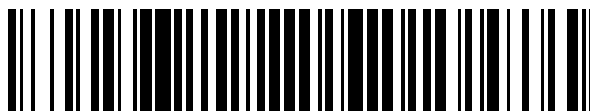


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 753 259**

51 Int. Cl.:

A61K 38/19 (2006.01)
A61K 31/7105 (2006.01)
C07K 14/52 (2006.01)
A61K 38/20 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)
C12N 15/117 (2010.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.04.2016** E 16166757 (1)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2019** EP 3173092

54 Título: **Composición que contiene ARN para el tratamiento de enfermedades tumorales**

30 Prioridad:

22.04.2015 EP 15001191

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

07.04.2020

73 Titular/es:

**CUREVAC AG (100.0%)
Paul-Ehrlich-Str. 15
72076 Tübingen, DE**

72 Inventor/es:

**FOTIN-MLECZEK, MARIOLA;
KOWALCZYK, ALEKSANDRA;
HEIDENREICH, REGINA;
BAUMHOF, PATRICK;
PROBST, JOCHEN y
KALLEN, KARL-JOSEF**

74 Agente/Representante:

BUENO FERRÁN , Ana María

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 753 259 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

Composición que contiene ARN para el tratamiento de enfermedades tumorales

Introducción

5 La presente invención se refiere a una composición que contiene ARN para su uso como se define en las reivindicaciones adjuntas. En particular, la presente invención proporciona una composición que contiene ARN para su uso en el tratamiento o la profilaxis de enfermedades tumorales y/o cancerosas, donde la composición que contiene el ARN comprende al menos un ARN codificante, comprendiendo al menos una región codificante de interleuquina-12 (IL-12) o un fragmento o variante de la misma, donde el fragmento o la variante tiene la misma función biológica o actividad específica en comparación con la proteína nativa de longitud completa, 10 donde el al menos un ARN codificante es un ARNm, donde la composición que contiene ARN se aplica intratumoralmente y donde el paciente ha recibido o recibe un modulador de punto de control seleccionado de un inhibidor de CTLA4 y un inhibidor de la ruta PD-1.

15 El cáncer, también conocido como tumor maligno, describe un grupo de enfermedades que implican un crecimiento celular anormal con el potencial de invadir o extenderse a otras partes del cuerpo. En 2012, se produjeron alrededor de 14,1 millones de nuevos casos de cáncer en todo el mundo (sin incluir cánceres de piel diferentes al melanoma).

20 Los tratamientos estándar del cáncer incluyen quimioterapia, radiación y cirugía, aplicándose estos tratamientos individualmente o en combinación. Otros tratamientos aplican la inmunoterapia contra el cáncer, que se centra en estimular el sistema inmunitario mediante la vacunación o la inmunoterapia celular adoptiva para provocar una respuesta antitumoral.

25 Algunos enfoques utilizan la terapia génica y la vacunación genética para el tratamiento del cáncer o de otras enfermedades tumorales. La terapia génica y la vacunación genética son métodos de medicina molecular basados en la introducción de ácidos nucleicos en las células o los tejidos de un paciente. Así, la información codificada por los ácidos nucleicos introducidos es procesada en el organismo, es decir, resulta en la expresión de un péptido o proteína terapéuticos o en la expresión de un antígeno que es codificado por los ácidos nucleicos.

30 Los métodos de terapia génica convencionales, incluyendo la terapia génica y la vacunación genética, se basan en el uso de moléculas de ADN para transferir a la célula la información genética deseada. Se han desarrollado diversos métodos para introducir ADN en las células, tales como la transfección con fosfato de calcio, la transfección con polibreno, la fusión de protoplastos, la electroporación, la microinyección y la lipofección. También pueden emplearse ADN-virus como vehículo para el ADN, consiguiéndose una tasa de transfección muy alta. El uso de ADN conlleva el riesgo de que el ADN se inserte en un gen intacto del genoma de la célula huésped, por ejemplo recombinación. En este caso, el gen afectado puede ser mutado e inactivado o puede dar lugar a una información errónea. Otro riesgo del uso del ADN como agente farmacéutico es el riesgo de 35 inducir anticuerpos patógenos anti-medicamentos (anticuerpos anti-ADN) en el paciente, lo que puede resultar una respuesta inmune (posiblemente fatal).

