplo, pueden administrarse uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento a un individuo durante la resección quirúrgica de un tumor o tumores del individuo.

Como ejemplos no limitantes, un método de tratamiento o prevención de la recaída de un cáncer de acuerdo con la presente divulgación puede ser mediante la administración de uno o más oligonucleótidos (o una composición de los mismos) que se describen en el presente documento como una dosis diaria en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg, tal como de aproximadamente 0,5, aproximadamente 0,9, aproximadamente 1,0, aproximadamente 1,1, aproximadamente 1,5, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 7, aproximadamente 8, aproximadamente 9, aproximadamente 9, aproximadamente 10, aproximadamente 11, aproximadamente 12, aproximadamente 13, aproximadamente 14, aproximadamente 15, aproximadamente 16, aproximadamente 17, aproximadamente 18, aproximadamente 19, aproximadamente 20, aproximadamente 21, aproximadamente 22, aproximadamente 23, aproximadamente 23, aproximadamente 25, aproximadamente 25, aproximadamente 26, aproximadamente 27, aproximadamente 28, aproximadamente 29, aproximadamente 30, aproximadamente 40, aproximadamente 45, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90 o aproximadamente 100 mg/kg, por día, al menos uno de los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 o, como alternativa, al menos una de entre las semanas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 después del inicio del tratamiento o cualquier combinación de los mismos, usando dosis únicas o divididas cada 24, 12, 8, 6, 4 o 2 horas o cualquier

combinación de las mismas.

En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos (o una composición de los mismos) pueden administrarse en combinación con al menos una terapia (por ejemplo, un agente antineoplásico, una radioterapia, cirugía, una terapia de trasplante alógeno de células madre o una terapia de trasplante autólogo de células madre). En algunas realizaciones, la combinación se administra secuencialmente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse aproximadamente a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 días o, como alternativa, aproximadamente a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 semanas de separación de la administración de al menos una terapia durante el tratamiento de combinación. En algunas realizaciones, la combinación se administra simultáneamente. Por ejemplo, pueden administrarse uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento aproximadamente a 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58 o 59 minutos o, como alternativa, aproximadamente a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 horas de separación de la administración de la al menos una terapia durante el tratamiento de combinación.

En otras realizaciones, puede usarse una "pauta de mantenimiento" en la que una o más terapias de mantenimiento a base de oligonucleótidos (tales como a base de oligonucleótidos antisentido) se administran con menos frecuencia que en el tratamiento original administrado antes de la remisión, tal como una vez por semana o una vez cada dos semanas. La pauta de mantenimiento puede continuarse durante un período de tiempo fijo, generalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 2 años o por tiempo indefinido, a condición de que el paciente continúe sin mostrar signos de enfermedad progresiva y tolere el tratamiento sin toxicidad significativa.

25 C. Métodos de tratamiento del cáncer metastásico

En otros aspectos más, en el presente documento se proporciona uno o más oligonucleótidos (o composiciones de los mismos) para su uso en el tratamiento del cáncer metastásico (tal como el cáncer metastásico recidivante) en un individuo.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona un método para el tratamiento del cáncer metastásico (tal como el cáncer metastásico recidivante) en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento, en el que el oligonucleótido puede hibridarse con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable y en el que el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia. En una realización adicional, el método de tratamiento del cáncer metastásico (tal como el cáncer metastásico recidivante) en un individuo comprende administrar uno o más oligonucleótidos en combinación con al menos una terapia que se desvela en el presente documento. En algunas realizaciones, la al menos una terapia se selecciona entre el grupo que consiste en un agente antineoplásico, una radioterapia, cirugía, una terapia de trasplante alógeno de células madre y una terapia de trasplante autólogo de células madre. En algunas de las realizaciones del presente documento, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia que comprende quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el oligonucleótido y la al menos una terapia se administran secuencialmente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse a un individuo antes o después de que un tumor o tumores se hayan resecado quirúrgicamente del individuo. En algunas realizaciones, el oligonucleótido y la al menos una terapia se administran simultáneamente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse a un individuo durante la resección quirúrgica de un tumor o tumores del individuo.

Como ejemplos no limitantes, un método para el tratamiento del cáncer metastásico (tal como el cáncer metastásico recidivante) de acuerdo con la presente divulgación puede ser mediante la administración de uno o más oligonucleótidos (o una composición de los mismos) que se describe en el presente documento como una dosis diaria en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg, tal como de aproximadamente 0,5, aproximadamente 0,9, aproximadamente 1,0, aproximadamente 1,1, aproximadamente 1,5, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 8, aproximadamente 9, aproximadamente 10, aproximadamente 11, aproximadamente 12, aproximadamente 13, aproximadamente 14, aproximadamente 15, aproximadamente 16, aproximadamente 17, aproximadamente 18, aproximadamente 19, aproximadamente 20, aproximadamente 21, aproximadamente 22, aproximadamente 23, aproximadamente 24, aproximadamente 25, aproximadamente 25, aproximadamente 27, aproximadamente 28, aproximadamente 29, aproximadamente 30, aproximadamente 40, aproximadamente 45, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90 o aproximadamente 100 mg/kg, por día, en al menos uno de los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 o, como alternativa, al menos una de entre las semanas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 después del inicio del tratamiento o cualquier combinación de los mismos, usando dosis únicas o divididas cada 24, 12, 8, 6, 4 o 2 horas o cualquier combinación de las mismas.

En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos (o una composición de los mismos) pueden administrarse en combinación con al menos una terapia (por ejemplo, un agente antineoplásico, una radioterapia, cirugía, una terapia de trasplante alógeno de células madre o una terapia de trasplante autólogo de células madre). En algunas realizaciones, la combinación se administra secuencialmente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse aproximadamente a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40 días o, como alternativa, aproximadamente a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 semanas de separación de la administración de al menos una terapia durante el tratamiento de combinación. En algunas realizaciones, la combinación se administra simultáneamente. Por ejemplo, uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento pueden administrarse aproximadamente 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58 o 59 minutos o, como alternativa, aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 horas después de la administración de al menos una terapia durante el tratamiento de combinación.

En otra realización, la cantidad terapéuticamente eficaz de dicho uno o más oligonucleótidos (o composiciones de los mismos) se administra como parte de una terapia de rescate en el tratamiento de un individuo en el que el cáncer se ha vuelto resistente a otro tratamiento contra el cáncer. En algunas realizaciones, el individuo recayó después del tratamiento con uno o más de entre bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona, doxorubicina, interferón alfa, lenalidomida, melfalán, interferón alfa pegilado, prednisona, talidomida y vincristina.

Sin quedar ligado a teoría alguna, se cree que las CMC dan origen a la recaída y/o la metástasis de un cáncer después del tratamiento del tumor primario. En algunos aspectos, los métodos de tratamiento como se describen en el presente documento (por ejemplo, un método de supresión o de prevención de la metástasis de un cáncer, etc.) eliminan o suprimen células madre cancerosas. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento pueden destruir o inhibir las células madre cancerosas (CMC) para suprimir la metástasis, prevenir la metástasis o prevenir la recaída de un cáncer en un individuo. En algunas realizaciones, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia. En una realización, los oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento pueden destruir o inhibir las células madre cancerosas (CMC) que son resistentes al tratamiento (por ejemplo, quimioterapia). En una realización, el tratamiento de un individuo con uno o más oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento (por ejemplo, un oligonucleótido complementario de una molécula de ARNm tncAS) inhibe, detiene, destruye o suprime de manera no selectiva las CMC en el individuo. En una realización, uno o más oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento (por ejemplo, un oligonucleótido complementario a una molécula de ARNm tncAS) reduce el número de CMC en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido. En una realización adicional, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia.

En cualquiera de las realizaciones de los métodos del presente documento, uno o más oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento (por ejemplo, un oligonucleótido complementario a una molécula de ARNm tncAS) inhibe el crecimiento tumoral y/o la metástasis en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido.

En cualquiera de las realizaciones de los métodos del presente documento (por ejemplo, un método de supresión o de prevención de la metástasis de un cáncer, un método de tratamiento o prevención de la recaída de un cáncer, un método de tratamiento del cáncer metastásico, etc.), el cáncer puede ser un cáncer sólido o un cáncer no sólido. En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el cáncer es un cáncer sólido. Los ejemplos de cánceres sólidos contemplados en el presente documento incluyen, sin limitación, cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón macrocítico, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células escamosas, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer cerebral, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, sarcoma, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, cáncer de orofaringe, carcinoma de glándula salival, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, cáncer gástrico, melanoma y diversos tipos de cáncer de cabeza y cuello.

En algunas realizaciones, el cáncer se asocia a una infección por el virus del papiloma humano (VPH), también denominado en el presente documento "cáncer asociado al VPH", tal como en el cáncer de cuello uterino, el cáncer orofaríngeo y el cáncer de cabeza y cuello. Por ejemplo, uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo del cáncer de cuello uterino es una infección por VPH. Se han identificado más de 100 cepas de VPH, sin embargo, solo un subconjunto se clasifica como tipos de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 y 82) o de alto riesgo probable (26, 53 y 66) para el desarrollo de cáncer (Munoz et al., *NEJM*, 348: 518-527, 2003). De estos tipos de VPH, se informa que VPH16 y VPH18 provocan casi el 70 % de todos los casos de cáncer de cuello uterino, mientras que el VPH 31 y 35 provocan otro 10 % de los casos de cáncer de cuello uterino. Consulte Walboomers et al., *J Pathol.*, 189 (1): 12-9, 1999. El cáncer asociado al VPH puede implicar uno o más de las siguientes etapas: (1) infección inicial por VPH, (2) infección persistente por VPH, (3) transformación de la infección por VPH, en presencia o ausencia de integración del ADN del VPH en el genoma de la célula hospedadora, (4) desarrollo de lesiones precancerosas, (5) desarrollo de al menos un tumor primario y (6) desarrollo

de cáncer invasivo (por ejemplo, cáncer metastásico).

En algunos casos, el cáncer asociado al VPH es resistente a agentes quimioterápicos que se usan regularmente para el tratamiento del cáncer. Por ejemplo, las células de cuello uterino inmortalizadas con VPH 16 pueden desarrollar resistencia al cisplatino, paclitaxel, actinomicina D, doxorrubicina, etopósido y 5-fluorouracilo, lo que representa un obstáculo importante en el tratamiento del cáncer. Véase Ding et al., *Int J Cancer*, 15: 87 (6) 818-23, 2000. En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona uno o más oligonucleótidos (o composiciones de los mismos) para su uso en la supresión de la metástasis de un cáncer en un individuo, en el que el cáncer es resistente a un agente quimioterápico y en el que el cáncer es un cáncer asociado al VPH. En algunas realizaciones en el presente documento, se proporciona en el presente documento uno o más oligonucleótidos (o composiciones de los mismos) para su uso en el tratamiento o la prevención de la recaída de un cáncer en un individuo, en el que el cáncer es resistente a un agente quimioterápico y en el que el cáncer es un cáncer asociado al VPH. En algunas realizaciones en el presente documento, en el presente documento se proporciona uno o más oligonucleótidos (o composiciones de los mismos) para su uso en el tratamiento del cáncer metastásico (tal como el cáncer metastásico recidivante) en un individuo, en el que el cáncer metastásico es resistente a un agente quimioterápico y en el que el cáncer metastásico es un cáncer asociado al VPH. En algunas realizaciones en el presente documento, se proporciona en el presente documento uno o más oligonucleótidos (o composiciones de los mismos) para su uso en el tratamiento de un cáncer resistente en un individuo. En algunas realizaciones, el cáncer resistente es un cáncer resistente asociado al VPH. En algunas realizaciones, el cáncer resistente asociado al VPH es resistente a un agente quimioterápico. Como se usa en el presente documento, la expresión "cáncer resistente" se refiere a un cáncer (por ejemplo, un cáncer asociado al VPH) que no responde al tratamiento, por ejemplo, un cáncer que es resistente al inicio del tratamiento (por ejemplo, tratamiento con un agente quimioterápico) o un cáncer que puede volverse resistente durante el tratamiento. En algunas realizaciones, el agente quimioterápico se selecciona entre el grupo que consiste en cisplatino, paclitaxel, actinomicina D, doxorrubicina, etopósido y 5-fluorouracilo. En algunas realizaciones, el agente quimioterápico es cisplatino. En algunas de las realizaciones del presente documento, el cáncer asociado al VPH (por ejemplo, un cáncer asociado al VPH resistente) proviene de una infección con una o más cepas de VPH seleccionadas entre el grupo que consiste en VPH 16, VPH 18, VPH 31 y VPH 45. En algunas de las realizaciones del presente documento, el cáncer asociado al VPH (por ejemplo, un cáncer asociado al VPH resistente) proviene de una infección con la cepa VPH 45 del VPH. En algunas realizaciones, el oligonucleótido es complementario a la molécula de ARNm_{tnC}S codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 1, la SEQ ID NO: 2 y la SEQ ID NO: 3. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos es complementario a la molécula de ARNm_{tnC}AS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198. En algunas realizaciones, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198.

En algunas realizaciones, en el presente documento se proporciona uno o más oligonucleótidos (o composiciones de los mismos) para su uso en el tratamiento de un cáncer resistente en un individuo. En algunas realizaciones, el cáncer resistente es resistente a un agente quimioterápico. En algunas realizaciones, el agente quimioterápico es cisplatino. En algunas realizaciones, el cáncer resistente es un cáncer sólido que se desvela en el presente documento. Por ejemplo, el cáncer sólido resistente puede ser uno o más de entre cáncer de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino (por ejemplo, un cáncer de cuello uterino asociado al VPH resistente), cáncer de colon, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer gástrico, hígado y cáncer de las vías biliares, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de boca, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de faringe, cáncer de próstata, cáncer de riñón, cáncer de testículo o cáncer de tiroides. En algunas realizaciones, el cáncer resistente es un cáncer no sólido que se desvela en el presente documento. Por ejemplo, el cáncer resistente puede ser uno o más de entre mieloma múltiple, leucemia o linfoma.

En cualquiera de las realizaciones del presente documento, el cáncer es un cáncer no sólido. "Cáncer no sólido" se refiere a una malignidad hemática que implica un crecimiento anormal y/o la metástasis de una célula sanguínea. Los ejemplos de cánceres no sólidos contemplados en el presente documento incluyen, sin limitación, mieloma múltiple, leucemia mieloide aguda, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia no linfocítica aguda, leucemia granulocítica aguda, leucemia granulocítica crónica, leucemia promielocítica aguda, leucemia de linfocitos T de adultos, leucemia aleucémica, leucemia leucocitémica, leucemia basófila, leucemia de células blásticas, leucemia bovina, leucemia mielocítica crónica, leucemia cutis, leucemia embrionaria, leucemia eosinófila, leucemia de Gross, leucemia de células pilosas, leucemia hemoblástica, leucemia hemocitoblástica, leucemia histiocítica, leucemia de células madre, leucemia monocítica aguda, leucemia leucopénica, leucemia linfática, leucemia linfoblástica, leucemia linfocítica, leucemia linfógena, leucemia linfoide, leucemia de células de linfosarcoma, leucemia de mastocitos, leucemia megacariocítica, leucemia micromieloblástica, leucemia monocítica, leucemia mieloblástica, leucemia mielocítica, leucemia granulocítica mieloide, leucemia mielomonocítica, leucemia de Naegeli, leucemia de células plasmáticas, leucemia plasmocítica, leucemia promielocítica, leucemia de células Rieder, leucemia de Schilling, leucemia de células madre, leucemia subleucémica, leucemia de células indiferenciadas, mielofibrosis idiopática, linfoma (tal como linfoma no Hodgkin y linfoma de Hodgkin) y síndrome mielodisplásico.

Los métodos que se desvelan en el presente documento pueden ponerse en práctica en un contexto adyuvante. El "contexto adyuvante" puede referirse a un contexto clínico en el que un individuo ha tenido una historia de cáncer y, en general (pero no necesariamente) ha respondido a la terapia, que incluye, pero no se limita a, cirugía (tal como resección quirúrgica), radioterapia y quimioterapia. Sin embargo, debido a su historial de cáncer (tal como el melanoma o el cáncer de colon), estas personas se consideran en riesgo de desarrollar cáncer. El tratamiento o la administración en el "contexto adyuvante" se refiere a un modo de tratamiento posterior. El grado de riesgo (es decir, cuando un individuo en el contexto adyuvante se considera "alto riesgo" o "bajo riesgo") depende de varios factores, más por lo general el grado de la enfermedad (cáncer) cuando se trata por primera vez.

En consecuencia, la presente divulgación se refiere a métodos para inhibir los síntomas o afecciones (discapacidades, deficiencias) asociados al cáncer (por ejemplo, cáncer metastásico o cáncer recidivante) como se describe en detalle a continuación. Como tal, no se requiere que todos los efectos de la afección se prevengan o se reviertan por completo, aunque los efectos de los métodos actualmente desvelados probablemente se extiendan a un beneficio terapéutico significativo para el individuo. Como tal, un beneficio terapéutico no es necesariamente una prevención o cura completa para la afección, sino que puede abarcar un resultado que incluye reducir o prevenir los síntomas que son resultado del cáncer (por ejemplo, cáncer metastásico o cáncer recidivante), reduciendo o previniendo la aparición de dichos síntomas (cuantitativa o cualitativamente), reduciendo la gravedad de dichos síntomas o los efectos fisiológicos de los mismos y/o potenciando la recuperación del individuo después de experimentar síntomas de cáncer (por ejemplo, cáncer metastásico o cáncer recidivante).

Específicamente, las terapias (por ejemplo, uno o más oligonucleótidos) que se desvelan en el presente documento, cuando se administran a un individuo, pueden tratar o prevenir uno o más de los síntomas o afecciones asociados al cáncer (por ejemplo, cáncer metastásico o cáncer recidivante) y/o reducir o aliviar los síntomas o afecciones asociados a este trastorno. Como tal, proteger a un individuo de los efectos o síntomas resultado del cáncer (por ejemplo, cáncer metastásico o cáncer recidivante) incluye tanto prevenir como reducir la aparición y/o la gravedad de los efectos del trastorno y tratar a un paciente en el que los efectos del trastorno ya están produciéndose o comienzan a producirse. Un experto en la materia y/o un médico capacitado que esté tratando al paciente puede evaluar fácilmente un efecto beneficioso. Preferentemente, existe una diferencia positiva o beneficiosa en la gravedad o la aparición de al menos una puntuación, un valor o una medida clínicos o biológicos utilizados para evaluar a dicho individuo en aquellos que se han tratado con los métodos que se desvelan en el presente documento en comparación con aquellos que no. Por ejemplo, la al menos una puntuación, un valor o una medida clínicos o biológicos utilizados para evaluar a un individuo de este tipo es la capacidad de las células (por ejemplo, células madre cancerosas) tomadas de un tumor primario, un tumor secundario, una biopsia o líquido ascítico de un individuo para formar esferas en un ensayo de formación de esferas. Los métodos para purificar células tales como células madre cancerosas de tumores u otras muestras biológicas son bien conocidos en la técnica, tal como en la Patente de los EE.UU. N.º 8.614.095. En un ensayo de formación de esferas ejemplar, un tumor se extirpa quirúrgicamente de un sujeto y se tritura con un bisturí en fragmentos de aproximadamente 2 a 3 mm³. Los fragmentos se lavan con un tampón (por ejemplo, PBS) y después se incuban con un tampón que contiene hipoclorito de sodio. Los fragmentos de tejido tumoral se lavan con tampón y se digieren con PBS y se digieren con un medio que contiene uno o más de entre colagenasa I, colagenasa IV, dispasa, hialuronidasa y ADNasa. La suspensión celular se centrifuga y el sedimento se suspende en un tampón que contiene β FGF y EGF. Las células se lavan para retirar el suero y se suspenden en medio complementado con EGF humano, β FGF humano, complemento de B27 sin vitamina A, hidrocortisona, insulina y complemento de N2. Las células se cultivan posteriormente en placas no adherentes. Después de 10 días en cultivo, se obtienen y se cuentan esferas de 100 a 200 μ m de diámetro. Las esferas pueden expandirse adicionalmente de forma clónica o pueden inyectarse en un sujeto para observar la capacidad de formación de tumores. En algunas realizaciones, un individuo que ha recibido una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos (o composiciones de los mismos) que se desvelan en el presente documento, solos o en combinación con al menos una terapia que se desvela en el presente documento, tiene una formación de esferas reducida en comparación con un individuo no tratado con los oligonucleótidos que se desvelan en el presente documento.

VI. Artículos de fabricación o kits

En otro aspecto, se proporciona un artículo de fabricación o kit que comprende uno o más oligonucleótidos que se describen en el presente documento. El artículo de fabricación o kit puede comprender adicionalmente instrucciones para el uso del uno o más oligonucleótidos en los métodos que se desvelan en el presente documento. En consecuencia, en determinadas realizaciones, el artículo de fabricación o kit comprende instrucciones para el uso de uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS) o una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARNmtncS) en métodos de supresión de la metástasis de un cáncer, prevenir o tratar la recaída de un cáncer y/o tratar el cáncer de metástasis en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos. En determinadas realizaciones, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia (por ejemplo, quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas). En algunas realizaciones, el artículo de fabricación o kit comprende instrucciones para el uso de uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARN mitocondrial quimérica no codificante (ARNmtncAS) o una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARNmtncS) en métodos para tratar un cáncer resistente (por ejemplo, un cáncer

resistente asociado al VPH) en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos.