El uso de ARN como agente terapéutico genético o como vacuna genética es sustancialmente más seguro, ya que el ARN no conlleva el riesgo de integrarse en el genoma para provocar una inducción patógena no deseada de anticuerpos anti-medicamentos.

40 Por tanto, los sistemas de expresión de ARN tienen ventajas considerables en comparación con los sistemas de expresión de ADN en la terapia génica y en la vacunación genética, aunque se sabe de la técnica anterior o se ha asumido hace tiempo que la inestabilidad del ARNm o del ARN en general puede ser un problema en la aplicación de métodos médicos basados en sistemas de expresión de ARN.

45 En particular, la inestabilidad del ARN se debe a las enzimas de degradación del ARN (ribonucleasas - ARNasas). También existen otros muchos procesos que desestabilizan el ARN, donde, a menudo, la interacción entre el ARN y las proteínas parece desempeñar un papel crucial. Se han propuesto algunas medidas para aumentar la estabilidad del ARN, lo que permite su uso como agente en la terapia génica o en una vacuna de ARN.

Para resolver el problema de la estabilidad *ex vivo* del ARN, la solicitud de patente europea EP 1 083 232 A1 describe un método para introducir ARN, en particular ARNm, en células y organismos, donde el ARN forma un complejo con un péptido o proteína catiónico.

5 Es conocida la aplicación de ARNm para el tratamiento y/o la profilaxis del cáncer. Por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO 03/051401 A2 describe una composición farmacéutica que comprende al menos un ARNm, el cual contiene al menos una región que codifica para un antígeno tumoral, combinado con un disolvente acuoso y preferiblemente con una citoquina, por ejemplo GM-CSF. Se propone el uso de la composición farmacéutica para la terapia y/o la profilaxis contra el cáncer.

10 La solicitud de patente internacional WO 2006/008154 A1 describe una mezcla de ARNm para la vacunación frente a enfermedades tumorales, donde al menos un tipo de ARNm contiene al menos una región codificante de antígeno tumoral. Al menos otro ARNm contiene al menos un tipo de una región codificante de proteína inmunogénica.

15 La administración intratumoral de vectores del virus Semliki-Forest que codifican para la interleuquina-12 se ha descrito en Melero et al. ("Strict Requirement for Vector-induced Type I Interferon in Efficacious Antitumor Responses to Virally Encoded IL 12", *Cancer Research*, vol. 75, no. 3, diciembre 19, 2014, pp. 497-507) y Chikkanna-Gowda et al. ("Regression of mouse tumours and inhibition of metastases following administration of a Semliki Forest virus vector with enhanced expression of IL-12", *Gene Therapy*, vol. 12, no. 16, agosto 1, 2005, pp. 1253-1263). Un enfoque similar también se describe en la solicitud de patente US 2003/0118564.

20 Sin embargo, todavía existe la necesidad de un tratamiento efectivo de las enfermedades tumorales y especialmente para el tratamiento del cáncer. Por tanto, el objetivo que subyace en la invención es proporcionar un enfoque de tratamiento eficaz de enfermedades tumorales donde el tejido tumoral y las células cancerosas sean específicamente destruidas.

25 Este objetivo se resuelve mediante el objeto de las reivindicaciones. En particular, el objeto que subyace a la presente invención se resuelve, de acuerdo con un primer aspecto, mediante una composición que contiene ARN para su uso en el tratamiento o la profilaxis de enfermedades tumorales y/o cancerosas. Según otros aspectos de la invención, el objetivo se resuelve mediante una composición farmacéutica y mediante un kit o kit de partes y mediante un método de tratamiento de enfermedades tumorales y/o cancerosas.

Definiciones:

30 Con fines de claridad y legibilidad, se proporciona la siguiente información y definiciones de antecedentes científicos. Cualquier característica técnica así descrita puede ser parte de todas y cada una de las realizaciones aquí descritas. Se pueden proporcionar definiciones y explicaciones adicionales en el contexto de esta descripción.

35 Sistema inmunitario: El sistema inmunitario puede proteger a los organismos de infecciones. Cuando un patógeno atraviesa la barrera física de un organismo y entra en este organismo, el sistema inmune innato proporciona una respuesta inmediata, pero no específica. Si los patógenos evaden esta respuesta innata, los vertebrados poseen una segunda barrera protectora, el sistema inmunitario adaptativo. Aquí, el sistema inmune adapta su respuesta durante una infección para mejorar su reconocimiento del patógeno. Esta respuesta mejorada se mantiene después de que el patógeno haya sido eliminado, en forma de una memoria inmunológica, y permite que el sistema inmunitario adaptativo ataque de forma más rápida y más fuerte cada vez que se encuentra con este patógeno. De acuerdo con esto, el sistema inmune comprende el sistema inmune innato y el adaptativo. Cada una de estas dos partes contiene los llamados componentes humorales y celulares.

45 Respuesta inmune: Una respuesta inmune generalmente puede ser una reacción específica del sistema inmune adaptativo a un antígeno particular (también denominada respuesta inmune específica o adaptativa) o una reacción inespecífica del sistema inmune innato (también denominada respuesta inmune innata o no específica).

50 Sistema inmune adaptativo: El sistema inmune adaptativo está compuesto por células y procesos sistémicos altamente especializados que eliminan o previenen el crecimiento patógeno. La respuesta inmune adaptativa proporciona al sistema inmune de los vertebrados la capacidad de reconocer y recordar patógenos específicos (para generar inmunidad) y para desarrollar ataques más fuertes cada vez que se encuentra el patógeno. El sistema es altamente adaptable debido a la hipermutación somática (un proceso de mayor aparición de

mutaciones somáticas) y la recombinación V(D)J (una recombinación genética irreversible de segmentos de genes del receptor antígeno). Este mecanismo permite que un pequeño número de genes genere una gran cantidad de receptores de antígeno diferentes, que entonces se expresan de manera única en cada linfocito individual. Debido a que el reordenamiento genético conduce a un cambio irreversible del ADN de cada célula, toda la progenie (descendencia) de esa célula heredará así genes que codifican la misma especificidad del receptor, incluyendo las células de memoria B y las células de memoria T, que son las claves para una inmunidad específica de larga duración. La teoría de la red inmunitaria es una teoría sobre cómo funciona el sistema inmunitario adaptativo, basada en las interacciones entre las regiones variables de los receptores de las células T, las células B y de las moléculas formadas por las células T y las células B que tienen regiones variables.

Respuesta inmune adaptativa: La respuesta inmune adaptativa generalmente se entiende como específica de antígeno. La especificidad de antígeno permite generar respuestas que están adaptadas a antígenos, patógenos o células infectadas por patógenos específicos. La capacidad de desarrollar estas respuestas personalizadas se mantiene en el cuerpo gracias a las "células de memoria". Si un patógeno infecta el cuerpo más de una vez, estas células de memoria específicas se utilizan para eliminarlo rápidamente. En este contexto, el primer paso de una respuesta inmune adaptativa es la activación de células T naíve específicas de antígeno o de diferentes células inmunes capaces de inducir una respuesta inmune antigénica mediante las células presentadoras de antígeno. Esto se produce en los tejidos y órganos linfoides, a través de los cuales pasan constantemente las células T naíve. Los tipos celulares que pueden servir como células presentadoras de antígeno son, entre otras, células dendríticas, macrófagos y células B. Cada una de estas células tiene una función distinta en la provocación de respuestas inmunes. Las células dendríticas absorben los antígenos por fagocitosis y macropinocitosis y son estimuladas por el contacto con, por ejemplo, un antígeno extraño, migrando al tejido linfóide local, donde se diferencian en células dendríticas maduras. Los macrófagos ingieren antígenos particulados, tales como bacterias, y son inducidos por agentes infecciosos u otros estímulos apropiados para expresar moléculas MHC. La capacidad única de las células B para unirse e internalizar antígenos proteicos solubles mediante sus receptores también puede ser importante para inducir células T. La presentación del antígeno en las moléculas MHC conduce a la activación de las células T, lo que induce su proliferación y diferenciación en células T efectoras armadas. La función más importante de las células T efectoras es la destrucción de las células infectadas mediante las células T citotóxicas CD8 + y la activación de los macrófagos mediante las células Th1, que juntas constituyen la inmunidad medida por células, y la activación de las células B por las células Th2 y Th1, produciendo diferentes clases de anticuerpos, dirigiendo así la respuesta inmune humoral. Las células T reconocen un antígeno por sus receptores de células T, que no reconocen y se unen al antígeno directamente, sino que reconocen fragmentos peptídicos cortos, por ejemplo de antígenos proteicos derivados de patógenos que se unen a las moléculas MHC en las superficies de otras células.