5 El artículo de fabricación o kit puede comprender adicionalmente un recipiente. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales (por ejemplo, viales de doble cámara), jeringuillas (por ejemplo, jeringuillas de cámara simple o doble), bolsas IV y tubos de ensayo. El contenedor puede estar formado por una diversidad de materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente contiene la composición (por ejemplo, formulación farmacéutica).

10 El artículo de fabricación o kit puede comprender adicionalmente una etiqueta o un prospecto, que está dentro de o asociado al envase y puede indicar instrucciones para la reconstitución y/o uso de la composición (por ejemplo, formulación farmacéutica). La etiqueta puede indicar adicionalmente que la formulación es útil o está destinada a la administración intravenosa, subcutánea u otros modos de administración de supresión de la metástasis de un cáncer, prevenir o tratar la recaída de un cáncer y/o tratar el cáncer metastásico en un individuo. En otras realizaciones, la etiqueta puede indicar adicionalmente que la formulación es útil o está destinada a la administración intravenosa, subcutánea u otros modos de tratamiento para el tratamiento de un cáncer resistente (por ejemplo, un cáncer resistente asociado al VPH) en un individuo. El recipiente que contiene la formulación puede ser un vial de un solo uso o un vial de usos múltiples, que permite la administración repetida (por ejemplo, de 2 a 6 administraciones) de la composición reconstituida (por ejemplo, la formulación farmacéutica). El artículo de fabricación o kit puede comprender adicionalmente un segundo recipiente que comprenda un diluyente adecuado. El artículo de fabricación o kit puede incluir adicionalmente otros materiales deseables desde el punto de vista comercial, terapéutico y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringuillas e insertos de paquetes con instrucciones de uso.

25 El artículo de fabricación o kit que se describe en el presente documento comprende adicionalmente un recipiente que comprende una segunda composición terapéutica (por ejemplo, un agente antineoplásico). Por ejemplo, el artículo de fabricación o kit puede comprender uno o más oligonucleótidos como una primera composición (por ejemplo, una primera composición farmacéutica) y un agente antineoplásico como una segunda composición (por ejemplo, una segunda composición farmacéutica). En algunas realizaciones, el kit comprende adicionalmente instrucciones para el uso del uno o más oligonucleótidos en combinación con el agente antineoplásico en los métodos que se describen en el presente documento. Un ejemplo de agentes antineoplásicos puede ser remicade, docetaxel, celecoxib, melfalán, dexametasona, esteroides, gemcitabina, cisplatino, temozolomida, etopósido, ciclofosfamida, temodar, carboplatino, procarbazona, gliadel, tamoxifeno, topotecán, metotrexato, gefitinib, taxol, taxotere, fluorouracilo, leucovorina, irinotecán, xeloda, CPT-11, interferón alfa, interferón alfa pegilado, capecitabina, cisplatino, tiotepa, fludarabina, carboplatino, daunorrubicina liposómica, citarabina, doxetaxol, paclitaxel, vinblastina, IL-2, GM-CSF, dacarbazina, vinorelbina, ácido zoledrónico, palmitronato, biaxina, busulfán, prednisona, bortezomib, bifosfonato, trióxido de arsénico, vincristina, doxorubicina, paclitaxel, ganciclovir, adriamicina, fosfato de sodio de estramustina, sulindaco y etopósido.

40 VII. Realizaciones ejemplares adicionales

La presente solicitud en algunas realizaciones proporciona un método de tratamiento para un cáncer resistente en un individuo que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de uno o más oligonucleótidos complementarios a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS) o una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARNmtncS), en el que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con las moléculas de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable.

50 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido es suficientemente complementario a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante humano que comprende: a) un ARN ribosómico mitocondrial 16S antisentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida o b) un ARN ribosómico mitocondrial 16S sentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida.

55 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido es complementario a la molécula de ARNmtncAS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6.

60 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido es al menos un 85 % complementario a la molécula de ARNmtncAS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6.

En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198.

65

En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el uno o más oligonucleótidos comprenden una secuencia de ácido nucleico seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 36, 197 y 198.

5 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido se administra en combinación con al menos un agente antineoplásico.

En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se administran secuencialmente.

10 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se administran simultáneamente.

15 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido se administra en combinación con una radioterapia.

En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido se administra en combinación con cirugía.

20 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia que comprende quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de las mismas.

25 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el cáncer resistente es un cáncer asociado al VPH resistente.

En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el cáncer asociado al VPH resistente es uno o más seleccionados entre el grupo que consiste en: cáncer de cuello uterino, cáncer orofaríngeo y cáncer de cabeza y cuello.

30 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el cáncer asociado al VPH resistente es resistente a un agente quimioterápico.

35 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el agente quimioterápico es uno o más seleccionados entre el grupo que consiste en: cisplatino, paclitaxel, actinomicina D, doxorubicina, etopósido y 5-fluorouracilo.

40 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el cáncer resistente asociado al VPH proviene de una infección con una o más cepas de VPH seleccionadas entre el grupo que consiste en: VPH 16, VPH 18, VPH 31 y VPH 45.

45 En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido reduce el número de células madre cancerosas en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido.

En algunas realizaciones de acuerdo con (o como se aplican a) cualquiera de las realizaciones anteriores, el oligonucleótido inhibe el crecimiento tumoral y/o la metástasis en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido.

50 Ejemplos

Ejemplo 1: El tratamiento de células de cáncer de colon HCT-116 y cultivos primarios de células de cáncer de colon humano con oligonucleótidos antisentido complementarios a ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido suprimió la formación de esferas

55 En este estudio, se determinará la capacidad de las células, tanto de la estirpe celular de cáncer de colon HCT-116 como de cultivos primarios de células de cáncer de colon humano derivadas de pacientes, para formar cuerpos esferoides después del tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS). El ensayo utilizado midió los números de cuerpos esferoides, también denominados en el presente documento esferas, en función de la capacidad específica de las células madre cancerosas para formar estos cuerpos esferoides.

Materiales y métodos

65 Esquema experimental:

La FIG. 1 muestra un esquema general del procedimiento experimental y el ensayo utilizado en el presente documento para medir el efecto de oligonucleótidos antisentido dirigidos a ARNm_{tncAS} en el número de esferas formadas en células de cáncer de colon, en función de la capacidad específica de las células madre cancerosas para formar estos cuerpos esferoides. La formación de esferas se midió en células de cáncer de colon HCT-116 y cultivos primarios de células de cáncer de colon humano derivadas de pacientes.

Cultivos primarios de células cancerosas humanas:

Las biopsias de cáncer de colon se recibieron después de la cirugía y con el correspondiente consentimiento informado de cada paciente. Se transfirieron trozos de tumores de aproximadamente 500 mm³ a tubos estériles de 50 ml que contenían medio DMEM. Glucosa alta, GlutaMax™ (GIBCO), FCS al 10 % (Biological Industries), Fungizone® 1x, mezcla de antibióticos y antimicóticos 2x y gentamicina 25 µg/ml (Invitrogen). Las biopsias se procesaron 2 a 3 h después de la cirugía.

Con el fin de disgregar el tumor, se cortó un trozo de tumor de colon con un bisturí en fragmentos de aproximadamente 2 a 3 mm³. Los fragmentos se lavaron dos veces con PBS y después se incubaron durante 20 minutos con PBS que contenía hipoclorito de sodio al 0,5 %. Los fragmentos se lavaron tres veces con PBS y se digirieron con medio RPMI (Invitrogen) que contenía colagenasa I 1 mg/ml, colagenasa IV 2 mg/ml, dispasa 1 mg/ml, hialuronidasa 20 µg/ml y ADNasa 2000 U/ml. La mezcla se incubó a 37 °C durante 60 min y con agitación constante. A continuación, la suspensión celular se centrifugó a 200 x g durante 5 minutos y el sedimento se suspendió en PBS y se centrifugó nuevamente a 200 x g durante 5 minutos. El sedimento se resuspendió en DMEM/F12 que contenía 1x N2, βFGF 10 ng/ml y EGF 20 ng/ml, para la formación de esferas.

Cultivo de células HCT-116:

Se cultivaron células HCT-116 de acuerdo con protocolos convencionales. Las células HCT-116 obtenidas de ATCC se cultivaron en medio DMEM que contenía penicilina, gentamicina y fungizona, con FCS al 10 %, a 37 °C y con CO₂ al 5 %.

Selección de células tumorales por su formación de esferas y adherencia a placas recubiertas:

Se recogieron células derivadas de tumores de cáncer de colon o cultivos de HCT-116 y se lavaron para retirar el suero y se suspendieron en DMEM/F12 sin suero complementado con penicilina 100 UI/ml, estreptomina 100 mg/ml, EGF humano 20 ng/ml, βFGF humano 20 ng/ml, complemento de B27 al 2 % sin vitamina A, hidrocortisona, insulina (Lonza) y complemento de N2 (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU.). Las células se cultivaron posteriormente en placas no adherentes (Corning Inc., Corning, NY, EE.UU.) a una densidad de aproximadamente 5.000 células/pocillo o 1x10⁵ células en matraces T25 (Corning Inc. T25 3815). Después de 10 días en cultivo, se obtuvieron esferas de 100 a 200 µm de diámetro. El medio que contenía las esferas se filtró usando un filtro de nylon de 70 µm para eliminar células individuales. Las esferas se recogieron y se disociaron con tripsina-EDTA y se rompieron mecánicamente con una pipeta. Las células después se centrifugaron para retirar la enzima, se lavaron una vez con medio DMEM que contenía 105 CFS y se sembraron en placas adherentes recubiertas con colágeno I (Gibco) y se cultivaron a 37 °C y CO₂ al 5 % como se ha descrito anteriormente.

Transfección celular y oligonucleótidos antisentido:

Se sintetizaron oligonucleótidos antisentido (OAS) utilizados en este estudio por IDT (Integrated DNA Technologies, EE.UU.), Invitrogen o Biosearch Inc. con enlaces internucleosídicos de fosforotioato (PS) al 100 %. Para la transfección, las células se sembraron en placas de 12 pocillos (Nunc) a 50.000 células/pocillo. Al día siguiente, las células seleccionadas entre tumores de cáncer de colon o de cultivos de HCT-116 (véase Selección de células tumorales por su formación de esferas y adherencia a placas recubiertas) se transfectaron con los oligonucleótidos antisentido (OAS 1107S: 5'-GTCCTAAACTACCAAACC-3' (SEQ ID NO: 197) o OAS 1537S: 5'-CACCCACCAAGAACAGG-3' (SEQ ID NO: 36), dependiendo del tipo de célula) o un oligonucleótido de control (Oligo 154 de control: 5'-AGGTGGAGTGGATTGGGG-3' (SEQ ID NO: 199)) a una concentración final de 100 a 200 nM (dependiendo del tipo de célula) usando Lipofectamine 2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Además, un subconjunto de células se dejó sin tratar o en presencia de solo Lipofectamine 2000. La transfección se realizó durante 48 horas en condiciones de cultivo normales.

Ensayo de formación de esferas:

48 horas después de la transfección, las células se recogieron, se contaron y se cultivaron de 5.000 a 6.000 células en placas de 6 pocillos no adherentes (Corning Inc., Corning, NY, EE.UU.) como se ha descrito anteriormente (descrito anteriormente). Después de 10 días en cultivo, se obtuvieron y se contaron esferas de 100 a 200 µm de diámetro.

65 *Resultados*

La formación de la esfera no se modificó en los cultivos primarios de células de tumor de colon después de ningún tratamiento, tratamiento con Lipofectamine solamente o tratamiento con Oligo 154 de control. Pero la formación de esferas se suprimió en estas células primarias después del tratamiento con OAS 1537S (FIG 2).

5 Se usó un cultivo primario de un tumor de colon (paciente TPT; 50.000 células) para cuantificar la formación de esferas y evaluar el efecto de la transfección con OAS 1537S sobre la capacidad de estas células para formar esferas. Los tres grupos de células de control (no tratadas, tratadas con Lipofectamine solamente o tratadas con Oligo 154 de control) formaron esferas (de 30 a 37 esferas) equivalentes a aproximadamente el 0,6 % del número total de células sembradas. Las células transfectadas con OAS 1537S no pudieron formar esferas (FIG 3).

10 La formación de esferas no se modificó en las células de la estirpe celular de tumor de colon HCT-116 después de ningún tratamiento, tratamiento con Lipofectamine solamente o tratamiento con Oligo 154 de control. Sin embargo, la formación de esferas se suprimió en estas células después del tratamiento con OAS 1107S (FIG 4).

15 La estirpe celular de tumor de colon HCT-116 se usó para cuantificar la formación de esferas y evaluar el efecto de la transfección con OAS 1107S sobre la formación de esferas. Los tres grupos de células de control (no tratadas, tratadas con Lipofectamine solamente o tratadas con Oligo 154 de control) formaron esferas (de 100 a 160 esferas), equivalentes al 0,3 % de la cantidad total de células sembradas (en este ejemplo representativo 50.000 células en matraces T25). Sin embargo, las células transfectadas con OAS 1107S no pudieron formar esferas (FIG 5).

20 Tomados en conjunto, estos resultados muestran que los grupos que no se trataron, se trataron con Lipofectamine solamente o se transfectaron con un oligonucleótido de control conservaron la capacidad de formar esferas. Por el contrario, las células de tumor de colon primario o las células de cáncer de colon HCT-116 transfectadas con oligonucleótidos antisentido perdieron su capacidad para formar esferas. Estos resultados indican que los oligonucleótidos antisentido fueron capaces de destruir las células madre cancerosas, como lo indica la falta de formación de esferas tras el tratamiento. Además, estos resultados también indican que solo una fracción de todas las células sembradas fueron capaces de formar esferas.

30 **Ejemplo 2: El tratamiento de una estirpe celular de cáncer de cuello uterino y cultivos primarios de células de cáncer de cuello uterino humano con oligonucleótidos antisentido complementarios a ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido suprimió la formación de esferas**

35 Se determinó la capacidad de las células de cuello uterino de la estirpe celular de cáncer de cuello uterino SiHa (transformada con Papilomavirus Humano 16 o VPH 16) y de cultivos primarios de células de cáncer de cuello uterino humano derivadas de pacientes para formar cuerpos esferoides después del tratamiento con oligonucleótidos antisentido dirigidos a ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS). El ensayo utilizado midió los números de cuerpos esferoides, también denominados esferas en el presente documento, que están formados por células madre cancerosas.

40 *Materiales y métodos*

Esquema experimental:

45 El procedimiento experimental y el ensayo utilizados en el presente documento midieron el efecto de oligonucleótidos antisentido que se dirigieron a ARNmtncAS sobre el número de esferas formadas por células de cáncer de cuello uterino (FIG 6). La formación de esferas se midió en la estirpe celular de cáncer de cuello uterino SiHa y en cultivos primarios de células cancerosas de cuello uterino humanas derivadas de pacientes (CerCa). Se obtuvieron CerCa 1, CerCa 2 y CerCa 3 (transformadas con Papilomavirus Humano 45) de las biopsias de los pacientes.

50 Cultivo de células SiHa:

Se cultivaron células SiHa en DMEM, "Alta Glucosa", GlutaMAX™, que contiene penicilina, gentamicina y fungizona, con FCS al 10 % a 37 °C y CO2 al 5 %.

55 Cultivos primarios de células cancerosas humanas:

60 Las biopsias de cáncer de cuello uterino se recibieron después de la cirugía y con el consentimiento informado correspondiente de cada paciente. Se transfirieron trozos de tumores de aproximadamente 500 mm³ a tubos estériles de 50 ml que contenían medio DMEM, Alta Glucosa, GlutaMax™ (GIBCO), FCS al 10 % (Biological Industries), Fungizone® 1x, mezcla de antibióticos y antimicóticos 2x y gentamicina 25 µg/ml (Invitrogen). Las biopsias se procesaron 2 a 3 horas después de la cirugía.

65 Con el fin de disgregar el tumor, la muestra de tejido se colocó en una placa de Petri de 10 cm con 10 ml de PBS estéril (Gibco) y se cortó con un bisturí en trozos pequeños (1-3 mm³). Las piezas se transfirieron a placas de 6 cm junto con 2 ml de medio que contenía Colagenasa I al 0,5 %, Colagenasa II al 0,5 %, Colagenasa IV al 0,5 %

(GIBCO), hialuronidasa al 0,5 % (AppliChem), Dispasa al 0,1 % (GIBCO), ADNasa al 0,05 % (AppliChem), BSA al 0,1 % (Rockland), mezcla de antibióticos y antimicóticos 2x (GIBCO) y Fungizone® 2x (GIBCO). Los fragmentos se incubaron a 37 °C durante 30 min y la suspensión celular se centrifugó a 300 x g durante 5 minutos. El sedimento se suspendió en 5 ml de medio MEGM™ que contenía hEGF 20 ng/ml, hidrocortisona, insulina, GA-1000 (Lonza), B-27 0,5x sin vitamina A (Invitrogen), FGFb 20 ng/ml (Invitrogen) y CFB al 5 %. Las células se cultivaron en un matraz T25 recubierto con colágeno (BD Bioscience) a 37 °C y con CO₂ al 5 %. El medio se cambió cada 48 horas.

Selección de células tumorales por su formación de esferas y adherencia a placas recubiertas:

Se sembraron en placas de adherencia ultra baja (Corning) aproximadamente 1x10⁵ células resuspendidas en medio MEGM™ complementado con hEGF 20 ng/ml, hidrocortisona, insulina, GA-1000 (Lonza), B-27 0,5x sin vitamina A (Invitrogen), FGFb 20 ng/ml (Invitrogen) sin CFS. Diez días después, las esferas se contaron bajo microscopía de fase, se recogieron y se filtraron usando una malla de nylon de 70 µm para desechar las células individuales. Las esferas se recuperaron del filtro y se sembraron en placas de 6 pocillos (Corning) recubiertas anteriormente con colágeno de tipo I (Gibco) y se cultivaron como se ha descrito anteriormente. Se aislaron tres cultivos primarios humanos de tumores de cuello uterino, CerCa 1, CerCa 2 y CerCa 3.

Genotipado del virus del papiloma humano (VPH):

Los diferentes cultivos primarios se analizaron con Matriz Lineal PGMY09/11 (Roche). La presencia de VPH 16 se detectó en los cultivos celulares primarios de CerCa 1 y CerCa 2, mientras que se detectó VPH 45 en el cultivo celular primario de CerCa 3.

Transfección celular y oligonucleótidos antisentido:

Los oligonucleótidos antisentido (OAS) utilizados en este estudio fueron sintetizados por IDT (Integrated DNA Technologies, EE.UU.), Invitrogen o Biosearch Inc. con enlaces internucleosídicos de fosforotioato (PS) al 100 %. Para la transfección, las células se sembraron en placas de 12 pocillos (Nunc) a 5000 células/pocillo. Al día siguiente, se transfectaron células seleccionadas entre tumores de cáncer de cuello uterino o entre células SiHa (véase Selección de células tumorales por su formación de esferas y adherencia a placas recubiertas) con un oligonucleótido antisentido (OAS 1537S: 5'-CACCCACCCAAGAAGAGG-3' (SEQ ID NO: 36), dependiendo del tipo celular) o un oligonucleótido de control 154 (OAS-C: 5'-AGGTGGAGTGGATTGGGG-3' (SEQ ID NO: 199)) a una concentración final de 100 nM (células SiHa) o 200 nM (células CerCa) usando Lipofectamine 2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Además, un subconjunto de células se dejó sin tratar (NT), se transfectaron en presencia de Lipofectamine 2000 (LIPO) solamente o se incubaron con cisplatino 45 µM (CISP). La transfección se realizó durante 72 horas en condiciones de cultivo normales.

Ensayo de formación de esferas:

72 horas después de la transfección, las células se recogieron, se contaron y se cultivaron de 5.000 a 6.000 células en placas de 6 pocillos no adherentes (Corning Inc., Corning, NY, EE.UU.) como se ha descrito anteriormente. Después de 10 días en cultivo, se obtuvieron y contaron esferas de 100 a 200 µm de diámetro.

Resultados

La formación de la esfera no se modificó en cultivos primarios de células de tumor de cuello uterino después de ningún tratamiento (NT), tratamiento con Lipofectamine solamente (LIPO) o tratamiento con oligonucleótido de control 154 (OAS-C). Por el contrario, la formación de esferas se suprimió en los cultivos primarios de SiHa, CerCa 1, CerCa 2 y CerCa 3 después del tratamiento con OAS 1537S (FIG 7 y FIG 8). La formación de esferas de células SiHa, CerCa 1 y CerCa 2 (todas infectadas con VPH 16) también se suprimió cuando las células se trataron con el fármaco cisplatino (CISP) (45 µM) (FIG 7 y FIG 8) mientras que no se observó ningún efecto en células CerCa 3 (infectadas con VPH 45) tratadas con cisplatino.

En conjunto, estos resultados muestran que los cultivos primarios de cáncer de cuello uterino (células CerCa 1, CerCa 2 y CerCa 3) y la estirpe celular SiHa se dejaron sin tratar, se trataron solo con Lipofectamine o se transfectaron con un oligonucleótido de control que conservó la capacidad de formar esferas. Por el contrario, las células de tumor de cuello uterino primarias o las células SiHa transfectadas con oligonucleótidos antisentido dirigidos a las moléculas de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS) o a la molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARNmtncS), perdieron su capacidad para formar esferas si eran positivas para VPH 16 o VPH 45. Estos resultados indican que los oligonucleótidos antisentido fueron capaces de destruir las células madre cancerosas de cuello uterino, como lo indica la falta de formación de esferas durante el tratamiento. Además, el tratamiento con el fármaco antineoplásico cisplatino suprimió la formación de esferas de células SiHa, CerCa 1 y CerCa 2 (todas positivas para VPH 16) pero no de CerCa 3 que está infectada con VPH 45 (FIG 7 y FIG 8). Por tanto, estos resultados indican que los oligonucleótidos antisentido son capaces de destruir células madre de cáncer de cuello uterino (células CerCa 3) resistentes al tratamiento con cisplatino. Véase Tjalme et al., *Enm. J. Clin. Pathol.*, 137: 161, 2012; de Sanjosé et al., *Eur J Cancer.*, 49 (16): 3450, 2013; Tjalma et al., *Int J Cancer.*, 132 (4): 854, 2013.

Ejemplo 3: El tratamiento de ratones con oligonucleótidos antisentido complementarios al ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido después de la cirugía para extirpar tumores evitó la recaída del crecimiento tumoral y la metástasis en los pulmones y el hígado

5 Un protocolo clínico común para el melanoma incluye la resección quirúrgica seguida de la administración sistémica de fármacos. Se usan protocolos similares en la práctica de otros tumores. En el modelo de melanoma presentado en este ejemplo representativo, las células de melanoma B16F10 (100.000 células en 200 µl de solución salina) se inyectaron por vía subcutánea en el lomo de ratones C57BL/6. Aproximadamente entre 11 y 12 días después de la inyección celular, se desarrollaron tumores entre 700 y 1.000 mm³ (un tumor de 1.000 mm³ en ratones se considera equivalente a un tumor de 3.000 cc³ en seres humanos). En este momento, los ratones se dividieron aleatoriamente en dos grupos (Oligo OAS 154 de control y OAS 1560S (SEQ ID NO: 198)) con un volumen tumoral similar. Los tumores se reseccionaron quirúrgicamente con anestesia y la herida se lavó una vez con 250 µl que contenían 100 µg de OAS 1560S o OAS 154. Después de la sutura quirúrgica, se aplicó un bolo de 200 µl de solución salina que contenía 100 µg de OAS 154 o OAS 1560S en la cavidad dejada por el tumor. Tres días después de la cirugía, los ratones recibieron en días alternativos, 3 inyecciones intravenosas (FIG. 9; flechas 1^a, 3^a y 5^a en la línea temporal) o 3 inyecciones intraperitoneales (FIG. 9; flechas 2^a, 4^a y 6^a en la línea temporal) de 250 µl de solución salina que contenía 100 µg de OAS 1560S o OAS 154. El crecimiento tumoral se midió dos veces por semana con un calibre.

20 La recaída del crecimiento tumoral en ratones tratados con OAS 154 se observó aproximadamente 3 días después de la cirugía y el volumen tumoral de aproximadamente 1.500 mm³ se alcanzó aproximadamente el día 25 después de la inyección celular (FIG 9). Estos ratones se sacrificaron con anestesia y el tumor y otros órganos se fijaron y se guardaron para estudios posteriores. No se observó recaída en ratones tratados con OAS 1560S dirigidos al ARNm_{mtcAS} de ratón. 130 días después de la inyección celular, los ratones parecían sanos sin la presencia de tumores detectables y se sacrificaron para recoger los órganos. Los hígados y pulmones se analizaron para detectar la presencia de nódulos metastásicos.

30 Los ratones de control (tratados con Oligo OAS 154 de control) mostraron la presencia de recaída del cáncer y nódulos negros metastásicos en el pulmón y el hígado. Por el contrario, los pulmones y los hígados de los ratones tratados con OAS 1560S carecían de la presencia de nódulos metastásicos, lo que demuestra que el OAS 1560S evitó o suprimió la recaída del cáncer (FIG 10).

Ejemplo 4: El tratamiento intravenoso de ratones con oligonucleótidos antisentido complementarios al ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido después de la cirugía para extirpar tumores renales intradérmicos dio como resultado la ausencia de recaída tumoral y la supervivencia completa

35 Se inyectaron 100.000 células RENCA (ATCC ® CRL-2947™ adenocarcinoma renal de riñón de mus musculus) por vía subcutánea el día 0. El día 12, se extirparon tumores de un tamaño promedio de 800 mm³ y el sitio del tumor se lavó con 100 µg de Oligo OAS 154 de Control (4 animales) o OAS 1560S (5 animales) en 200 µl, ambos formulados en liposomas. Los animales se suturaron y se inyectaron por vía intravenosa en el sitio del tumor extirpado con 100 µg de OAS 154 (FIG 11, cuadrados) o OAS 1560S (FIG 11, triángulos), ambos formulados en liposomas, en 250 µl. No se dio ningún tratamiento adicional. El día 40 (30 días después de la cirugía), todos los animales de control murieron con tumores de un tamaño promedio de 1.200 mm³ y metástasis extensas, mientras que todos los animales tratados con OAS 1560S no tenían tumores y aún estaban vivos en el día 61 (FIG. 11).

Ejemplo 5: El tratamiento intraperitoneal de ratones con oligonucleótidos antisentido complementarios al ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido después de la cirugía para extirpar tumores renales intradérmicos que dieron como resultado la ausencia de recaída tumoral y la supervivencia completa

50 Se inyectaron 100.000 células RENCA (ATCC ® CRL-2947™ adenocarcinoma renal de riñón de mus musculus) por vía subcutánea el día 0 en 8 ratones. El día 11, los tumores tenían un tamaño promedio de 800 mm³. Los tumores de todos los animales se extirparon mediante cirugía y se dividieron en 2 grupos. La herida del grupo de control se lavó una vez con Oligo OAS 154 de control antes de suturar y la herida del grupo tratado se lavó con OAS 1560S antes de suturar. Después de la sutura, se inyectó por vía intraperitoneal un bolo de 250 µl en el lugar donde había crecido el tumor: el grupo de control se inyectó con OAS 154 y el grupo tratado con OAS 1560S. En los días 13, 15, 17 y 19, se inyectaron inyecciones intraperitoneales de 25 µg de OAS 154 (FIG. 12, círculos) o 25 µg de OAS 1560S (FIG 12, cuadrados) formulados en liposomas en un volumen de 250 µl. En los días 14, 16 y 18, los ratones fueron inyectados por vía intravenosa con el mismo protocolo. El día 22, todos los animales de control tenían tumores mayores de 1.200 mm³ y se sacrificaron. El día 60, todos los animales tratados con OAS 1560S no tenían ningún tumor y todavía estaban vivos (FIG. 12).

Ejemplo 6: El tratamiento de ratones con oligonucleótidos antisentido complementarios al ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido después de la cirugía para extirpar tumores de melanoma intradérmicos dio como resultado la ausencia de recaída tumoral y la supervivencia completa

65 Se inyectaron células de melanoma B16F10 (100.000 células en 200 µl de medio RPMI) en ratones por vía subcutánea en el día 0. El día 11, se realizó cirugía para extirpar tumores. Los volúmenes tumorales variaron de

aproximadamente 800 a 1200 mm³. La herida se lavó una vez. Después de la sutura, se inyectó un bolo de 250 µl de oligo en liposomas en el sitio del tumor. En los días 13, 15, 17, 19 y 21, se inyectaron por vía intraperitoneal en los ratones una dosis de 25 µg de OAS 154 de control desnudo (FIG 13, cuadrados), 25 µg de OAS 154 de control en liposomas (FIG 13, círculos) o 50 µg de OAS 154 en liposomas (FIG 13, triángulos), cada uno en un volumen de 250 µl. Otros grupos de ratones (6 ratones por grupo) se inyectaron de una manera similar a la descrita anteriormente con 50 µg de OAS 1560 desnudo, 25 µg de OAS 1560S en liposomas o 50 µg de OAS 1560S en liposomas (FIG 13, diamantes).

En comparación con los ratones tratados con un oligonucleótido de control, el tratamiento posterior a la cirugía con 25 y 50 µg de inyecciones intraperitoneales de OAS 1560S dio como resultado la ausencia de recaída tumoral de melanoma intradérmico y la supervivencia completa (FIG 13).

Ejemplo 7: El tratamiento intraperitoneal o intravenoso de ratones con oligonucleótidos antisentido complementarios al ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido después de la cirugía para extirpar tumores de carcinoma de vejiga subcutáneo dio como resultado la ausencia de tumores y la supervivencia completa

Se inyectaron por vía subcutánea doce ratones con 100.000 células MB49 (células de cáncer de vejiga de ratón). Después de 15 días, los ratones tenían tumores de un diámetro promedio de 800 mm³. Los tumores se extirparon quirúrgicamente (día 0) y se inyectó un bolo de 200 µl que contenía 100 µg de OAS 154 (control) o OAS 1560S (fármaco activo) en el sitio de la cirugía. Tres días después de la cirugía, los ratones se dividieron en 2 grupos y se trataron por vía intraperitoneal o intravenosa con 100 µl de inyecciones que contenían OAS 154 (grupo de control) o OAS 1560S (grupo tratado) como se indica en la FIG. 14. Solo un ratón tratado por vía intraperitoneal con OAS 1560S desarrolló un tumor. Todos los ratones tratados por vía intravenosa con OAS 1560S permanecieron sin tumores y experimentaron supervivencia completa. Los animales de control tratados con Oligo OAS 154 de control se sacrificaron el día 41 (FIG 14).

Ejemplo 8: El tratamiento de ratones Rag -/- con oligonucleótidos antisentido complementarios al ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido después de la extirpación del tumor de un melanoma humano dio como resultado una eliminación significativa de la recaída tumoral y un gran aumento de la supervivencia

Se inyectaron ratones Rag -/- con 5 millones de células de melanoma A375 humanas. Aproximadamente 34 días después de la inyección celular, todos los ratones desarrollaron tumores de aproximadamente 700 mm³. Los ratones se sometieron a cirugía de extirpación del tumor y se dividieron aleatoriamente en dos grupos.

Grupo 1 (control): la herida se lavó con 50 µg de Oligo 154 de control (6 ratones en grupo) en un volumen de 200 µl. Grupo 2 (terapia): la herida se lavó con 50 µg de OAS 1537S (8 ratones en grupo) (Secuencia del oligonucleótido proporcionada en el Ejemplo 1) en 200 µl. Después de la sutura, se aplicó un bolo de 250 µl que contenía 50 µg de Oligo 154 de control (6 ratones de control) o 250 µl que contenían 50 µg de OAS Oligo 1537S (8 ratones de terapia). Dos días después, los ratones recibieron 6 inyecciones con Oligo 154 de control u OAS Oligo 1537S cada dos días. La primera inyección fue intraperitoneal y la segunda inyección fue en la vena de la cola.

El día 30 después de la cirugía, los 6 ratones tratados con Oligo 154 de control tenían tumores del orden de 2000 mm³ y se sacrificaron (FIG 15, círculos). El día 57 después de la cirugía, 4 de los 8 ratones que recibieron OAS Oligo 1537S permanecían sin tumores (FIG 15, triángulos). El día 17 posterior a la cirugía, 4 de los 8 ratones que recibieron OAS Oligo 1537S comenzaron a mostrar pequeños tumores que crecían lentamente, que en el día 36 alcanzaron un tamaño de aproximadamente 500 mm³ (FIG. 15, cuadrados). Estos ratones fueron sometidos nuevamente a cirugía para extirpar los tumores y posteriormente murieron 2 ratones. Los otros 2 ratones se sometieron al mismo protocolo terapéutico (alternando 3 inyecciones intraperitoneales y 3 inyecciones intravenosas) con 50 µg de OAS Oligo 1537S en 250 µl (FIG. 15).

Secuencias

<210> SEQ ID NO 1
<211> LONGITUD: 2374
<212> TIPO: ADN
<213> ORGANISMO: Homo sapiens
<400> SECUENCIA: 1

ES 2 708 650 T3

60 tctaatactg gtgatgctag aggtgatggt tttggtaaac aggcggggta agatttgccg
120 agttcctttt acttttttta acctttcctt atgagcatgc ctgtgttggg ttgacagtga
180 gggtaataat gacttggttg ttgattgtag atattgggct gttaattgtc agttcagtgt
240 tttaatctga cgcaggctta tgcggaggag aatgttttca tgttacttat actaacatta
300 gttcttctat agggtgatag attggtccaa ttgggtgtga ggagttcagt tatatgtttg
360 ggatttttta ggtagtgggt gttgagcttg aacgctttct taattgggtg ctgcttttag
420 gcctactatg ggtgttaaat tttttactct ctctacaagg ttttttcta gtgtccaaag
480 agctgttcct ctttggaacta acagttaaag ttacaagggg atttagaggg ttctgtgggc
540 aaatttaaag ttgaactaag attctatctt ggacaaccag ctatcaccag gctcggtagg
600 tttgtcgctt ctacctataa atcttccac tattttgcta catagacggg tgtgctcttt
660 tagctgttct taggtagctc gtctggtttc gggggtctta gctttggctc tccttgcaaa
720 gttatttcta gttaattcat tatgcagaag gtataggggt tagtccttgc tatattatgc
780 ttggttataa tttttcatct tcccttgcg gtactatata tattgcgcca ggtttcaatt
840 tctatcgctt atactttatt tgggtaaag gtttggtctaa acctagcccc aaaccactc
900 caccttacta ccagacaacc ttagccaaac catttaccca aataaagtat aggcgataga
960 aattgaaacc tggcgcaata gatatagtag cgcaagggaa agatgaaaaa ttataaccaa
1020 gcataatata gcaaggacta acccctatac cttctgcata atgaattaac tagaaataac
1080 tttgcaagga gagccaaagc taagaccccc gaaaccagac gagctacctt agaacagcta
1140 aaagagcaca cccgtctatg tagcaaaata gtgggaagat ttataggtag aggcgacaaa
1200 cctaccgagc ctggtgatag ctggttgtcc aagatagaat cttagttcaa ctttaaattt
1260 gcccacagaa ccctctaaat ccccttgtaa atttaactgt tagtccaaag aggaacagct
1320 ctttgacac taggaaaaaa cttgtagag agagtaaaaa atttaacacc catagtaggc
1380 ctaaaagcag ccaccaatta agaaagcgtt caagctcaac acccactacc taaaaatcc
1440 caaacatata actgaactcc tcacaccaa ttggaccaat ctatcacctt atagaagaac
1500 taatgttagt ataagtaaca tgaaaacatt ctctccgca taagcctgcg tcagattaaa
1560 aactgaact gacaattaac agccaatat ctacaatcaa ccaacaagtc attattaccc
1620 tcaactgtcaa cccaacacag gcatgctcat aaggaaaggt taaaaaagt aaaaggaact

ES 2 708 650 T3

1680 cggcaaatct taccocgct gtttaccaaa aacatcacct ctagcatcac cagtattaga
1740 ggcaccgcct gccagtgac acatgtttaa cggccgcggt accctaaccg tgcaaaggta
1800 gcataatcac ttgttcctta aatagggacc tgtatgaatg gctccacgag ggttcagctg
1860 tctcttactt ttaaccagtg aaattgacct gcccgagaag aggcgggcat aacacagcaa
1920 gacgagaaga ccctatggag cttaattta ttaatgcaa cagtaccta caaaccaca
1980 ggtcctaac taccaaacct gcattaaaaa tttcggttg ggcgacctcg gagcagaacc
2040 caacctccga gcagtacatg ctaagacttc accagtcaaa gcgaactact atactcaatt
2100 gatccaataa cttgaccaac ggaacaagt accctaggga taacagcgca atcctattct
2160 agagtccata tcaacaatag ggtttacgac ctcgatgttg gatcaggaca tcccgatggt
2220 gcagccgcta ttaaaggctt gtttgttcaa cgattaaagt cctacgtgat ctgagttcag
2280 accggagtaa tccaggtcgg tttctatcta cttcaaatt cctccctgta cgaaaggaca
2340 agagaaataa ggctacttc acaaagcgc tcccccgta aatgatatca tctcaactta
2374 gtattatacc cacaccacc caagaacagg gttt

<210> SEQ ID NO 2

<211> LONGITUD: 1679

5 <212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Homo sapiens

<400> SECUENCIA: 2

60 ggggtcttag ctttggtctt ccttgcaaag ttatttctag ttaattcatt atgcagaagg
120 tatagggggt agtccttgct atattatgct tggttataat ttttcatctt tcccttgcg
180 tgctaaacct agcccaaac ccaactccacc ttactaccag acaaccttag ccaaacatt
240 tacccaaata aagtataggc gatagaaatt gaaacctggc gcaatagata tagtaccgca
300 agggaaagat gaaaaattat aaccaagcat aatatagcaa ggactaacc ctataccttc
360 tgcataatga attaactaga aataactttg caaggagagc caaagctaag acccccgaaa
420 ccagacgagc tacctaagaa cagctaaaag agcacaccg tctatgtagc aaaatagtgg
480 gaagatttat aggtagaggc gacaaaccta ccgagcctgg tgatagctgg ttgtccaaga
540 tagaatctta gttcaacttt aaatttgccc acagaaccct ctaaattccc ttgtaaattt
600 aactgtagt ccaaagagga acagctcttt ggacactagg aaaaaacctt gtagagagag
660 taaaaaattt aacaccata gtaggcctaa aagcagccac caattaagaa agcgttcaag
720 ctcaacacc actacctaaa aatcccaaa catataactg aactcctcac acccaattgg
780 accaatctat caccctatag aagaactaat gttagtataa gtaacatgaa aacattctcc
840 tccgcataag cctgcgtcag attaaaacac tgaactgaca attaacagcc caatatctac

ES 2 708 650 T3

aatcaaccaa caagtcatta ttacctcac tgtcaaccca acacaggcat gtcataagg
900
aaaggttaaa aaaagtaaaa ggaactcggc aaatcttacc cgcctgttt accaaaaaca
960
tcacctctag catcaccagt attagaggca cgcctgccc agtgacacat gtttaacggc
1020
cgcggtaccc taaccgtgca aaggtagcat aatcacttgt tccttaaata gggacctgta
1080
tgaatggctc cacgaggggt cagctgtctc ttacttttaa ccagtgaaat tgacctgccc
1140
gtgaagaggc gggcataaca cagcaagacg agaagaccct atggagcttt aatttattaa
1200
tgcaaacagt acctaacaaa cccacaggtc ctaaactacc aaacctgcat taaaaatttc
1260
ggttggggcg acctcggagc agaaccaac ctccgagcag tacatgctaa gacttcacca
1320
gtcaaagcga actactatac tcaattgatc caataacttg accaacggaa caagttaccc
1380
tagggataac agcgcaatcc tattctagag tccatatcaa caataggggt tacgacctcg
1440
atggttgatc aggacatccc aatggtgcag ccgctattaa aggttcgttt gttcaacgat
1500
taaagtcccta cgtgatctga gttcagaccg gagtaatcca ggtcggtttc tatctacttc
1560
aaattcctcc ctgtacgaaa ggacaagaga aataaggcct acttcacaaa gcgccttccc
1620
ccgtaaataga tatcatctca acttagtatt ataccacac ccaccaaga acagggttt
1679

<210> SEQ ID NO 3

<211> LONGITUD: 1635

5

<212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Homo sapiens

<400> SECUENCIA: 3

ggggtcttag ctttggtctt ccttgcaaag ttatttctag ttaattcatt atgcagaagg
60
tataggggtt agtccttget aaacctagcc ccaaaccac tccaccttac taccagacaa
120
ccttagccaa accatttacc caataaagt ataggcgata gaaattgaaa cctggcgcaa
180
tagatatagt accgcaaggg aaagatgaaa aattataacc aagcataata tagcaaggac
240
taaccctat accttctgca taatgaatta actagaaata actttgcaag gagagccaaa
300
gctaagaccc ccgaaaccag acgagctacc taagaacagc taaaagagca cacccgtcta
360
tgtagcaaaa tagtggaag atttataggt agaggcgaca aacctaccga gcctggtgat
420
agctggttgt ccaagataga atcttagttc aactttaaat ttgccacag aaccctctaa
480
atccccttgt aaatttaact gttagtcaa agaggaacag ctctttggac actaggaaaa
540
aacctttag agagagtaaa aaatttaaca cccatagtag gcctaaaagc agccaccaat
600
taagaaagcg ttcaagctca acaccacta ctaaaaaat cccaacata taactgaact
660
cctcacacc aattggacca atctatcacc ctatagaaga actaatgtta gtataagtaa
720
catgaaaaca ttctcctccg cataagcctg cgtcagatta aaactgaa ctgacaatta
780

ES 2 708 650 T3

840 acagcccaat atctacaatc aaccaacaag tcattattac cctcactgtc aaccaaacac
900 aggcattgctc ataaggaaag gttaaaaaaa gtaaaaggaa ctcggcaaat cttaccccgc
960 ctgtttacca aaaacatcac ctctagcatc accagtatta gaggcaccgc ctgcccagtg
1020 acacatgttt aacggccgcg gtaccctaac cgtgcaaagg tagcataatc acttgttcct
1080 taaataggga cctgtatgaa tggctccacg agggttcagc tgtctcttac ttttaaccag
1140 tgaaattgac ctgcccgtga agaggcgggc ataacacagc aagacgagaa gaccctatgg
1200 agctttaatt tattaatgca aacagtacct aacaaacca caggtcctaa actaccaaac
1260 ctgcattaaa aatttcgggtt ggggcgacct cggagcagaa cccaacctcc gagcagtaca
1320 tgctaagact tcaccagtca aagcgaacta ctatactcaa ttgatccaat aacttgacca
1380 acggaacaag ttaccctagg gataacagcg caatcctatt ctagagtcca tatcaacaat
1440 agggtttacg acctcgatgt tggatcagga catcccaatg gtgcagccgc tattaaaggt
1500 tcgtttgttc aacgattaaa gtctacgtg atctgagttc agaccggagt aatccaggtc
1560 ggttttctatc tacttcaaat tcctccctgt acgaaaggac aagagaaata aggctactt
1620 caciaagcgc cttccccgtt aatgatatc atctcaactt agtattatac ccacaccac
1635 ccaagaacag ggttt