Inmunidad celular/respuesta celular inmune: La inmunidad celular se relaciona típicamente con la activación de macrófagos, células asesinas naturales (NK), linfocitos T citotóxicos específicos de antígeno y la liberación de varias citoquinas en respuesta a un antígeno. De manera general, la inmunidad celular no está relacionada con los anticuerpos, sino con la activación de las células del sistema inmune. Una respuesta celular inmune se caracteriza, por ejemplo, por la activación de linfocitos T citotóxicos específicos de antígeno, que son capaces de inducir la apoptosis en células corporales que presentan epítopos de un antígeno en su superficie, tales como células infectadas por virus, células con bacterias intracelulares y células cancerosas que muestran antígenos tumorales; activando macrófagos y células asesinas naturales, permitiéndoles destruir patógenos; y estimulando que las células secreten diversas citoquinas que influyen en la función de otras células implicadas en las respuestas inmunes adaptativas y las respuestas inmunes innatas.

Inmunidad humoral/respuesta inmune humoral: La inmunidad humoral se refiere típicamente a la producción de anticuerpos y a los procesos accesorios que pueden acompañarla. Una respuesta inmune humoral puede caracterizarse típicamente, por ejemplo, por la activación de Th2 y la producción de citoquinas, la formación de un centro germinal y un cambio de isotipo, la maduración de afinidad y la generación de células de memoria. La inmunidad humoral también puede referirse típicamente a las funciones efectoras de los anticuerpos, que incluyen la neutralización de patógenos y toxinas, la activación clásica del complemento y la promoción de opsonina de fagocitosis y eliminación de patógenos.

Sistema inmune innato: El sistema inmune innato, también conocido como sistema inmune no específico, comprende las células y los mecanismos que defienden al huésped de la infección por otros organismos de forma no específica. Esto significa que las células del sistema innato reconocen y responden a los patógenos de forma genérica, pero, a diferencia del sistema inmune adaptativo, no confiere inmunidad a largo plazo o protectora al huésped. El sistema inmune innato puede ser activado, por ejemplo, por ligandos de receptores de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), por ejemplo receptores tipo Toll (TLR) u otras sustancias auxiliares, como lipopolisacáridos, TNF-alfa, ligando CD40 o citoquinas, monoquinas, linfocinas,

interleuquinas o quimioquinas, ácidos nucleicos inmunoestimuladores, ARN inmunoestimulante (ARNis), ADN-CpG, agentes antibacterianos o agentes antivirales. Típicamente, una respuesta del sistema inmune innato incluye el reclutamiento de células inmunes en puntos de infección mediante la producción de factores químicos, incluyendo mediadores químicos especializados, denominados citoquinas; la activación de la cascada del complemento; la identificación y eliminación de sustancias extrañas presentes en órganos, tejidos, sangre y linfa, mediante glóbulos blancos especializados; la activación del sistema inmune adaptativo a través de un proceso conocido como presentación de antígeno; y/o la acción como barrera física y química para agentes infecciosos.

5

Componente adyuvante/adyuvante: Un adyuvante o un componente adyuvante en el sentido más amplio es típicamente un agente o una composición (por ejemplo farmacológica o inmunológica) que puede modificar, por ejemplo mejorar, la eficacia de otros agentes, tales como un medicamento o vacuna. Convencionalmente, en el contexto de la presente descripción, el término se refiere a un compuesto o a una composición que sirve como vehículo o sustancia auxiliar para inmunógenos y/u otros compuestos farmacéuticamente activos. Debe interpretarse en un sentido amplio y se refiere a un amplio espectro de sustancias que pueden aumentar la inmunogenicidad de los antígenos incorporados o administrados conjuntamente con un adyuvante en cuestión. En el contexto de la presente descripción, un adyuvante preferentemente mejorará el efecto inmunogénico específico de los agentes activos aquí descritos. Típicamente, "adyuvante" o "componente adyuvante" tiene el mismo significado y se pueden usar indistintamente. Los adyuvantes pueden dividirse, por ejemplo, en inmuno potenciadores, sistemas de administración antigénica o combinaciones de los mismos.