5 <210> SEQ ID NO 4
<211> LONGITUD: 1921
<212> TIPO: ADN
<213> ORGANISMO: Homo sapiens
<400> SECUENCIA: 4

ES 2 708 650 T3

60 aacctccgag cagtacatgc taagacttca ccagtcaaag cgaactacta tactcaattg
120 atccaataac ttgaccaacg gaacaagtta ccctagggat aacagcgcaa tcctattcta
180 gagtccatat caacaatagg gtttacgacc tcgatggttg atcaggacat cccaatggtg
240 cagccgctat taaaggttcg tttgttcaac gattaaagtc ctacgtgatc tgagttcaga
300 ccggagtaat ccaggtcggt ttctatctac ttcaaattcc tccctgtacg aaaggacaag
360 agaaataagg cctacttcac aaagcgcctt cccccgtaa tgatatcatc tcaacttagt
420 attataccct gttcttgggt ggggtgtgggt ataatactaa gttgagatga tatcatttac
480 gggggaaggc gctttgtgaa gtaggcctta tttctcttgt ctttctgtac agggaggaat
540 ttgaagtaga tagaaaccga cctggattac tccggtctga actcagatca cgtaggactt
600 taatcgttga acaaacgaac cttaatagc ggctgcacca tcgggatgtc ctgatccaac
660 atcgaggtcg taaaccctat tgttgatatg gactctagaa taggattgcg ctgttatccc
720 tagggtaact tgttccgttg gtcaagttat tggatcaatt gagtatagta gttcgctttg

ES 2 708 650 T3

780 actgggtaag tcttagcatg tactgctcgg aggttggggtt ctgctccgag gtcgccccaa
840 ccgaaatddd taatgcaggt ttggtagttt aggacctgtg ggtttgtag gtactgtttg
900 cattaataaa ttaaagctcc atagggcttt ctgctcttgc tgtgttatgc ccgcctcttc
960 acgggcaggt caatttcact ggtaaaagt aagagacagc tgaaccctcg tggagccatt
1020 catacaggtc cctatttaag gaacaagtga ttatgctacc tttgcacggg tagggtagcg
1080 cggccgtaa acatgtgtca ctgggcaggc ggtgcctcta atactgggta tgctagaggt
1140 gatgtttttg gtaaacaggc ggggtaagat ttgccgagtt ccttttactt tttttaacct
1200 ttccttatga gcatgcctgt gttgggttga cagtgagggt aataatgact tgttggttga
1260 ttgtagatat tgggctgtta attgtcagtt cagtgtttta atctgacgca ggcttatgag
1320 gaggagaatg ttttcatggt acttatacta acattagtcc ttctataggg tgatagattg
1380 gtccaattgg gtgtgaggag ttcagttata tgtttgggat ttttaggta gtgggtggtg
1440 agcttgaacg ctttcttaat tgggtgctgc ttttaggcct actatgggtg ttaaattttt
1500 tactctctct acaaggtttt ttcttagtgt ccaagagct gttcctcttt ggactaacag
1560 ttaaatttac aaggggattt agagggttct gtgggcaaat ttaaagttga actaagattc
1620 tatcttgagc aaccagctat caccaggctc ggtaggtttg tcgcctctac ctataaatct
1680 tcccactatt ttgctacata gacgggtgtg ctcttttagc tgttcttagg tagctcgtct
1740 ggtttcgggg gtcttagctt tggctctcct tgcaaagtta tttctagtta attcattatg
1800 cagaaggtat aggggttagt ccttgctata ttatgcttgg ttataatttt tcatctttcc
1860 cttgcggtac tatatctatt gcgccagggt tcaatttcta tcgcctatac tttatttggg
1920 taaatggttt ggctaagggt gtctggtagt aagggtgagt gggtttgggg ctaggtttag
1921 c

<210> SEQ ID NO 5
<211> LONGITUD: 1744
5 <212> TIPO: ADN
<213> ORGANISMO: Homo sapiens
<400> SECUENCIA: 5

60 tagggataac agcgcaatcc tattctagag tccatatcaa caataggggtt tacgacctcg
120 atgttggatc aggacatccc gatggtgcag ccgctattaa aggttcgttt gttcaacgat
180 taaagtccta cgtgatctga gttcagaccg gagtaatcca ggtcgggtttc tatctacctt
240 caaattcctc cctgttcttg ggtgggtgtg ggtataatac taagttgaga tgatatcatt
300 tacgggggaa ggcgctttgt gaagtaggcc ttatttctct tgccttttcg tacagggagg
360 aatttgaagt agatagaaac cgacctgat tactccggtc tgaactcaga tcacgtagga

ES 2 708 650 T3

420 ctttaatcgt tgaacaaacg aacctttaat agcggctgca ccatcgggat gtctgatcc
aacatcgagg tcgtaaacc tttgttgat atggactcta gaataggatt gcgctgttat
480 ccctagggta acttgttccg ttggcaagt tattggatca attgagtata gtagttcgct
540 ttgactggtg aagtcttagc atgtactgct cggaggttgg gttctgctcc gaggtcgccc
600 caaccgaaat ttttaatgca ggtttgtag ttaggacct gtgggtttgt taggtactgt
660 ttgcattaat aaattaaagc tccatagggt cttctcgtct tgctgtgta tgcccgcctc
720 ttcacgggca ggtcaatttc actggttaaa agtaagagac agctgaacc tcgtggagcc
780 attcatacag gtccctattt aaggaacaag tgattatgct accttgcac ggtagggta
840 ccgcgcccg taaacatgtg tcaactgggca ggcggtgcct ctaatactgg tgatgctaga
900 ggtgatgttt ttggtaaaca ggcggggtaa gatttgccga gttcctttta ctttttttaa
960 cttttcctta tgagcatgcc tgtgttgggt tgacagtgag ggtaataatg acttgttggg
1020 tgattgtaga tattgggctg ttaattgtca gttcagtgtt ttaatctgac gcaggcttat
1080 gcggaggaga atgttttcat gttacttata ctaacattag ttcttctata gggtagataga
1140 ttggtccaat tgggtgtgag gagttcagtt atatgtttgg gatttttttag gtagtgggtg
1200 ttgagcttga acgctttctt aattgggtggc tgcttttagg cctactatgg gtgttaaatt
1260 ttttactctc tctacaaggt tttttcctag tgtccaaaga gctgttctc tttggactaa
1320 cagttaaatt tacaagggga ttagagggt tctgtgggca aatttaaagt tgaactaaga
1380 ttctatcttg gacaaccagc taccaccagg ctcggtagggt ttgtcgctc tacctataaa
1440 tcttcccact attttgctac atagacgggt gtgctctttt agctgttctt aggtagctcg
1500 tctggtttcg ggggtcttag ctttggctct ccttgcaaag ttatttctag ttaattcatt
1560 atgcagaagg tataggggtt agtccttgct atattatgct tggttataat tttcatctt
1620 tcccttgcgg tactatatct attgcgccag gtttcaattt ctatcgcta tactttattt
1680 gggtaaattg tttggctaag gttgtctggt agtaagggtg agtggggttg gggctaggtt
1740 tagc
1744

<210> SEQ ID NO 6
<211> LONGITUD: 1854
5 <212> TIPO: ADN
<213> ORGANISMO: Homo sapiens
<400> SECUENCIA: 6

60 gaactcggca aatcttacc cgctgttta ccaaaaacat cacctctagc atcaccagta
120 tttagaggcac cgctgcca gtgacacatg tttaacggcc gcggtaccct aaccgtgcaa
180 aggtagcata atcacttgtt ccttaaatag ggacctgtat gaatggctcc acgagggttc

ES 2 708 650 T3

240 agctgtctct tacttttaac cagtgaatt gacctgcccg tgaagaggcg ggcattgacac
300 agcaagacga gaagacccta tggagcttta atttattaat gcaaacagta cctaacaaac
360 cctgttcttg ggtgggtgtg ggtataatac taagttgaga tgatatcatt tacgggggaa
420 ggcgctttgt gaagtaggcc ttatttctct tgtcctttcg tacagggagg aatttgaagt
480 agatagaaac cgacctggat tactccggtc tgaactcaga tcacgtagga ctttaacgt
540 tgaacaaacg aacctttaat agcggctgca ccatcgggat gtccctgatcc aacatcgagg
600 tcgtaaacc tattgttgat atggactcta gaataggatt gcgctgttat ccctagggta
660 acttgttccg ttggcaagt tattggatca attgagtata gtagttcgct ttgactgggt
720 aagtcttagc atgtactgct cggaggttgg gttctgctcc gaggtcgccc caaccgaaat
780 ttttaatgca ggtttgtag tttaggacct gtggggttgt taggtactgt ttgcattaat
840 aaattaaagc tccatagggt cttctcgtct tgctgtgta tgcccgcctc ttcacgggca
900 ggtcaatttc actggttaa agtaagagac agctgaacc tcgtggagcc attcatacag
960 gtccctatth aaggaacaag tgattatgct accttgcac ggtagggta ccgcgccgt
1020 taaacatgtg tcaactgggca ggcgggtgect ctaatactgg tgatgctaga ggtgatgttt
1080 ttggtaaaca ggcggggtaa gatttgccga gttcctttta ctttttttaa cttttcctta
1140 tgagcatgcc tgtgttgggt tgacagtgag ggtaataatg acttgttgggt tgattgtaga
1200 tattgggctg ttaattgtca gttcagtgtt ttaatctgac gcaggcttat gcggaggaga
1260 atgttttcat gttacttata ctaacattag ttcttctata gggtagataga ttggccaat
1320 tgggtgtgag gagttcagtt atatgttgg gatttttttag gtagtgggtg ttgagcttga
1380 acgctttctt aattggtggc tgcttttagg cctactatgg gtgttaaatt tttactctc
1440 tctacaaggt tttttcctag tgtccaaaga gctgttcctc tttggactaa cagttaaatt
1500 tacaagggga tttagagggt tctgtgggca aatttaaagt tgaactaaga ttctatcttg
1560 gacaaccagc tatcaccagg ctcggtaggt ttgtcgctc tacctataaa tcttcccact
1620 attttgctac atagacgggt gtgctctttt agctgttctt aggtagctcg tctggtttcg
1680 ggggtcttag ctttggtct ccttgcaaag ttatttctag ttaattcatt atgcagaagg
1740 tataggggtt agtccttgc atattatgct tggttataat tttcatctt tcccttgccg
1800 tactatatct attgcgccag gtttcaatt ctatcgctc tactttatth gggtaaattg
1854 tttggctaag gttgtctggt agtaagggtg agtggggtt gggctaggtt tagc

<210> SEQ ID NO 7

<211> LONGITUD: 20

<212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial

<220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 7
 taggttagc accgcaaggg 20
 5
 <210> SEQ ID NO 8
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 10 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 8
 taggttagc aaggactaac 20
 15 <210> SEQ ID NO 9
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 20 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 9
 ggggtaagat tgccgag 18
 25 <210> SEQ ID NO 10
 <211> LONGITUD: 22
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 30 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 10
 atgctagagg tgatgtttt gg 22
 35 <210> SEQ ID NO 11
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 40 <400> SECUENCIA: 11
 cggcgcctct aactactgg 18
 45 <210> SEQ ID NO 12
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 50 <400> SECUENCIA: 12
 gttaaacaatg tgcactggg 20
 55 <210> SEQ ID NO 13
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 13
 ttgcacggtt aggtacc 18
 60
 <210> SEQ ID NO 14
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 65 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

ES 2 708 650 T3

<400> SECUENCIA: 14
 ggaacaagtg attatgctac c 21

5 <210> SEQ ID NO 15
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

10 <400> SECUENCIA: 15
 ggagcattc atacaggtcc c 21

15 <210> SEQ ID NO 16
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

20 <400> SECUENCIA: 16
 agtaagagac agctgaacc c 20

25 <210> SEQ ID NO 17
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

30 <400> SECUENCIA: 17
 ggcaggtcaa tttcactgg c 19

35 <210> SEQ ID NO 18
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

40 <400> SECUENCIA: 18
 gctgtgttat gcccgctc c 19

45 <210> SEQ ID NO 19
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

50 <400> SECUENCIA: 19
 agctccatag ggtcttct c 19

55 <210> SEQ ID NO 20
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

60 <400> SECUENCIA: 20
 gtttagtact gttgcatta c 20

65 <210> SEQ ID NO 21
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 21
 aagtcttagc atgtactg c 18

5 <210> SEQ ID NO 22
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 22
 tagtagttcg ctttgactg 19

10 <210> SEQ ID NO 23
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 23
 caagttattg gatcaattg 19

20 <210> SEQ ID NO 24
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 25 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 24
 gggttaactg ttccgttg 18

30 <210> SEQ ID NO 25
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 35 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 25
 aataggattg cgctgta 18

40 <210> SEQ ID NO 26
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 45 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 26
 cctattgtg atattggac 18

50 <210> SEQ ID NO 27
 <211> LONGITUD: 17
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 55 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 27
 ctgatccaac atcgagg 17

60 <210> SEQ ID NO 28
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 65 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 28
 tagcggctgc accattgg 18

<210> SEQ ID NO 29
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 29
 5 gttgaacaaa cgaacctt 19

<210> SEQ ID NO 30
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 10 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 30
 15 aactcagatc acgtaggac 19

<210> SEQ ID NO 31
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 20 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 31
 cgacctggat tactccgg 18

25 <210> SEQ ID NO 32
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 30 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 32
 ggaattgaa gtagatag 18

35 <210> SEQ ID NO 33
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 40 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 33
 ctctgtcct ttcgtag 19

45 <210> SEQ ID NO 34
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 50 <400> SECUENCIA: 34
 ggcgcttgt gaagtagg 18

<210> SEQ ID NO 35
 <211> LONGITUD: 22
 <212> TIPO: ADN
 55 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 35
 60 gttgagatga tatcatttac gg 22

<210> SEQ ID NO 36
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 65 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 36
 caccacacca agaacagg 18

5 <210> SEQ ID NO 37
 <211> LONGITUD: 25
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

10 <400> SECUENCIA: 37
 caactagta ttataccac accca 25

15 <210> SEQ ID NO 38
 <211> LONGITUD: 22
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

20 <400> SECUENCIA: 38
 tccccgtaa atgattacat ct 22

25 <210> SEQ ID NO 39
 <211> LONGITUD: 25
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

30 <400> SECUENCIA: 39
 gagaaataag gctacttca caaag 25

35 <210> SEQ ID NO 40
 <211> LONGITUD: 22
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

40 <400> SECUENCIA: 40
 caaattctc cctgtacgaa ag 22

45 <210> SEQ ID NO 41
 <211> LONGITUD: 24
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

50 <400> SECUENCIA: 41
 agtaatccag gtcggttct atct 24

55 <210> SEQ ID NO 42
 <211> LONGITUD: 24
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

60 <400> SECUENCIA: 42
 aagtcctagc tgatctgagt tcag 24

65 <210> SEQ ID NO 43
 <211> LONGITUD: 25
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 43
 gctattaaag gtcggttgt tcaac 25

5 <210> SEQ ID NO 44
 <211> LONGITUD: 16
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 44
 tcccgatggt gcagcc 16

10 <210> SEQ ID NO 45
 <211> LONGITUD: 22
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 45
 ttacgacctc gatgttgat ca 22

20 <210> SEQ ID NO 46
 <211> LONGITUD: 25
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 25 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 46
 atcctattct agagtccata tcaac 25

30 <210> SEQ ID NO 47
 <211> LONGITUD: 24
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 47
 35 aataggattg cgctgtatc ccta 24

40 <210> SEQ ID NO 48
 <211> LONGITUD: 24
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 48
 45 tagggataac agcgcatacc tatt 24

50 <210> SEQ ID NO 49
 <211> LONGITUD: 23
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 49
 ggaacaagtt accctagga taa 23

55 <210> SEQ ID NO 50
 <211> LONGITUD: 23
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 60 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 50
 ttgatccaat aactgacca acg 23

65 <210> SEQ ID NO 51
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 51
 5 acttcaccag tcaaagcgaa c 21

<210> SEQ ID NO 52
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 10 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 52
 15 aaccaacct cggagcag 18

<210> SEQ ID NO 53
 <211> LONGITUD: 16
 <212> TIPO: ADN
 20 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 53
 gttggggcga cctcgg 16

25 <210> SEQ ID NO 54
 <211> LONGITUD: 22
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 30 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 54
 aaactaccaa acctgcttaa aa 22

35 <210> SEQ ID NO 55
 <211> LONGITUD: 24
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 40 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 55
 aaacagtacc taacaaacct acag 24

45 <210> SEQ ID NO 56
 <211> LONGITUD: 25
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 50 <400> SECUENCIA: 56
 gaccctatgg agcttaatt tatta 25

55 <210> SEQ ID NO 57
 <211> LONGITUD: 23
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 57
 60 cataacacag caagacgaga aga 23

65 <210> SEQ ID NO 58
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 58
 tgacctgccc gtgaagag 18

5 <210> SEQ ID NO 59
 <211> LONGITUD: 26
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

10 <400> SECUENCIA: 59
 cagctgtctc ttacttttaa ccagtg 26

15 <210> SEQ ID NO 60
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

20 <400> SECUENCIA: 60
 ctgtatgaat ggctccacga 20

25 <210> SEQ ID NO 61
 <211> LONGITUD: 26
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

30 <400> SECUENCIA: 61
 agcataatca cttgttcctt aaatag 26

35 <210> SEQ ID NO 62
 <211> LONGITUD: 23
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

40 <400> SECUENCIA: 62
 accgtgcaaa ggtagcataa tca 23

45 <210> SEQ ID NO 63
 <211> LONGITUD: 23
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

50 <400> SECUENCIA: 63
 tgattatgct accttgcac ggt 23

55 <210> SEQ ID NO 64
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

60 <400> SECUENCIA: 64
 gtaccctaac cgtgcaaag 19

65 <210> SEQ ID NO 65
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 65
 cctgcccagtgacacatgtt t 21

ES 2 708 650 T3

<210> SEQ ID NO 66
 <211> LONGITUD: 25
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 5 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 66
 cacctctagc atcaccagta ttaga 25

10 <210> SEQ ID NO 67
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 67
 cttacccccg ctgtttacca 20

20 <210> SEQ ID NO 68
 <211> LONGITUD: 26
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 25 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 68
 aggttaaaaa aagtaaaagg aactcg 26

30 <210> SEQ ID NO 69
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 35 <400> SECUENCIA: 69
 cccaacacag gcatgctca 19

40 <210> SEQ ID NO 70
 <211> LONGITUD: 24
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 70
 45 accaacaagt cattattacc ctca 24

50 <210> SEQ ID NO 71
 <211> LONGITUD: 24
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 71
 tgacaattaa cagccaata tcta 24

55 <210> SEQ ID NO 72
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 60 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 72
 gcctgcgtca gattaaaca c 21

65 <210> SEQ ID NO 73
 <211> LONGITUD: 24
 <212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 73
 5 gtaacatgaa aacattctcc tccg 24

<210> SEQ ID NO 74
 <211> LONGITUD: 28
 <212> TIPO: ADN
 10 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 74
 tatcaccccta tagaagaact aatgtag 28

<210> SEQ ID NO 75
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 20 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 75
 ctgaactcct cacaccaat t 21

<210> SEQ ID NO 76
 <211> LONGITUD: 23
 <212> TIPO: ADN
 25 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 30 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 76
 cactacctaa aaaatcccaa aca 23

<210> SEQ ID NO 77
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 35 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 40 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 77
 ttaagaaagc gttcaagctc a 21

<210> SEQ ID NO 78
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 45 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 78
 50 catagtaggc ctaaagcag c 21

<210> SEQ ID NO 79
 <211> LONGITUD: 26
 <212> TIPO: ADN
 55 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 79
 aaaccttgta gagagagtaa aaaatt 26

<210> SEQ ID NO 80
 <211> LONGITUD: 24
 <212> TIPO: ADN
 60 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 65 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 80
 aaagaggaac agctctttgg acac 24

5 <210> SEQ ID NO 81
 <211> LONGITUD: 24
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

10 <400> SECUENCIA: 81
 aatccccttg taaatthaac tggt 24

15 <210> SEQ ID NO 82
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

20 <400> SECUENCIA: 82
 ctttaaattt gcccacagaa c 21

25 <210> SEQ ID NO 83
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

30 <400> SECUENCIA: 83
 ggttgtccaa gatagaatct 20

35 <210> SEQ ID NO 84
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

40 <400> SECUENCIA: 84
 acaaacctac cgagcctgg 19

45 <210> SEQ ID NO 85
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

50 <400> SECUENCIA: 85
 aagattata gtagaggcg 20

55 <210> SEQ ID NO 86
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

60 <400> SECUENCIA: 86
 cccgtctatg tagcaaaata 20

65 <210> SEQ ID NO 87
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 87
 acctaagaac agctaaaaga 20

5 <210> SEQ ID NO 88
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 88
 taagaccccc gaaaccagac 20

10 <210> SEQ ID NO 89
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 89
 ataactttgc aaggagagcc 20

20 <210> SEQ ID NO 90
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 25 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 90
 ctctgcata atgaattaac 20

30 <210> SEQ ID NO 91
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 35 <400> SECUENCIA: 91
 atatagcaag gactaacccc 20

40 <210> SEQ ID NO 92
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 45 <400> SECUENCIA: 92
 agatgaaaaa ttataaccaa 20

50 <210> SEQ ID NO 93
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 93
 caatagatat agtaccgcaa 20

55 <210> SEQ ID NO 94
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 60 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 94
 aggcgataga aattgaaacc 20

65 <210> SEQ ID NO 95
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 95
 5 tagccaaacc attaccmaa 20

<210> SEQ ID NO 96
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 10 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 96
 15 caccttacta ccagacaacc 20

<210> SEQ ID NO 97
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 20 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 97
 25 ctaaactag ccccaaacc 19

<210> SEQ ID NO 98
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 30 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 98
 35 ctagcatcac cagtattaga 20

<210> SEQ ID NO 99
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 40 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 99
 45 ttaccaaaaa catcacctct 20

<210> SEQ ID NO 100
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 50 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 100
 55 gaactcggca aatcttacc 20

<210> SEQ ID NO 101
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 60 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido sentido
 <400> SECUENCIA: 101
 65 gggtaagatt tgccgagttc 20

<210> SEQ ID NO 102
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

ES 2 708 650 T3

<400> SECUENCIA: 102
 gctcataagg aaaggtaaa a 21

5 <210> SEQ ID NO 103
 <211> LONGITUD: 17
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

10 <400> SECUENCIA: 103
 gtcaacccaa cacaggc 17

15 <210> SEQ ID NO 104
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

20 <400> SECUENCIA: 104
 accaacaagt cattattacc c 21

25 <210> SEQ ID NO 105
 <211> LONGITUD: 22
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido sentido

30 <400> SECUENCIA: 105
 ggtagattgt agatattggg ct 22

35 <210> SEQ ID NO 106
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

40 <400> SECUENCIA: 106
 attaacagcc caatatctac 20

45 <210> SEQ ID NO 107
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

50 <400> SECUENCIA: 107
 tgcgtcagat taaaacactg 20

55 <210> SEQ ID NO 108
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

60 <400> SECUENCIA: 108
 aaaacattct cctccgata 20

65 <210> SEQ ID NO 109
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 109
 gtagtataa gtaacatg 18

<210> SEQ ID NO 110
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 5 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 110
 tggaccaatc taccacct 19

10 <210> SEQ ID NO 111
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 111
 acatataact gaactcctca 20

20 <210> SEQ ID NO 112
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 25 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 112
 caccactac ctaaaaaatc 20

30 <210> SEQ ID NO 113
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 35 <400> SECUENCIA: 113
 caccaattaa gaaagcgttg 20

40 <210> SEQ ID NO 114
 <211> LONGITUD: 22
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 114
 45 taggcctaaa agcagccacc aa 22

50 <210> SEQ ID NO 115
 <211> LONGITUD: 22
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido sentido
 <400> SECUENCIA: 115
 ttggtgctg ctttaggcc ta 22

55 <210> SEQ ID NO 116
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 60 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 116
 taacacccat agtaggcct 19

65 <210> SEQ ID NO 117
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 117
 5 aaccttgtag agagagtaaa 20

<210> SEQ ID NO 118
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 10 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 118
 aacagctctt tggacactag 20

<210> SEQ ID NO 119
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 20 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 119
 aactgtagt ccaaagag 18

<210> SEQ ID NO 120
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 25 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 30 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 120
 ctctaatcc cctgtaaa 19

<210> SEQ ID NO 121
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 35 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 40 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 121
 actttaaatt tgcccacag 19

<210> SEQ ID NO 122
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 45 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 50 <400> SECUENCIA: 122
 gggtgtcaa gatagaatc 19

<210> SEQ ID NO 123
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 55 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 123
 60 acaaacctac cgagcctcc 19

<210> SEQ ID NO 124
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 65 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 124
 atttataggt tagaggcg 18

5 <210> SEQ ID NO 125
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

10 <400> SECUENCIA: 125
 atgtagcaaa atagtgggaa 20

15 <210> SEQ ID NO 126
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

20 <400> SECUENCIA: 126
 taagaacagc taaaagagca c 21

25 <210> SEQ ID NO 127
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

30 <400> SECUENCIA: 127
 cgaaccaga cgagctac 18

35 <210> SEQ ID NO 128
 <211> LONGITUD: 22
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido sentido

40 <400> SECUENCIA: 128
 ggggtcttag cttggctct cc 22

45 <210> SEQ ID NO 129
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

50 <400> SECUENCIA: 129
 taacttgca aggagagcca 20

55 <210> SEQ ID NO 130
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

60 <400> SECUENCIA: 130
 accttctgca taatgaat 18

65 <210> SEQ ID NO 131
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 131
 atatagcaag gactaacc 19

5 <210> SEQ ID NO 132
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 132
 gatgaaaaat tataaccaag 20

10 <210> SEQ ID NO 133
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 133
 aatagatata gtaccgcaag 20

20 <210> SEQ ID NO 134
 <211> LONGITUD: 17
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 25 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 134
 cgatagaaat tgaaac 17

30 <210> SEQ ID NO 135
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido sentido
 35 <400> SECUENCIA: 135
 tactttattt gggtaaatgg 20

40 <210> SEQ ID NO 136
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 45 <400> SECUENCIA: 136
 ccatttacc aaataaagta 20

50 <210> SEQ ID NO 137
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 137
 ttagcacaac catttaccca 20

55 <210> SEQ ID NO 138
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 60 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 138
 aagggtggagt gggttgggg c 21

65 <210> SEQ ID NO 139
 <211> LONGITUD: 17
 <212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 139
 5 gctaagggtg tctggta 17

<210> SEQ ID NO 140
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 10 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 140
 atcgcctata cttatttgg 20

<210> SEQ ID NO 141
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 20 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 141
 atctattgcg ccaggttca 20

<210> SEQ ID NO 142
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 25 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 30 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 142
 ttttcatctt tcccttgcg 19

<210> SEQ ID NO 143
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 35 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 40 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 143
 tccttgctat attatgcttg 20

<210> SEQ ID NO 144
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 45 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 144
 50 cattatgcag aaggtatagg 20

<210> SEQ ID NO 145
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 55 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 145
 60 tctccttgca aagtatt 18

<210> SEQ ID NO 146
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 65 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 146
 tttcgggggt ctagcttg 20

5 <210> SEQ ID NO 147
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

10 <400> SECUENCIA: 147
 ctgttcttag gtagctcg 18

15 <210> SEQ ID NO 148
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

20 <400> SECUENCIA: 148
 tgctacatag acgggtgtg 19

25 <210> SEQ ID NO 149
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

30 <400> SECUENCIA: 149
 cctctaccta taaatctcc 20

35 <210> SEQ ID NO 150
 <211> LONGITUD: 17
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

40 <400> SECUENCIA: 150
 gctatcacca ggctcgg 17

45 <210> SEQ ID NO 151
 <211> LONGITUD: 17
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

50 <400> SECUENCIA: 151
 aagttgaact aagattc 17

55 <210> SEQ ID NO 152
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

60 <400> SECUENCIA: 152
 gagggttctg tgggcaaatt 20

65 <210> SEQ ID NO 153
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido

<400> SECUENCIA: 153
 acagttaaattacaagg 19

5 <210> SEQ ID NO 154
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 154
 gtgtccaaag agctgttcc 19

10 <210> SEQ ID NO 155
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 155
 tactctctct acaaggtttt 20

20 <210> SEQ ID NO 156
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 25 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 156
 taggcctact atgggtgta 20

30 <210> SEQ ID NO 157
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 35 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 157
 aacgcttct taattggtg c 21

40 <210> SEQ ID NO 158
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 45 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 158
 ttttaggtag tgggtgtga 20

50 <210> SEQ ID NO 159
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 55 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 159
 ggagttcagt tatatgttg 20

60 <210> SEQ ID NO 160
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 65 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 160
 tgatagattg gtccaattg 20

65 <210> SEQ ID NO 161
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 161
 5 ctaacattag ttctctata g 21

<210> SEQ ID NO 162
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 10 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 162
 atgcgaggga gaatgtt 18

<210> SEQ ID NO 163
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 20 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 163
 tcagtgtttt aatctgacg 19

<210> SEQ ID NO 164
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 30 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido antisentido
 <400> SECUENCIA: 164
 gtagatattg ggctgtaatt 21

<210> SEQ ID NO 165
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 40 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleotide
 <400> SECUENCIA: 165
 gtgagggtaa taatgactg 20

<210> SEQ ID NO 166
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 50 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleotide
 <400> SECUENCIA: 166
 atgagcatgc ctgtgttgg 20

<210> SEQ ID NO 167
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 60 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleotide
 <400> SECUENCIA: 167
 ggtaagattt gccgagttc 19

<210> SEQ ID NO 168
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 65 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleotide

<400> SECUENCIA: 168
 tggatgatgct agaggtgatg 20

5 <210> SEQ ID NO 169
 <211> LONGITUD: 15
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleotide

10 <400> SECUENCIA: 169
 gcggtgcctc taata 15

15 <210> SEQ ID NO 170
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

20 <400> SECUENCIA: 170
 ggccgtaaa catgtgtcac 20

25 <210> SEQ ID NO 171
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

30 <400> SECUENCIA: 171
 tgattatgct accttgcac 20

35 <210> SEQ ID NO 172
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

<400> SECUENCIA: 172
 ttaaggaaca agtgattatg 20

40 <210> SEQ ID NO 173
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

45 <400> SECUENCIA: 173
 tggagccatt catacaggtc 20

50 <210> SEQ ID NO 174
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

55 <400> SECUENCIA: 174
 aaaagtaaga gacagctgaa 20

60 <210> SEQ ID NO 175
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

65 <400> SECUENCIA: 175
 cacgggcagg tcaattcac 20

5 <210> SEQ ID NO 176
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 176
 gtcttgctgt gttatgcccg 20

10 <210> SEQ ID NO 177
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 177
 aattaaagct ccatagggt 19

20 <210> SEQ ID NO 178
 <211> LONGITUD: 21
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 25 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 178
 gtttgtagg tactgttgc a 21

30 <210> SEQ ID NO 179
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 35 <400> SECUENCIA: 179
 aggtttgta gtttaggac 19

40 <210> SEQ ID NO 180
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 45 <400> SECUENCIA: 180
 gccccaaccg aaattttaa 20

50 <210> SEQ ID NO 181
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 181
 ctcgagggtt gggttctgct 20

55 <210> SEQ ID NO 182
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 60 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 182
 ctggtgaagt ctagcatgt 20

65 <210> SEQ ID NO 183
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN

<213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 183
 5 caattgagta tagtagttcg 20

<210> SEQ ID NO 184
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 10 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 184
 15 tgttccgttg gtcaagta 19

<210> SEQ ID NO 185
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 20 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 185
 aataggattg cgctgttatc 20

25 <210> SEQ ID NO 186
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 30 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 186
 attgttgata tggactctag 20

35 <210> SEQ ID NO 187
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 40 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 187
 atccaacatc gaggtcgtaa 20

45 <210> SEQ ID NO 188
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 50 <400> SECUENCIA: 188
 gcggctgcac catcggat 19

<210> SEQ ID NO 189
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 55 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
 <400> SECUENCIA: 189
 60 ttgaacaaac gaaccttta 19

<210> SEQ ID NO 190
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 65 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

<400> SECUENCIA: 190
 aactcagatc acgtaggact 20

5 <210> SEQ ID NO 191
 <211> LONGITUD: 19
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

10 <400> SECUENCIA: 191
 aaaccgacct ggattactc 19

15 <210> SEQ ID NO 192
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

20 <400> SECUENCIA: 192
 agggaggaat ttgaaggtag 20

25 <210> SEQ ID NO 193
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

30 <400> SECUENCIA: 193
 ggccttattt ctctgtcct 20

35 <210> SEQ ID NO 194
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

<400> SECUENCIA: 194
 ggaaggcgct ttgtgaagta 20

40 <210> SEQ ID NO 195
 <211> LONGITUD: 20
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

45 <400> SECUENCIA: 195
 aagttgat gatcattt 20

50 <210> SEQ ID NO 196
 <211> LONGITUD: 17
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

55 <400> SECUENCIA: 196
 cctgttcttg ggtgggt 17

60 <210> SEQ ID NO 197
 <211> LONGITUD: 18
 <212> TIPO: ADN
 <213> ORGANISMO: Secuencia artificial
 <220> CARACTERÍSTICA:
 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido

65 <400> SECUENCIA: 197
 gtctaaact accaaacc 18

ES 2 708 650 T3

5 <210> SEQ ID NO 198
<211> LONGITUD: 20
<212> TIPO: ADN
<213> ORGANISMO: Secuencia artificial
<220> CARACTERÍSTICA:
<223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
<400> SECUENCIA: 198
cacctctaa cctagagaag 20

10 <210> SEQ ID NO 199
<211> LONGITUD: 18
<212> TIPO: ADN
<213> ORGANISMO: Secuencia artificial
<220> CARACTERÍSTICA:
15 <223> OTRA INFORMACIÓN: Oligonucleótido
<400> SECUENCIA: 199
aggtggagtg gattgggg 18

20 <210> SEQ ID NO 200
<211> LONGITUD: 2374
<212> TIPO: ARN
<213> ORGANISMO: Homo sapiens
<400> SECUENCIA: 200

ES 2 708 650 T3

60 ucuaauacug gugaugcuag aggugauguu uuugguaaac aggcggggua agauuugccg
 120 aguuccuuuu acuuuuuuua accuuuccuu augagcaugc cuguguuggg uugacaguga
 180 ggguaauaau gacuuguugg uugauuguag auauugggcu guuaauuguc aguucagugu
 240 uuuuauucuga cgcaggcuua ugcggaggag aauguuuua uguuacuuau acuaacauua
 300 guucuucuuau agggugauag auugguccaa uuggguguga ggaguucagu uauauguuug
 360 ggauuuuuua gguagugggu guugagcuug aacgcuuucu uauugguggg cugcuuuuag
 420 gccuacuauug gguguuuuuu uuuuuacucu cucuacaagg uuuuuuccua guguccaaag
 480 agcuguuccu cuuuggacua acaguuuuuu uuacaagggg auuuagaggg uucugugggc
 540 aauuuuuuag uugaacuaag auucuaucuu ggacaaccag cuaucaccag gcucgguagg
 600 uuugucgccu cuaccuauaa aucuucccac uauuuugcua cauagacggg ugugcucuuu
 660 uagcuguucu uagguagcuc gucugguuuc gggggucua gcuuggcuc uccuugcaa
 720 guuuuuucua guuaauucau uaugcagaag guauaggggu uaguccuugc uauuuuagc
 780 uuugguuuuu uuuuucaucu uucccuugcg guacuauauc uauugcgcca gguuucauu
 840 ucuaucgccu auacuuuuuu uggguuuuug guuuggcuua accuagcccc aaaccacuc
 900 caccuuacua ccagacaacc uuagccaaac cauuuaccca aauaaaguau aggcggauga
 960 aauugaaacc uggcgcaua gauauaguac cgcaagggaa agaugaaaaa uuuaaccaa
 1020 gcauuuuua gcaaggacua accccuauac cuucugcaua augaauuac uagaauaac
 1080 uuugcaagga gagccaaagc uaagaccccc gaaaccagac gagcuaccua agaacagcua
 1140 aaagagcaca cccgucuaug uagcaaaaau gugggaagau uuauagguag aggcgacaaa
 1200 ccuaccgagc cuggugauag cugguugucc aagauagaau cuuaguucua cuuuuuuuu
 1260 gcccacagaa cccucuuuuu ccccuuguaa auuuuacugu uaguccaaag aggaacagcu
 1320 cuuuggacac uaggaaaaaa ccuuguagag agaguaaaaa auuuuacacc cauaguaggc
 1380 cuaaaagcag ccaccauuu agaaagcguu caagcucaac acccacuacc uaaaaaucc
 1440 caaacauua acugaacucc ucacaccaa uuggaccaau cuaucaccu auagaagaac
 1500 uaauguuagu auuaguuuua ugaaaacuu cuccuccgca uaagccugcg ucaguuuuu
 1560 acacugaacu gacaauuua agcccauuu cuacaauua ccaacaaguc auuuuuuacc
 1620 ucacugucua cccaacacag gcaugcucuu aaggaaaggu uaaaaaaagu aaaaggaacu

ES 2 708 650 T3

1680 cggcaaaucu uaccccgccu guuuaccaa acaucaccu cuagcaucac caguauuaga
1740 ggcaccgccu gccagugac acauguuuaa cggccgcggu acccuaaccg ugcaaaggua
1800 gcauaaucac uuguuccuaa aaaggacc ugaugaug gcuccacgag gguucagcug
1860 ucucuacu uuaaccagug aaauugaccu gcccgugaag aggcgggcau aacacagcaa
1920 gacgagaaga cccuauaggag cuuuuuuuu uuaaugcaa caguaccuaa caaacccaca
1980 gguccuaaac uaccaaaccu gcauuuuuuu uuucggguug ggcgaccucg gagcagaacc
2040 caaccuccga gcaguacaug cuaagacuuc accagucaaa gcgaacuacu auacucauu
2100 gauccaauaa cuugaccaac ggaacaagu acccuaggga uaacagcgca auccuauucu
2160 agaguccaua ucaacaauag gguuuacgac cucgauguug gaucaggaca ucccgauggu
2220 gcagccgcu uaaaagguuc guuuuuuuaa cgauuuuagu ccuacgugau cugaguucag
2280 accggagua uccaggucgg uuucuaucua ccuucuuuuu ccucccugua cgaaaggaca
2340 agagaaaaua ggccuacuuc acaaagcgcc ucccccgua aaugauauca ucucaacuua
2374 guauuuuacc cacaccacc caagaacagg guuu

<210> SEQ ID NO 201
<211> LONGITUD: 1679
5 <212> TIPO: ARN
<213> ORGANISMO: Homo sapiens
<400> SECUENCIA: 201

60 ggggucuuag cuuuggcucu ccuugcaaag uuauuuuag uuaauucauu augcagaagg
120 uauagggguu aguccuugcu auuuuagcu ugguuuuuu uuuucaucu ucccuugcgg
180 ugcuaaaccu agcccaaac ccacuccacc uuacuaccag acaaccuuag ccaaaccuu
240 uacccaaaua aaguauaggc gauagaaau gaaaccuggc gcauagaua uaguaccgca
300 agggaaagau gaaaauuuu aaccaagcau aaauagcaa ggacuaacc cuauaccuuc
360 ugcauuuaga auuaacuaga auaacuug caaggagagc caaagcuaag accccgaaa
420 ccagacgagc uaccuaagaa cagcuuuuag agcacaccg ucuauugagc aaaauagugg
480 gaagauuuu agguagaggc gacaaaccua ccgagccugg ugauagcugg uuguccaaga
540 uagaaucuua guucaacuua aaauuugccc acagaaccu cuuuuuuuu uuguuuuuu
600 aacuguuagu ccaaagagga acagcucuuu ggacacuagg aaaaaaccu guagagagag
660 uaaaaaaaaa aacaccuua guaggccuaa aagcagccac cauuuagaa agcguucaag
720 cucaacacc acuaaccuaa aaauccaaa cauuaacug aacuccucac acccauugg
780 accaaucuau cacccuauag aagaacuau guuaguaua guaacaugaa acauucucc
840 uccgcauag ccugcgucag auuuuuuac ugaacugaca auuaacagcc cauaucua

ES 2 708 650 T3

900 aaucaaccaa caagucauuu uuaccucac ugucaacca acacaggcau gcucauaagg
 960 aaagguuaaa aaaaguaaaa ggaacucggc aaauuuuacc ccgccuguuu accaaaaaca
 1020 ucaccucuag caucaccagu auuagaggca ccgccugccc agugacacau guuuuacggc
 1080 cgcgguaccc uaaccgugca aagguagcau aaucacuugu uccuuuuuuu gggaccugua
 1140 ugaauggcuc cacgaggguu cagcugucuc uuacuuuuua ccagugaaau ugaccugccc
 1200 gugaagaggc gggcauaaca cagcaagacg agaagaccu auggagcuuu aauuuuuuu
 1260 ugcaaacagu accuaacaaa cccacagguc cuaaacuacc aaaccugcau uaaaauuuc
 1320 gguuggggcg accucggagc agaaccacac cuccgagcag uacaugcuaa gacuucacca
 1380 gucaaagcga acuaacuauac ucaauugauc cauaacuug accaacggaa caaguuaccc
 1440 uagggauaac agcgcaaucc uauucuagag uccauaucaa caauaggguu uacgaccucg
 1500 auguuggauc aggacaucac aauggugcag ccgcuuuua agguucguuu guucaacgau
 1560 uaaaguccua cgugaucuga guucagaccg gaguaaucca ggucgguuuc uaucuacuuc
 1620 aaauuccucc cuguacgaaa ggacaagaga aauaaggccu acuucacaaa gcgccuuccc
 1679 ccguaaauga uaucaucuca acuuaguauu auaccacac ccaccaaga acaggguuu