10

15

Típicamente se entiende que el término "adyuvante" no comprende agentes que confieren inmunidad por sí mismos. Un adyuvante ayuda al sistema inmune de manera inespecífica para mejorar la respuesta inmune específica de antígeno, por ejemplo promoviendo la presentación de un antígeno al sistema inmune o la inducción de una respuesta inmune innata inespecífica. Además, un adyuvante preferiblemente puede por ejemplo modular la respuesta inmune específica de antígeno, por ejemplo desplazando la respuesta específica de antígeno dominante basada en Th2 a una respuesta específica de antígeno más basada en Th1 o viceversa. Así, un adyuvante puede modular favorablemente la expresión/secreción de citoquinas, la presentación de antígenos, el tipo de respuesta inmune, etc.

20

25

ARN inmunoestimulador/inmunoestimulante: Un ARN inmunoestimulador/inmunoestimulante (ARNis en el contexto de la presente descripción puede ser típicamente un ARN que es capaz de inducir una respuesta inmune innata por sí mismo. Normalmente, no tiene un marco de lectura abierto y, por ello, no proporciona un péptido-antígeno o inmunógeno, sino que provoca una respuesta inmune innata, por ejemplo uniéndose a un tipo específico de receptor tipo Toll (TLR) o a otros receptores adecuados. Por tanto, los ARN inmunoestimuladores/inmunoestimulantes preferiblemente son ARN no codificantes. Sin embargo, por supuesto, también los ARNm que tienen un marco de lectura abierto y que codifican un péptido/proteína (por ejemplo de función antigénica) pueden inducir una respuesta inmune innata.

30

35

Antígeno: El término "antígeno" se refiere típicamente a una sustancia que puede ser reconocida por el sistema inmune y puede ser capaz de desencadenar una respuesta inmune específica de antígeno, por ejemplo la formación de anticuerpos o células T específicas de antígeno, como parte de una respuesta inmune adaptativa. Un antígeno puede ser una proteína o un péptido. En este contexto, el primer paso de una respuesta inmune adaptativa es la activación de células T naive específicas de antígeno por células presentadoras de antígeno. Esto se produce en los tejidos y órganos linfoides a través de los cuales pasan constantemente las células T naive. Los tres tipos de células que pueden servir como células presentadoras de antígeno son células dendríticas, macrófagos y células B. Cada una de estas células tiene una función distinta en la respuesta inmune. Las células dendríticas tisulares captan antígenos por fagocitosis y macropinocitosis y son estimuladas por la infección para migrar al tejido linfóide local, donde se diferencian en células dendríticas maduras. Los macrófagos ingieren antígenos particulados, tales como bacterias, y son inducidos por agentes infecciosos para expresar moléculas MHC de clase II. La capacidad única de las células B para unirse e internalizar antígenos de proteínas solubles a través de sus receptores puede ser importante para la inducción de células T. La presentación del antígeno en las moléculas MHC conduce a la activación de las células T, induciendo su proliferación y diferenciación en células T efectoras armadas. La función más importante de las células T efectoras es la destrucción de las células infectadas mediante células T citotóxicas CD8 + y la activación de macrófagos mediante células Th1, que juntas constituyen la inmunidad celular, y la activación de células B tanto por células Th2 como Th1 para producir diferentes clases de anticuerpos, dirigiendo así la respuesta inmune humoral. Las células T reconocen un antígeno mediante sus receptores de células T, que no reconocen y se unen al antígeno directamente, sino que reconocen fragmentos peptídicos cortos, por ejemplo de antígenos proteicos patógenos, unidos a las moléculas MHC en las superficies de otras células.