<210> SEQ ID NO 202
 <211> LONGITUD: 1635
 <212> TIPO: ARN
 <213> ORGANISMO: Homo sapiens
 <400> SECUENCIA: 202

5

60 ggggucuuag cuuuggcucu ccuugcaaag uuauuuuag uuaauucauu augcagaagg
 120 uauagggguu aguccuugcu aaaccuagcc ccaaaccac uccaccuuac uaccagacaa
 180 ccuuagccaa accauuuacc caaauaaagu auaggcgaua gaaauugaaa ccuggcgcaa
 240 uagauauagu accgcaaggg aaagaugaaa aauuuaacc aagcauaaua uagcaaggac
 300 uaaccccuau accuucugca uaaugaauua acuagaaaua acuuugcaag gagagccaaa
 360 gcuaagacc ccgaaaccag acgagcuacc uaagaacagc uaaaagagca caccgucua
 420 uguagcaaaa uagugggaag auuuauaggu agaggcgaca aaccuaccga gccuggugau
 480 agcugguugu ccaagauaga aucuuaguuc aacuuuuuuu uugcccacag aaccucuaa
 540 aucccuuggu aaauuuuacu guuaguccaa agaggaacag cucuuuggac acuaggaaaa
 600 aaccuuguag agagaguaaa aaauuuuaca cccauaguag gccuaaaagc agccaccaau
 660 uaagaaagcg uucaagcuca acaccacua ccuaaaaaau cccaacaua uaacugaacu
 720 ccucacaccc aauggacca aucuauacc cuauagaaga acuaauguua guauaaguua
 780 caugaaaaca uucuccuccg cauaagccug cgucagauua aaacacugaa cugacaauua

10

ES 2 708 650 T3

840 acagcccaau aucuacaau aaccaacaag ucauuuuuac ccucacuguc aaccacaac
aggcaugcuc auaaggaaag guuaaaaaa guaaaaggaa cucggcaaau cuuacccgc
900 cuguuuacca aaaacaucac cucuagcauc accaguauua gaggcaccgc cugcccagug
960 acacauguuu aacggccgcg guaccuaac cgugcaaagg uagcauaa acuuguuccu
1020 uaaaauaggga ccuguaugaa uggcuccacg aggguucagc ugucucuac uuuuaaccag
1080 ugaaaugac cugcccguga agaggcgggc auaacacagc aagacgagaa gaccuaugg
1140 agcuuuuuuu uauuaaugca aacaguaccu acaaaccca cagguccuaa acuaccaac
1200 cugcauuuuu aauuucgggu ggggcgaccu cggagcagaa cccaaccucc gagcaguaca
1260 ugcuaagacu ucaccaguca aagcgaacua cuauacucaa uugauccaau aacuugacca
1320 acggaacaag uuacccuagg gauaacagcg cauccuauu cuagagucca uaucaacaau
1380 aggguuuacg accucgaugu uggaucagga caucccaug gugcagccgc uauuaaggu
1440 ucguuuuuu aacgauuuu guccuacgug aucugaguuc agaccggagu aauccagguc
1500 gguuuuuauc uacuucuuuu uccucccugu acgaaaggac aagagaaaua aggccuacuu
1560 cacaagcgc cuuuuuuuuu aaaugauauc aucucaacu aguuuuuuu ccacaccac
1620 ccaagaacag gguuu
1635

<210> SEQ ID NO 203
<211> LONGITUD: 1921
<212> TIPO: ARN
<213> ORGANISMO: Homo sapiens
<400> SECUENCIA: 203

5

60 aaccuccgag caguacaugc uaagacuua ccagucuaag cgaacuacua uacucaaugg
120 auccaauaac uugaccaacg gaacaaguua ccuagggau aacagcga uccuauucua
180 gaguccauau caacaauagg guuuacgacc ucgauguugg aucaggacau cccaugggug
240 cagccgcua uaaagguucg uuuguucaac gauuaaaguc cuacgugauc ugaguucaga
300 ccggaguaau ccaggucggu uucuaucua uucauuucc uccugucag aaaggacaag
360 agaaauaagg ccuacuucac aaagcgccuu ccccguaaa ugauaucauc ucaacuuaug
420 auuauacccu guucuugggu gggugugggu auaauacua guugagauga uaucauuuac
480 gggggaaggc gcuuugugaa guaggccua uuucucuugu ccuucguac agggaggaau
540 uuagaaguaga uagaaaccga ccuggauuac uccggucuga acucagauga cguaggacuu
600 uauucguuga acaaacgaac cuuuuuuuuu ggucgacca ucgggauguc cugaucacac
660 aucgaggucg uaaaccuau uguugauaug gacucuagaa uaggauugcg cuguuuuccc
720 uaggguuacu uguuccguug gucaaguuu uggaucauu gaguauagua guucgcuuug

10

ES 2 708 650 T3

780 acuggugaag ucuuagcaug uacugcucgg agguuggguu cugcuccgag gucgcgccaa
840 ccgaaauuuu uaaugcaggu uugguaguuu aggaccugug gguuuguuag guacuguuug
900 cauuauaaa uaaaagcucc auaggguuuu cucgucuugc uguguuauug ccgccucuuc
960 acgggcaggu caauuucacu gguuaaaagu aagagacagc ugaaccucg uggagccauu
1020 cauacagguc ccuauuuuag gaacaaguga uuaugcuacc uuugcacggu uaggguaaccg
1080 cggccguuaa acauguguca cugggcaggc ggugccucua auacugguga ugcuaagaggu
1140 gauguuuuug guaaacaggc gggguaagau uugccgaguu ccuuuuacuu uuuuuacuu
1200 uuccuuaua gcaugccugu guuggguuga cagugagggu aauaauagcu uguugguuga
1260 uuguagauau ugggcuguua auugucaguu caguguuuua aucugacgca ggcuuuagcg
1320 gaggagaauug uuuucauguu acuuauacua acuuuaguuc uucuuuaggg ugauagauug
1380 guccaauugg gugugaggag uucaguuaa uguuugggau uuuuuaggua guggguguug
1440 agcuugaacg cuuucuaau ugguaggcugc uuuuaggccu acuauaggug uaaaauuuu
1500 uacucucucu acaagguuuu uuccuagugu ccaaagagcu guuccucuuu ggacuaacag
1560 uaaaauuuac aaggggauuu agaggguuu gugggcaau uaaaaguuga acuaagauuc
1620 uaucuuggac aaccagcuau caccaggcuc gguagguuug ucgccucua cuauaaucu
1680 ucccacuaau uugcuacua gacgggugug cucuuuuagc uguucuuagg uagcucgucu
1740 gguuucgggg gucuuagcu ugucucuccu ugcaaaguua uuucuaaguua auucauuuug
1800 cagaagguau agggguuagu ccuugcuua uuaugcuugg uuauauuuu ucaucuuucc
1860 cuugcgguac uauaucuaau ggcagguu ucauuucua ucgccuauac uuuuuuggg
1920 uaaauugguu ggcuaagguu gucugguagu aagguggagu ggguuugggg cuagguuuag
1921 c

<210> SEQ ID NO 204
<211> LONGITUD: 1744
5 <212> TIPO: ARN
<213> ORGANISMO: Homo sapiens
<400> SECUENCIA: 204

60 uagggauaac agcgcaaucc uauucuaagag uccauaucaa caauaggguu uacgaccucg
120 auguuggauc aggacaucucc gauggugcag ccgcuauuaa agguucguuu guucaacgau
180 uaaaguccua cgugaucuga guucagaccg gaguaauca ggucgguuuc uaucuaccuu
240 caauuuccuc ccuguucuuug ggugggugug gguauaauc uaaguugaga ugauaucauu
300 uacgggggaa ggcgcuuugu gaaguaggcc uuauuucucu uguccuuucg uacagggagg
360 aauuugaagu agauagaaac cgaccuggau uacuccgguc ugaacucaga ucacguagga

ES 2 708 650 T3

420 cuuuuauvcgu ugaacaaaacg aaccuuuaau agcggcugca ccaucgggau guccugaucc
480 aacaucgagg ucguaaaccc uauuguugau auggacucua gaauaggauu gcgcuguuau
540 cccuagggua acuuuguuccg uuggucaagu uauuggauca auugaguaua guaguucgcu
600 uugacuggug aagucuuagc auguacugcu cggagguugg guucugcucc gaggucgccc
660 caaccgaaa uuuuaaugca gguuugguag uuuaggaccu guggguuugu uagguacugu
720 uugcauuuuu aaauuaaagc uccauagggg cuucucgucu ugcuguguua ugcccgccuc
780 uucacgggca ggucauuuuc acugguuaaa aguaagagac agcugaaccc ucguggagcc
840 auucauacag gucccuuuu aaggaacaag ugauuaugcu accuuugcac gguuagggua
900 ccgcgcccgu uaaacaugug ucacugggca ggcggugccu cuaauacugg ugaugcuaga
960 ggugauguuu uugguaaaca ggcgggguaa gauuugccga guuccuuuuu cuuuuuuuua
1020 ccuuuccuua ugagcaugcc uguguugggu ugacagugag gguauuaaug acuuuguuggu
1080 ugauuguaga uauugggcug uuaauuguca guucaguguu uuaaucugac gcaggcuuau
1140 gcggaggaga auguuuucau guuacuuaa cuaacauuag uucuucuuaa gggugauaga
1200 uugguccaau ugggugugag gaguucagu auauguuugg gauuuuuuag guagugggug
1260 uugagcuuga acgcuuuuu aauugguggc ugcuuuuagg ccuacuaugg guguuuuuu
1320 uuuuacucuc ucuacaaggu uuuuuccuag ugucuaaaga gcuguuccuc uuuggacuaa
1380 caguuuuuuu uacaagggga uuuagagggg ucugugggca aauuuuuuag ugaacuaaga
1440 uucuaucuuug gacaaccagc uaucaccagg cucgguaggu uugucgccuc uaccuauaaa
1500 ucuucccacu auuuugcuac auagacgggu gugcucuuuu agcuguucuu agguagcucg
1560 ucugguuucg ggggucuuag cuuuggcucu ccuugcaaag uuaauucuaug uuaauucau
1620 augcagaagg uauagggguu aguccuugcu auauuaugcu ugguuuuuu uuuucaucuu
1680 ucccuugcgg uacuauaucu auugcgccag guuucauuu cuaucgccua uacuuuuuu
1740 ggguaaaugg uuuggcuaag guugucuggu aguaaggugg aguggguuug gggcuagguu
1744 uagc

<210> SEQ ID NO 205
<211> LONGITUD: 1854
5 <212> TIPO: ARN
<213> ORGANISMO: Homo sapiens
<400> SECUENCIA: 205

60 gaacucggca aaucuuaccc cgccuguuu ccaaaaacau caccucuagc aucaccagua
120 uuagaggcac cgccugccca gugacacaug uuuaacggcc gcgguacccu aaccgugcaa
180 agguagcaua aucacuuguu ccuuuuuag ggaccuguau gaauggcucc acgagggguu

10

ES 2 708 650 T3

240 agcugucucu uacuuuuuac cagugaaaau gaccugcccg ugaagaggcg ggcaugacac
 300 agcaagacga gaagaccua uggagcuua auuuuuuu gcaaacagua ccuaacaac
 360 ccuguucuug ggugggugug gguauauac uaaguugaga ugauaucau uacgggggaa
 420 ggcgcuuugu gaaguaggcc uuauuucucu uguccuuucg uacagggagg aauugaagu
 480 agauagaaac cgaccuggau uacuccgguc ugaacucaga ucacguagga cuuuauucgu
 540 ugaacaaacg aaccuuuuau agcggcugca ccaucgggau guccugaucc acaucgagg
 600 ucguaaacc uauuguugau auggacucua gaauaggau ggcuguuau ccuagggua
 660 acuuguuccg uuggucaagu uauuggauca auugaguaua guaguucgcu uugacuggug
 720 aagucuuagc auguacugcu cggagguugg guucugcucc gaggucgcc caaccgaaau
 780 uuuuaaugca gguuugguag uuuaaggaccu guggguuugu uagguacugu uugcauuau
 840 aaauuaagc uccauagggu cuucucgucu ugcugugua ugcccgccuc uucacgggca
 900 ggucuuuuuc acugguuuuu aguaagagac agcugaacc ucguggagcc auucauacag
 960 gucccuuuu aaggaacaag ugauuauugcu accuuugcac gguuagggua ccgcgccgu
 1020 uaaacaugug ucacugggca ggcggugccu cuaauacugg ugaugcuaga ggugauguuu
 1080 uugguaaaca ggcgggguaa gauuugccga guuccuuuu cuuuuuuuu ccuuuccua
 1140 ugagcaugcc uguguugggu ugacagugag gguaauaau acuuuguugu ugauuguaga
 1200 uauugggcug uuaauuguca guucaguguu uuaaucugac gcaggcuau ggcggaggaga
 1260 auguuuucau guuacuuua cuaacauuag uucuuuaa gggugauaga uugguccaau
 1320 ugggugugag gaguucaguu auauguuugg gauuuuuuag guagugggug uugagcuuga
 1380 acgcuuuuu aauugguggc ugcuuuuagg ccuacuaugg guguuuuuu uuuuacucuc
 1440 ucuacaaggu uuuuuccuag uguccaaaga gcuguuccuc uuuggacuaa caguuuuuu
 1500 uacaagggga uuuaagagggu ucugugggca auuuuuuagu ugaacuaaga uucuaucug
 1560 gacaaccagc uaucaccagg cucgguaggu uugucgccuc uaccuuuuu ucuuccacu
 1620 auuuugcuac auagacgggu gugcucuuuu agcuguucuu agguagcucg ucugguuucg
 1680 ggggucuuag cuuuggcucu ccuugcaaag uuauuucua uuaauucau augcagaagg
 1740 uauagggguu aguccuugcu auuuuauugcu ugguuuuuu uuuuauucuu ucccuugcgg
 1800 uacuauaucu auugcgccag guuucauuu cuaucgccua uacuuuuuuu ggguaauugg
 1854 uuuggcuaag guugucuggu aguaaggugg aguggguuug gggcuagguu uagc

REIVINDICACIONES

1. Un oligonucleótido para su uso en un método:

- 5 (a) de supresión de la metástasis de un cáncer en un individuo; o
(b) para el tratamiento del cáncer metastásico en un individuo;

en el que el oligonucleótido es complementario a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante antisentido (ARNmtncAS) o complementario a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante sentido (ARNmtncS), y en el que el oligonucleótido es capaz de hibridarse con la molécula de ARN mitocondrial quimérico para formar un dúplex estable, y en el que el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia.

2. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el oligonucleótido es suficientemente complementario a una molécula de ARN mitocondrial quimérico no codificante humano que comprende:

- 15 a. un ARN ribosómico mitocondrial 16S antisentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida o
b. un ARN ribosómico mitocondrial 16S sentido unido covalentemente en su extremo 5' al extremo 3' de un polinucleótido con una secuencia de repetición invertida.

3. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el oligonucleótido es complementario a la molécula de ARNmtncAS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6.

4. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el oligonucleótido es al menos un 85 % complementario a la molécula de ARNmtncAS codificada por una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 4, la SEQ ID NO: 5 y la SEQ ID NO: 6.

5. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el uno o más oligonucleótidos comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada entre el grupo que consiste en las SEQ ID NO: 7-198.

6. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el oligonucleótido se administra en combinación con al menos un agente antineoplásico;

opcionalmente en el que el al menos un agente antineoplásico se selecciona entre el grupo que consiste en remicade, docetaxel, celecoxib, melfalán, dexametasona, esteroides, gemcitabina, cisplatino, temozolomida, etopósido, ciclofosfamida, temodar, carboplatino, procarbazona, gliadel, tamoxifeno, topotecán, metotrexato, gefitinib, taxol, taxotere, fluorouracilo, leucovorina, irinotecán, xeloda, CPT-11, interferón alfa, interferón alfa pegilado, capecitabina, cisplatino, tiotepa, fludarabina, carboplatino, daunorrubicina liposómica, citarabina, doxetaxol, paclitaxel, vinblastina, IL-2, GM-CSF, dacarbazina, vinorelbina, ácido zoledrónico, palmitronato, biaxina, busulfán, prednisona, bortezomib, bifosfonato, trióxido de arsénico, vincristina, doxorubicina, paclitaxel, ganciclovir, adriamicina, fosfato de sodio de estramustina, sulindaco y etopósido.

7. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el oligonucleótido y el al menos un agente antineoplásico se administran secuencialmente o simultáneamente.

8. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el oligonucleótido se administra en combinación con:

- 50 (a) una radioterapia;
(b) cirugía;
(c) una terapia de trasplante alógeno de células madre; y/o
(d) una terapia de trasplante autólogo de células madre.

9. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el individuo se ha tratado anteriormente contra el cáncer con una terapia que comprende quimioterapia, radioterapia, cirugía o combinaciones de los mismos.

10. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el cáncer o el cáncer metastásico en el individuo recayó después del tratamiento con uno o más de entre bortezomib, ciclofosfamida, dexametasona, doxorubicina, interferón alfa, lenalidomida, melfalán, interferón alfa pegilado, prednisona, talidomida y vincristina.

11. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el cáncer es un cáncer sólido; opcionalmente, en el que el cáncer sólido es cáncer de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer de cuello

uterino, cáncer de colon, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de vías biliares, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de boca, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de faringe, cáncer de próstata, cáncer de riñón, cáncer de testículo o cáncer de tiroides.

- 5 12. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que el cáncer es un cáncer no sólido;
opcionalmente en el que el cáncer no sólido es mieloma múltiple, leucemia o linfoma.
- 10 13. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el oligonucleótido reduce el número de células madre cancerosas en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido.
- 15 14. El oligonucleótido para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el oligonucleótido inhibe el crecimiento tumoral y/o la metástasis en el individuo en comparación con un individuo al que no se le administra el oligonucleótido.

Figura 1

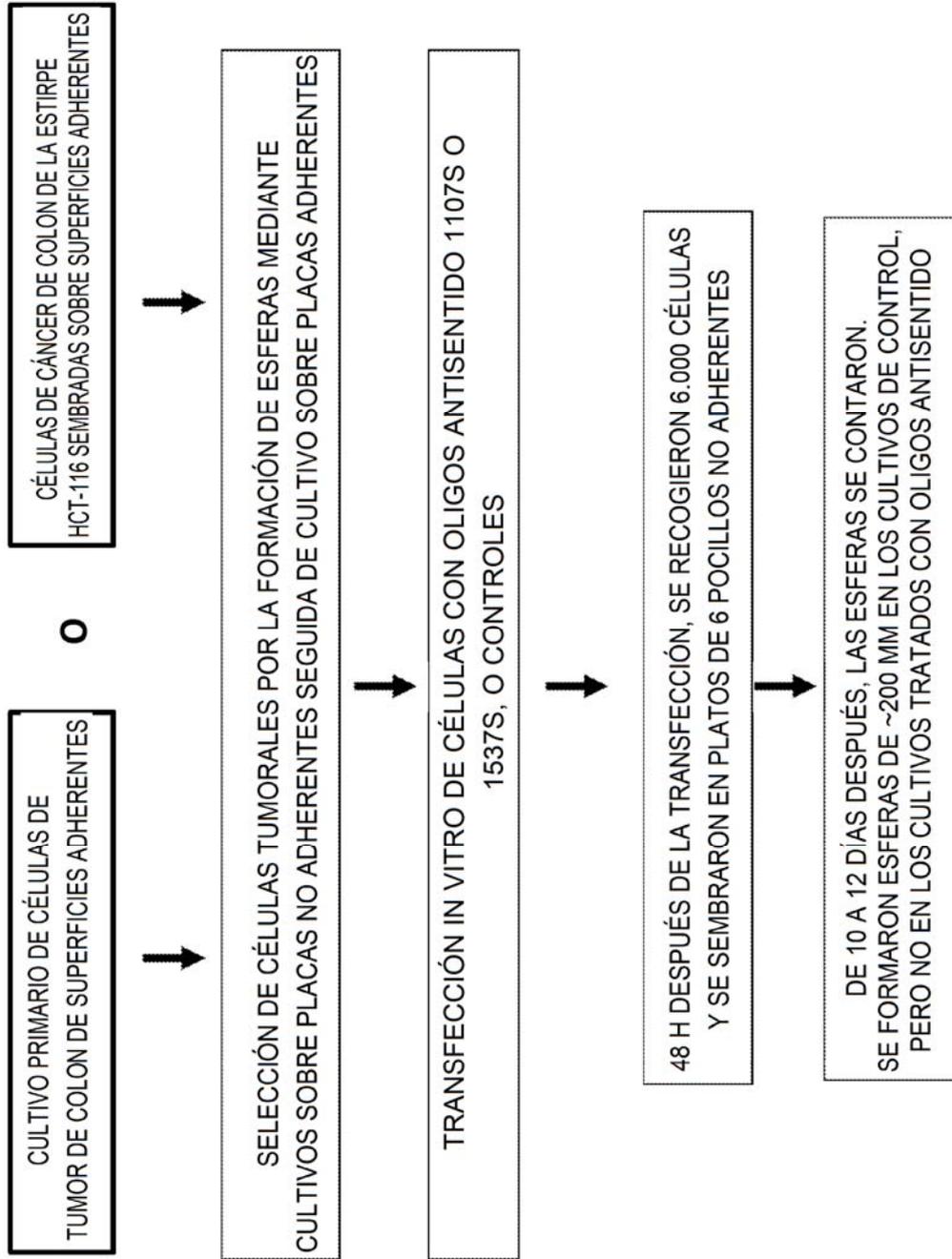


Figura 2

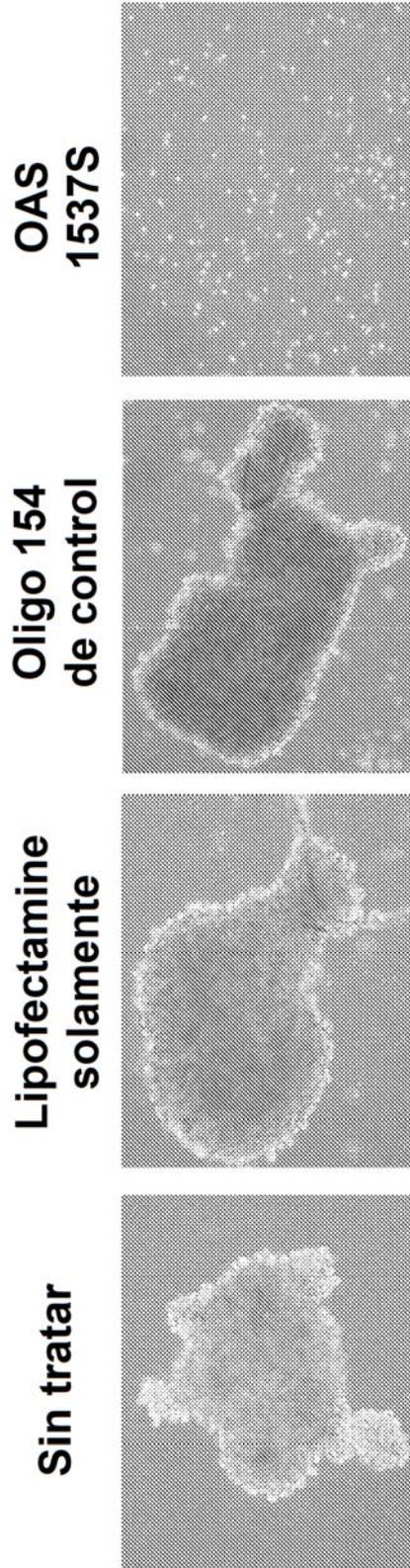


Figura 3

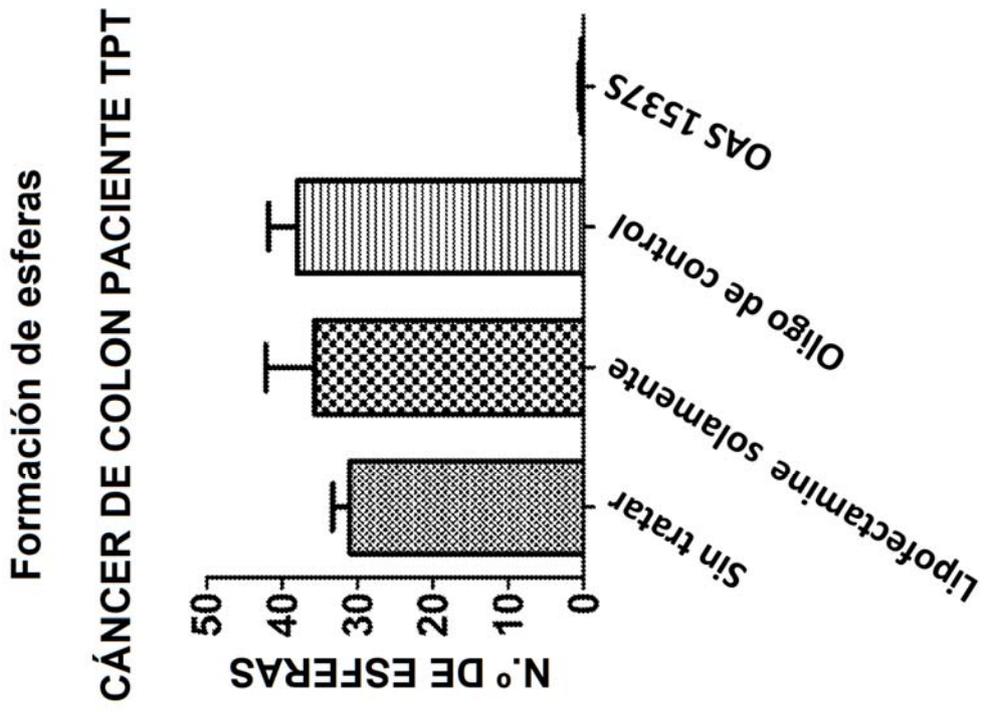


Figura 4

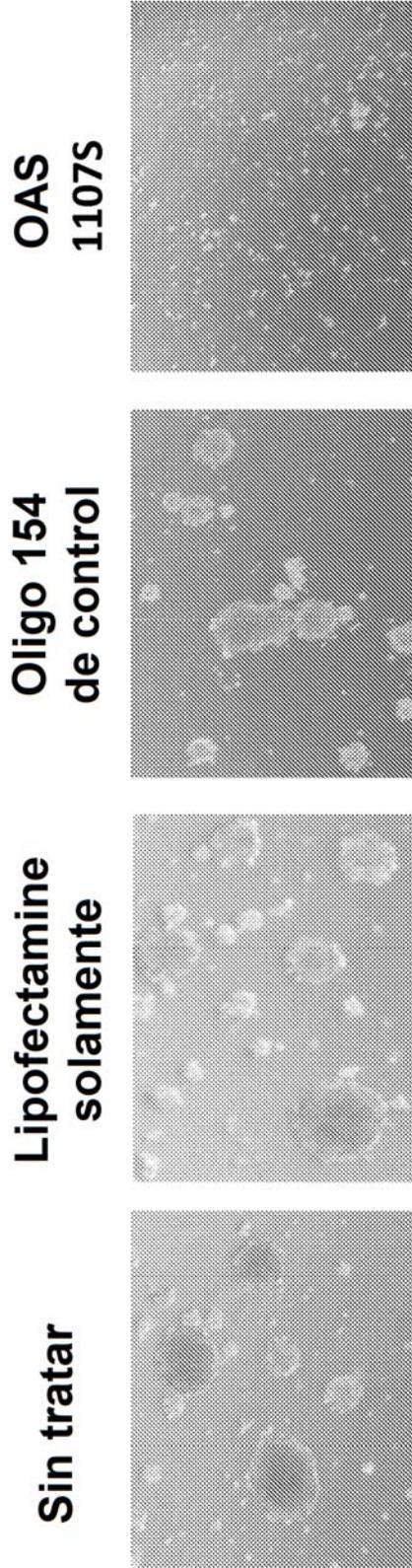


Figura 5
Cáncer de colo HCT-116 - Formación de esferas de células

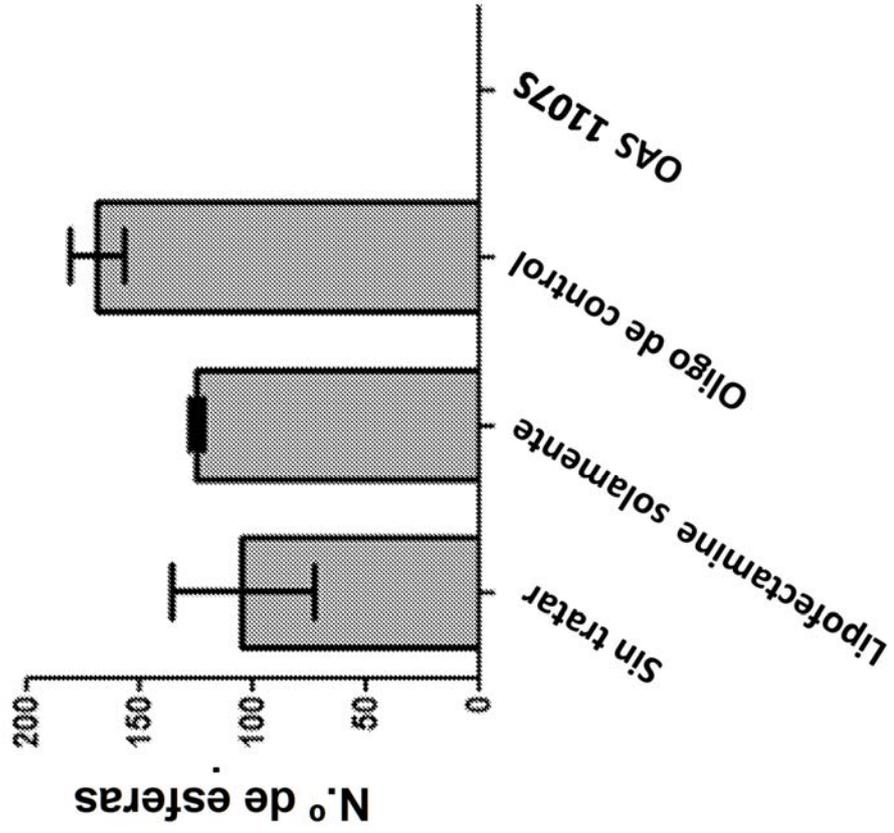


Figura 6

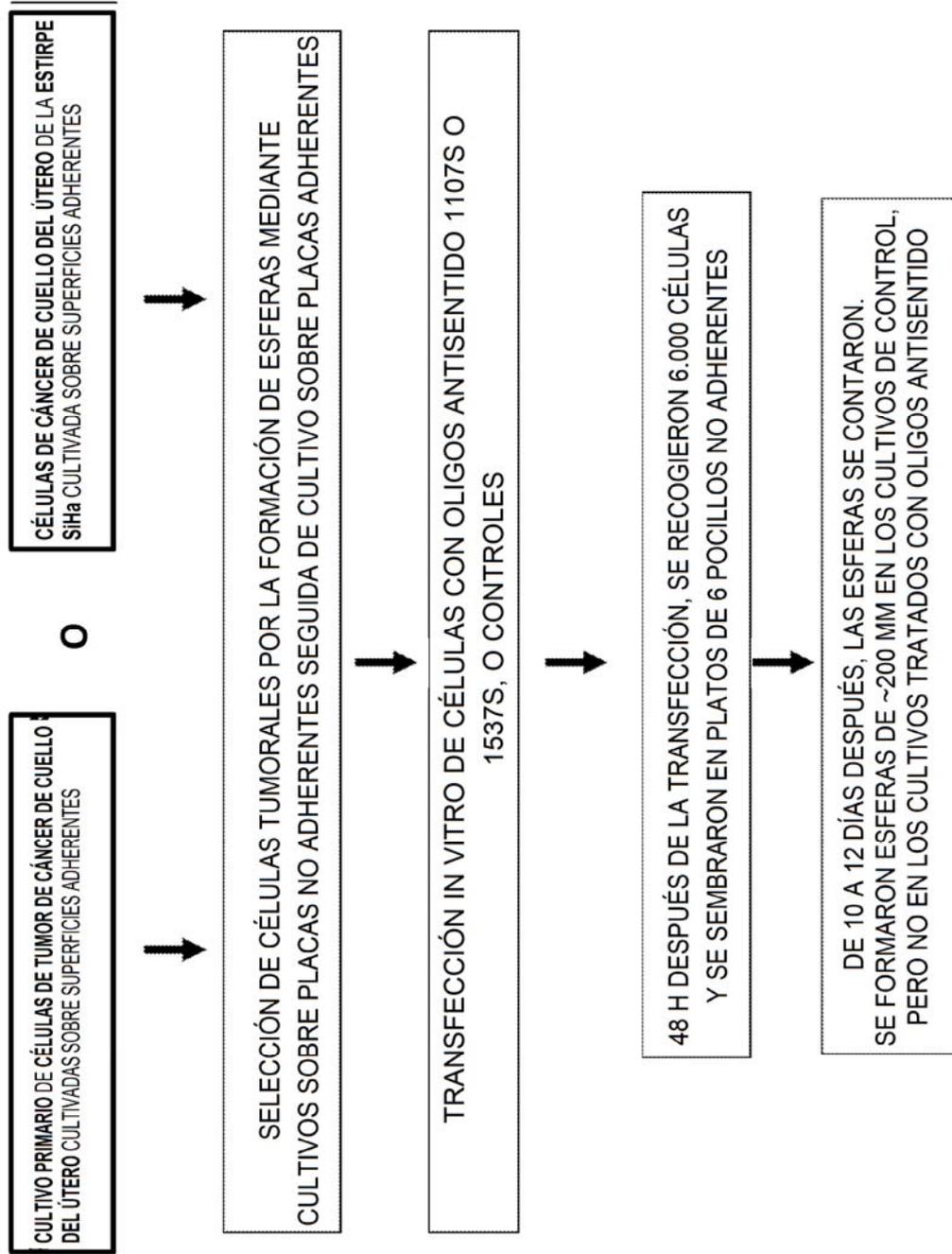


Figura 7
FORMACIÓN DE ESFERAS CON TRATAMIENTOS DIFERENTES

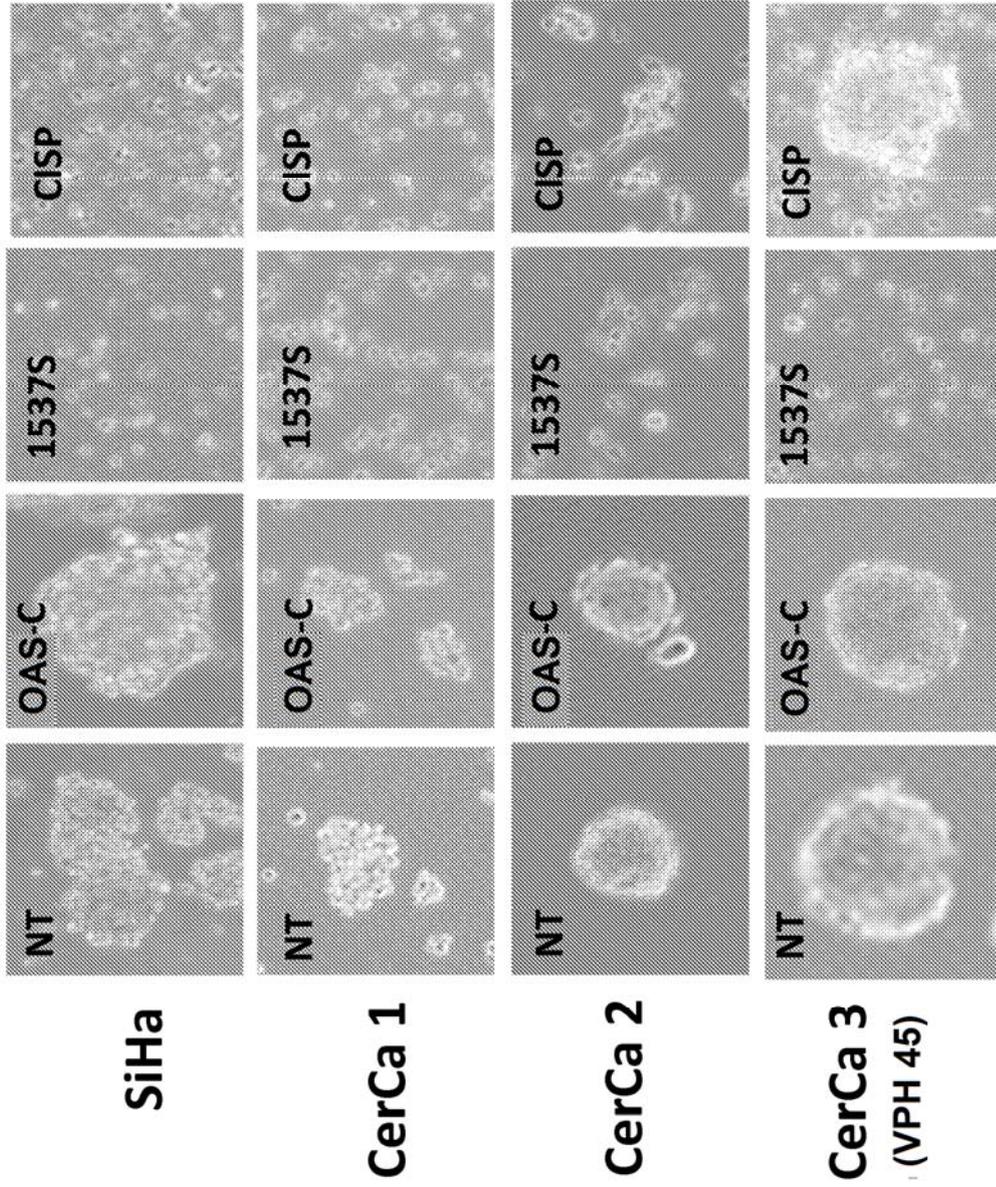


Figura 8

EFICIENCIA DE FORMACIÓN DE ESFERAS (% DE EFE) DE CÉLULAS DE CÁNCER DE CUELLO DE ÚTERO

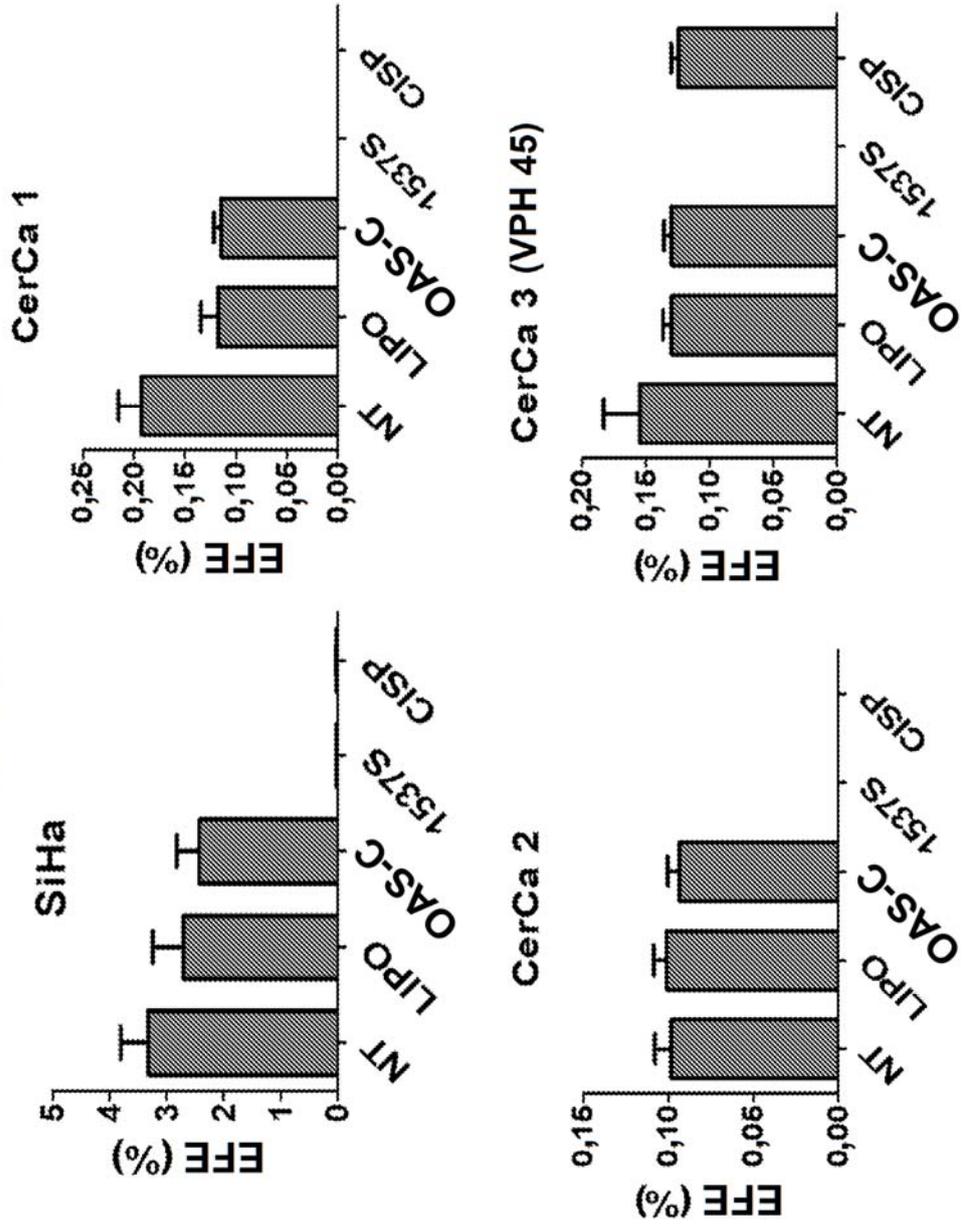
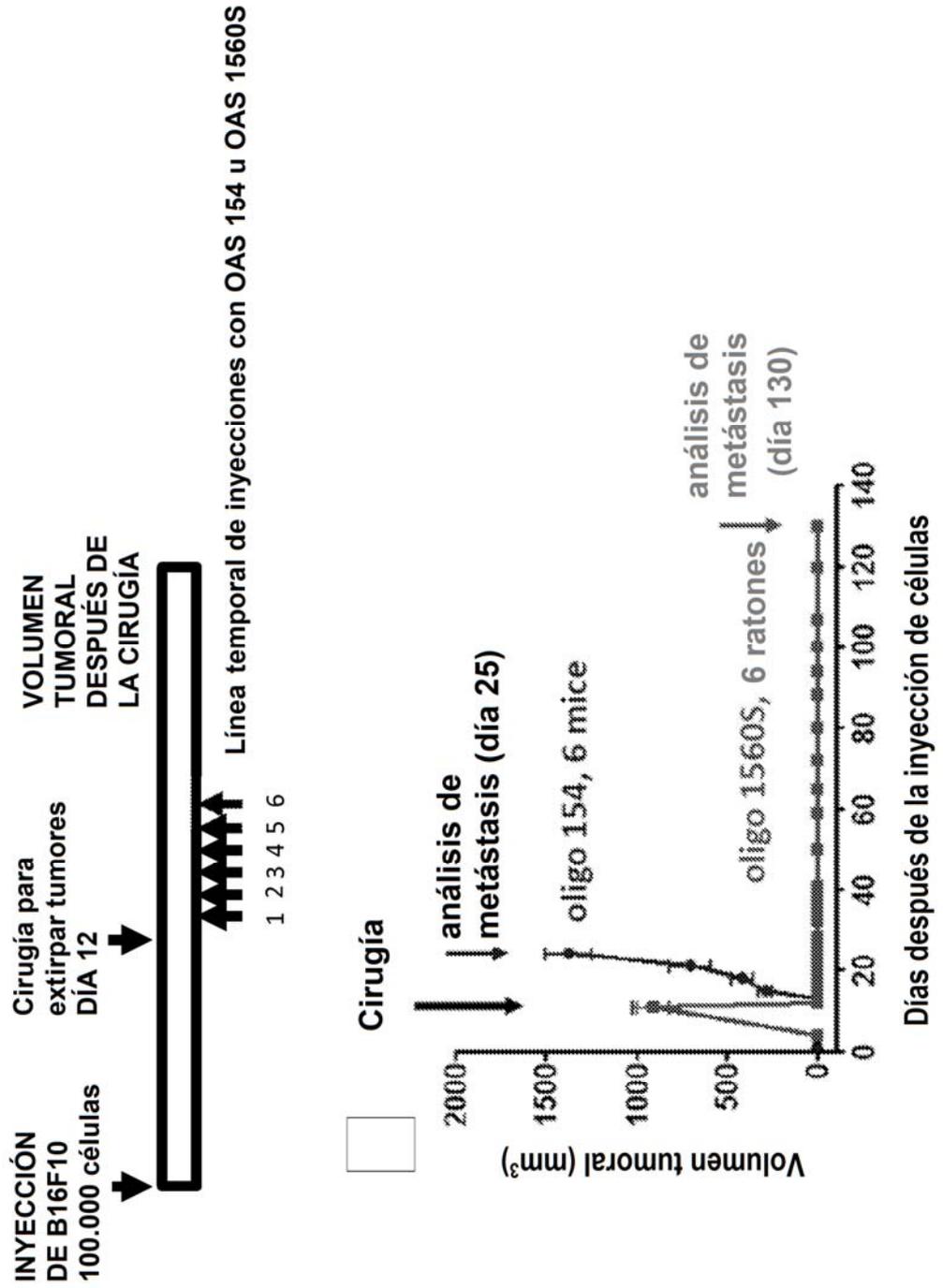