40

45

50

55

Las células T se dividen en dos clases principales con diferentes funciones efectoras. Las dos clases se distinguen por la expresión de las proteínas de superficie celular CD4 y CD8. Estos dos tipos de células T

difieren en la clase de molécula MHC que reconocen. Existen dos clases de moléculas MHC: moléculas MHC de clase I y de clase II, que difieren en su estructura y patrón de expresión en los tejidos del cuerpo. Las células T CD4+ se unen a una molécula MHC de clase II y las células T CD8+ a una molécula MHC de clase I. Las moléculas MHC de clase I y clase II se distribuyen de forma diferente entre las células que reflejan las diferentes funciones efectoras de las células T que las reconocen. Las moléculas MHC de clase I presentan péptidos de origen citosólico y nuclear, por ejemplo de patógenos, comúnmente virus, a las células T CD8+, que se diferencian en células T citotóxicas especializadas para eliminar cualquier célula que reconozcan específicamente. Casi todas las células expresan moléculas MHC de clase I, aunque el nivel de expresión constitutiva varía de un tipo a otro de célula. Pero no solo los péptidos patógenos de virus son presentados por las moléculas MHC de clase I, sino que también presentan autoantígenos, tales como antígenos tumorales. Las moléculas MHC de clase I se unen a péptidos de proteínas degradadas en el citosol y transportadas al retículo endoplásmico. Las células T CD8+ que reconocen los complejos MHC de clase I: péptidos en la superficie de células infectadas están especializadas en eliminar cualquier célula que muestre péptidos extraños y así eliminar del cuerpo células infectadas con virus y otros patógenos citosólicos. La función principal de las células T CD4+ (células T auxiliares CD4+) que reconocen las moléculas MHC de clase II es activar otras células efectoras del sistema inmune. Por tanto, las moléculas MHC de clase II normalmente se encuentran en linfocitos B, células dendríticas y macrófagos, células que participan en las respuestas inmunes, pero no en otras células de los tejidos. Los macrófagos, por ejemplo, se activan para eliminar los patógenos intravesiculares que albergan y las células B para secretar inmunoglobulinas frente a moléculas extrañas. Es de evitar que las moléculas MHC de clase II se unan a péptidos en el retículo endoplásmico y, por tanto, las moléculas MHC de clase II se unen a péptidos de proteínas que se degradan en los endosomas. Pueden capturar péptidos de patógenos que han entrado en el sistema vesicular de macrófagos o de antígenos internalizados por células dendríticas inmaduras o receptores de inmunoglobulina de células B. Los patógenos que se acumulan en grandes cantidades dentro de los macrófagos y las vesículas de las células dendríticas tienden a estimular la diferenciación de las células Th1, mientras que los antígenos extracelulares tienden a estimular la producción de células Th2. Las células Th1 activan las propiedades microbicidas de los macrófagos e inducen a las células B a producir anticuerpos IgG, que son muy efectivos para opsonizar patógenos extracelulares por la ingesta de células fagocíticas, mientras que las células Th2 inician la respuesta humoral activando células B naïve para secretar IgM e inducen la producción de anticuerpos débilmente opsonizantes, como IgG1 y IgG3 (ratón) e IgG2 e IgG4 (humano), así como IgA e IgE (ratón y humano).

Epítopo (también denominado "determinante de antígeno"): Los epítomos de células T pueden comprender fragmentos que preferiblemente tienen una longitud de aproximadamente 6 a aproximadamente 20 o incluso más aminoácidos, por ejemplo fragmentos tales como los procesados y presentados por moléculas MHC de clase I, preferiblemente de una longitud de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 aminoácidos, por ejemplo 8, 9 o 10 (o incluso 11 o 12 aminoácidos), o los fragmentos procesados y presentados por moléculas MHC de clase II, que preferiblemente tienen una longitud de aproximadamente 13 o más aminoácidos, por ejemplo 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o incluso más aminoácidos, pudiendo estos fragmentos seleccionarse de cualquier parte de la secuencia de aminoácidos. Estos fragmentos son típicamente reconocidos por las células T en forma de un complejo consistente en el fragmento peptídico y una molécula MHC. Los epítomos de células B son típicamente fragmentos ubicados en la superficie externa de antígenos de proteínas o péptidos (nativos).