Figura 9



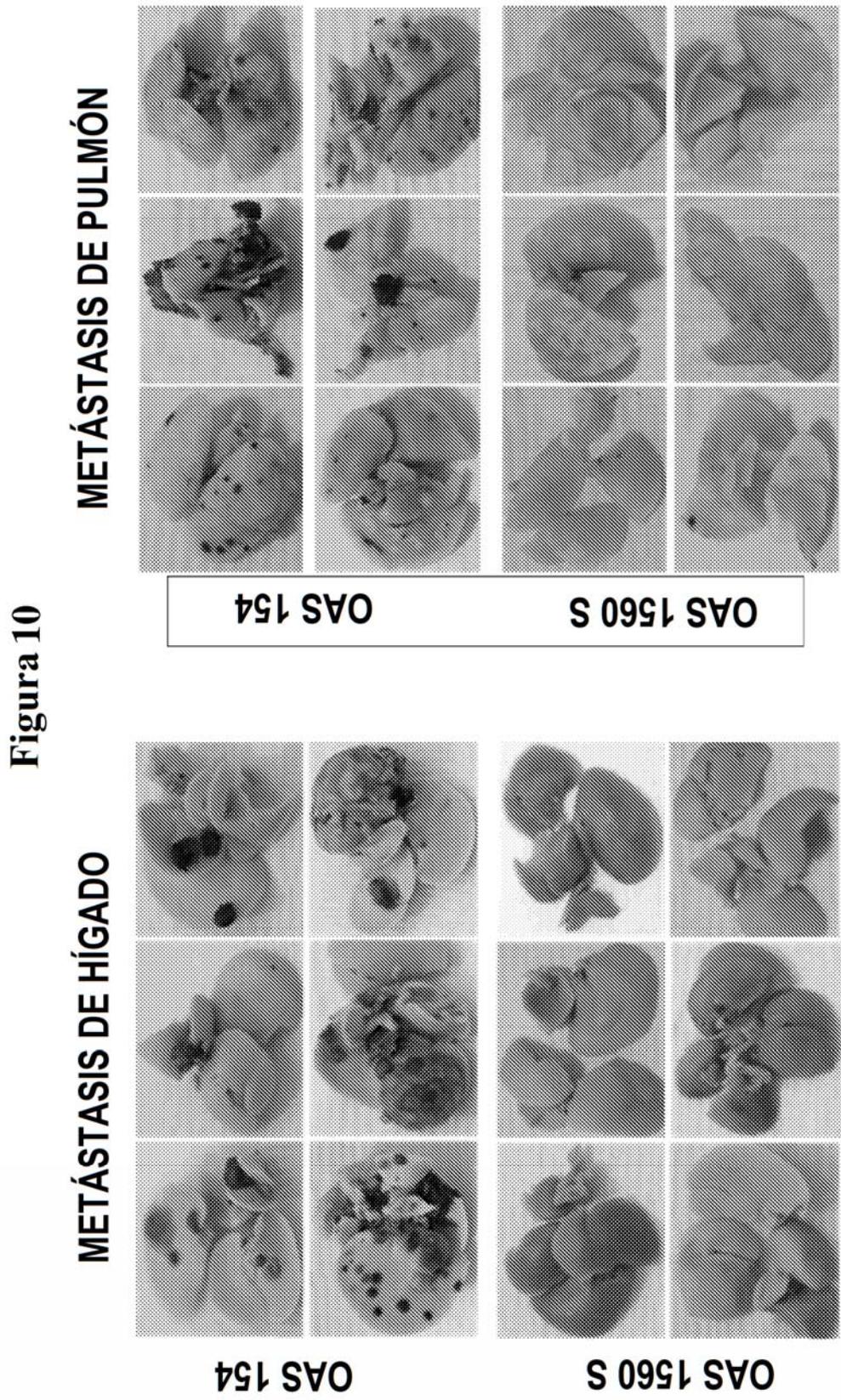


Figura 11

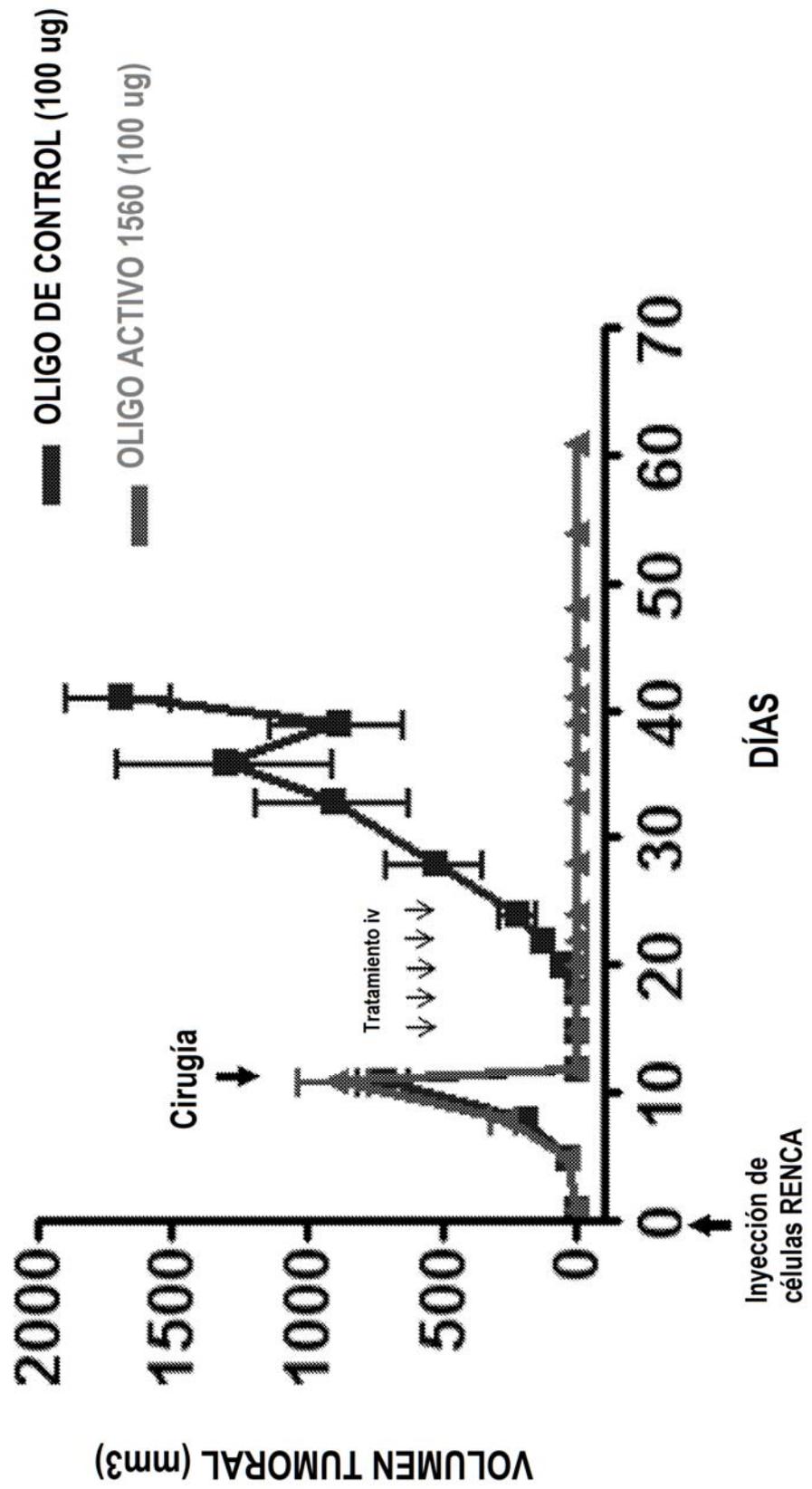


Figura 12

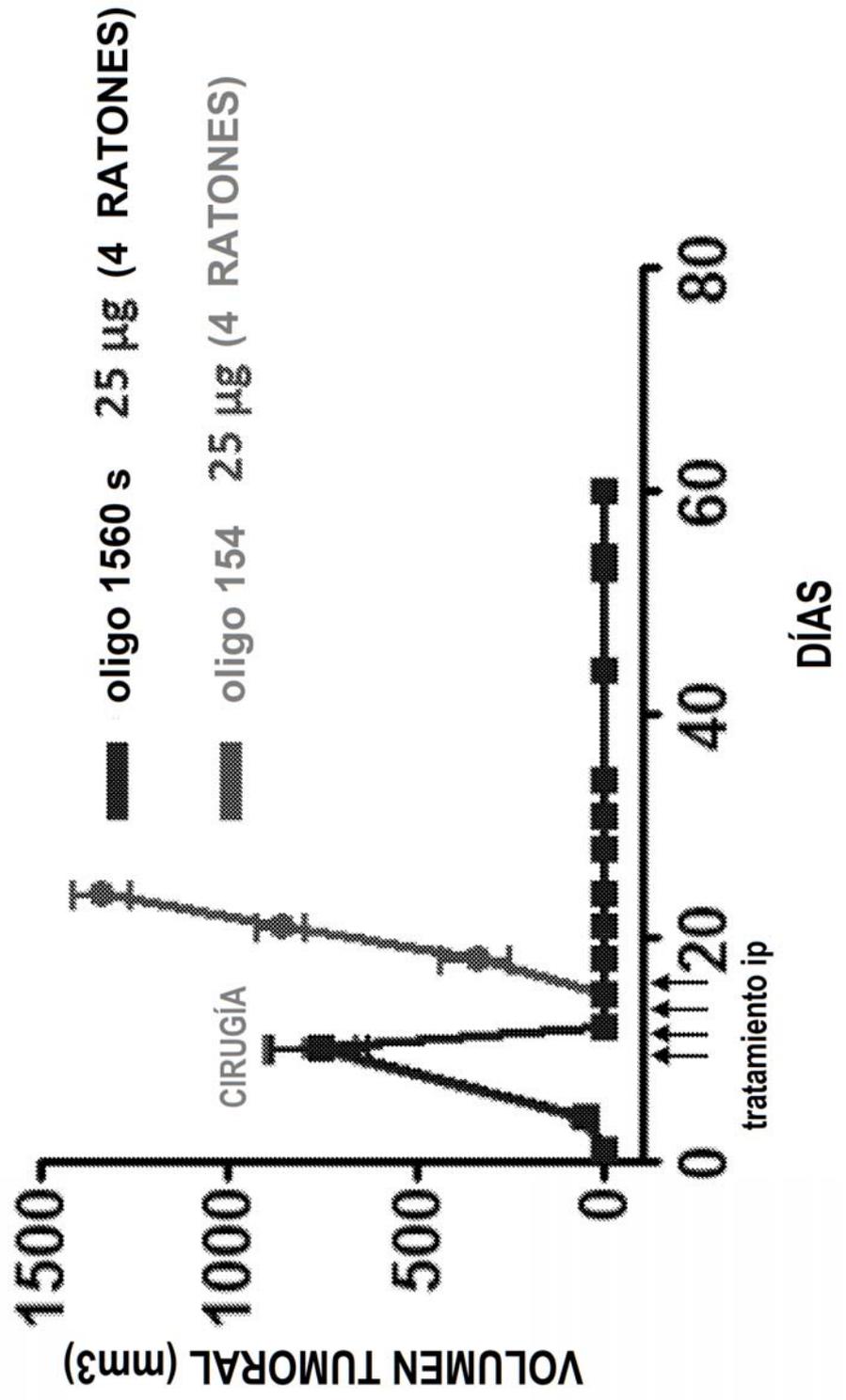
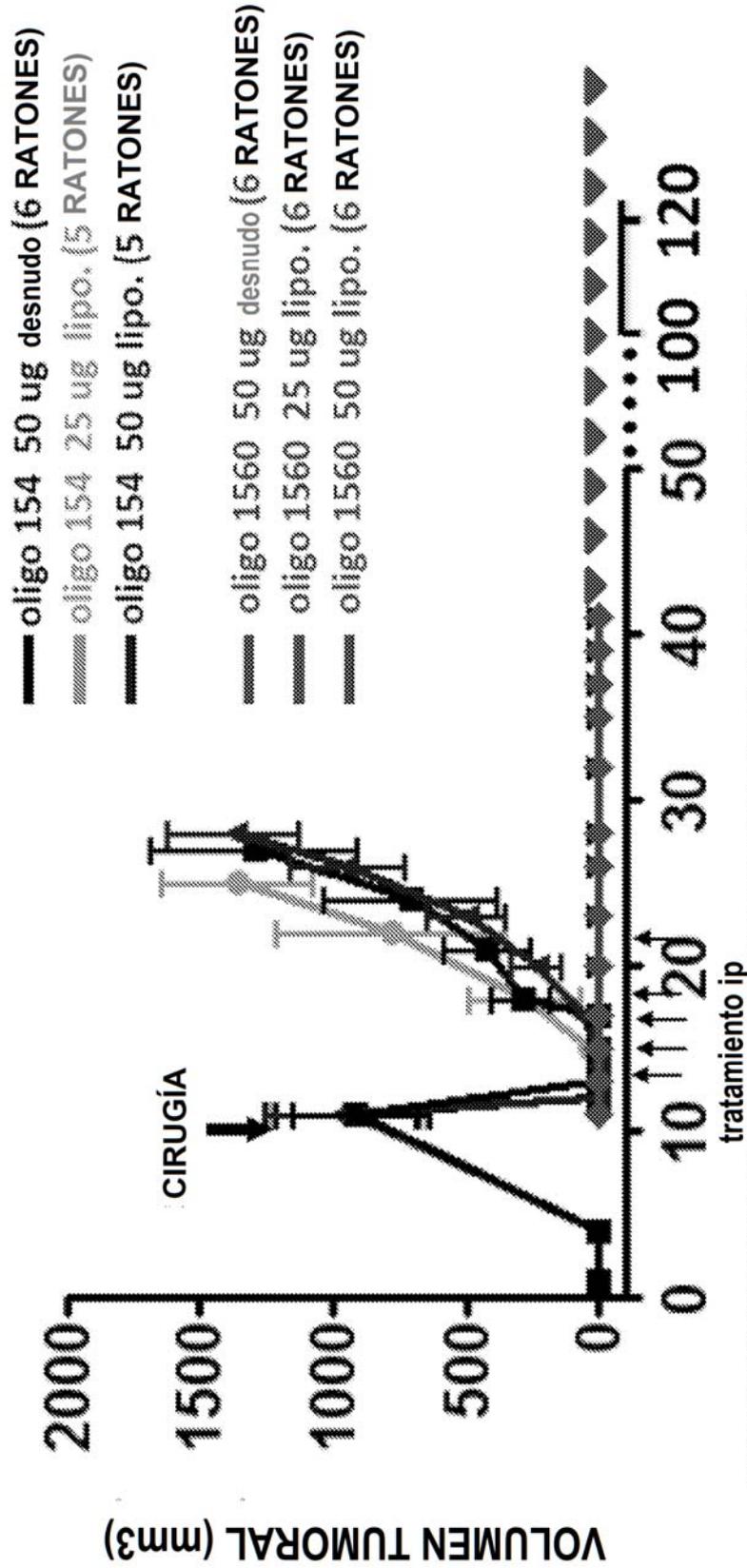


Figura 13



DÍAS DESPUÉS DE LA INYECCIÓN DE LAS CÉLULAS

Figura 14

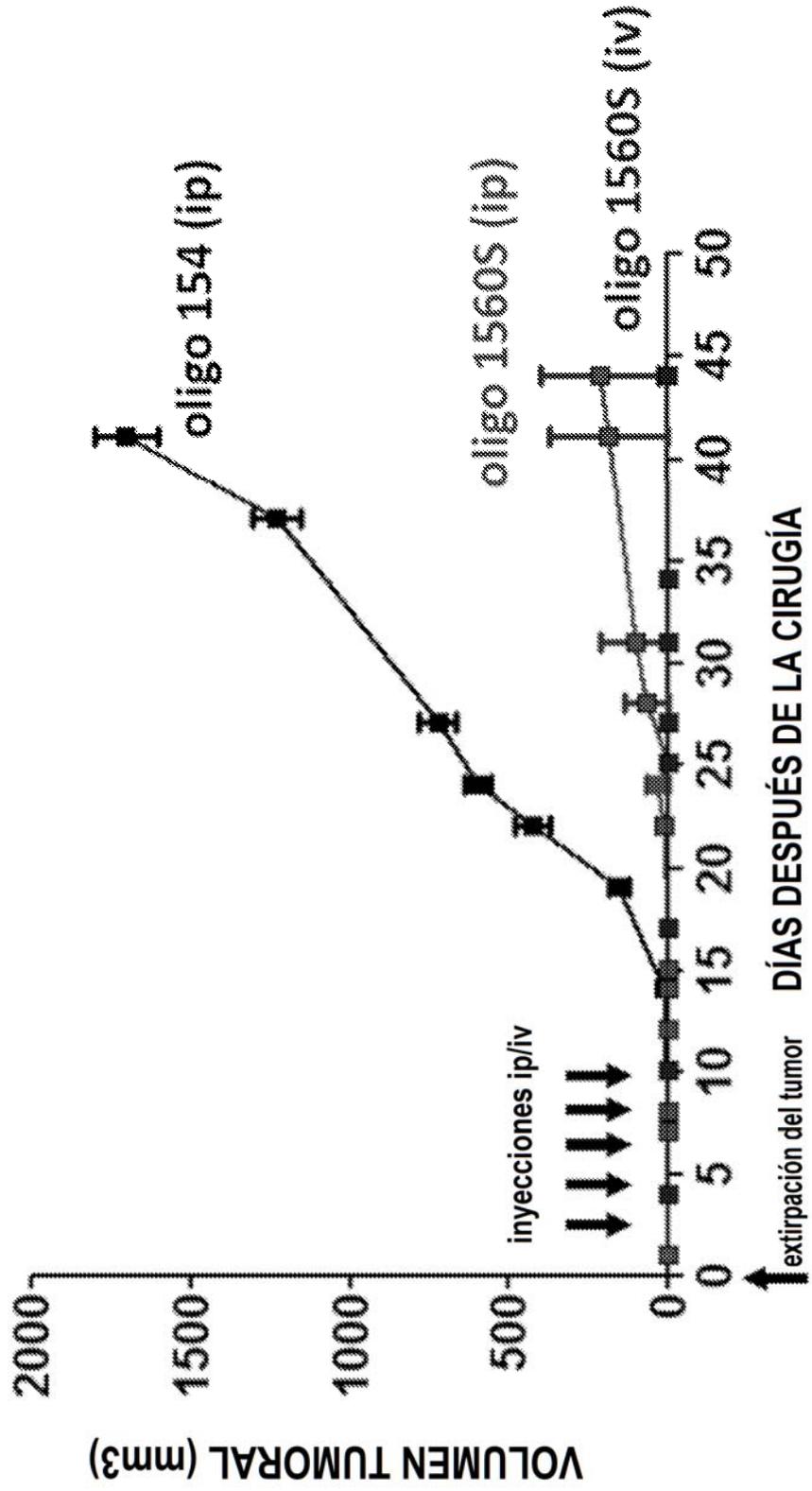


Figura 15