Vacuna: Se entiende que una vacuna es típicamente un material profiláctico o terapéutico que proporciona al menos un antígeno o una función antigénica. El antígeno o la función antigénica pueden estimular el sistema inmunitario adaptativo del cuerpo para proporcionar una respuesta inmunitaria adaptativa.

ARNm que proporciona antígeno: Un ARNm que proporciona un antígeno puede ser típicamente un ARNm que tiene al menos un marco de lectura abierto que puede ser traducido por una célula o un organismo provisto con ese ARNm. El producto de esta traducción es un péptido o proteína que puede actuar como antígeno, preferiblemente como inmunógeno. El producto también puede ser una proteína de fusión compuesta por más de un inmunógeno, por ejemplo una proteína de fusión consistente en dos o más epítomos, péptidos o proteínas, donde los epítomos, péptidos o proteínas pueden estar unidos por secuencias de enlace.

ARNm bi-/multi-cistrónico: un ARNm bi-/multi-cistrónico típicamente puede tener dos (bi-cistrónico) o más (multi-cistrónico) secuencias de codificación (cds) (también referidas a veces como marcos de lectura abiertos (ORF)). Una secuencia de codificación/un marco de lectura abierto en este contexto es una secuencia de varios tripletes de nucleótidos (codones) que pueden traducirse en un péptido o proteína. La traducción de tal ARNm produce dos (bi-cistrónico) o más (multi-cistrónico) productos de traducción distintos (siempre que las secuencias de codificación/ORF no sean idénticas). Para la expresión en eucariotas, tales ARNm pueden comprender, por ejemplo, una secuencia de sitio de entrada ribosomal interna (IRES).

Estructura 5'-CAP: Una 5'-CAP es típicamente un nucleótido modificado (análogo de CAP), en particular un nucleótido guanina, añadido al extremo 5' de una molécula de ARNm. Preferiblemente, la 5'-CAP se añade

usando un enlace 5'-5'-trifosfato (también denominado m7GpppN). Otros ejemplos de estructuras 5'-CAP incluyen glicerilo, residuo desoxi abásico invertido (residuo), 4',5'-metilen nucleótido, 1-(beta-D-eritrofuranosil)nucleótido, 4'-tionucleótido, nucleótido carbocíclico, 1,5 -anhidroxitolnucleótido, L-nucleótidos, alfa-nucleótido, nucleótido base modificados, treo-pentofuranosil-nucleótido, nucleótido acíclico 3',4'-seco, nucleótido acíclico 3,4-dihidroxitulilo, nucleótido acíclico 3,5-dihidroxi-pentilo, residuo nucleótido invertido 3'-3', residuo abásico invertido 3'-3', resto nucleótido invertido 3'-2', resto abásico invertido 3'-2', 1,4-butanodiol-fosfato, 3'-fosforamidato, hexilfosfato, aminohexil-fosfato, 3'-fosfato, 3'-fosforotioato, fosforoditioato, o un residuo puente o no puente metilfosfonato. En el contexto de la presente descripción, estas estructuras 5'-CAP modificadas pueden emplearse para modificar la secuencia de ARNm de la composición aquí descrita. Otras estructuras 5'-CAP modificadas que pueden usarse en el contexto de la presente descripción son CAP1 (metilación adicional de la ribosa del nucleótido adyacente de m7GpppN), CAP2 (metilación adicional de la ribosa del 2^a nucleótido aguas abajo de m7GpppN), CAP3 (metilación adicional de la ribosa del 3^{er} nucleótido aguas abajo de m7GpppN), CAP4 (metilación adicional de la ribosa del 4^o nucleótido aguas abajo de m7GpppN), ARCA (análogo de CAP anti-inverso), ARCA modificado (por ejemplo ARCA modificado con fosfotioato), inosina, N1-metilguanosina, 2'-fluoroguanosina, 7-deazaguanosina, 8-oxoguanosina, 2-aminoguanosina, LNA-guanosina y 2-azidoguanosina.

En el contexto de la presente descripción, también se puede formar una estructura 5' cap en la síntesis química del ARN o en la transcripción *in vitro* de ARN (terminación co-transcripcional) usando análogos de cap, o se puede formar una estructura cap *in vitro* usando enzimas de cap (por ejemplo kits de terminación disponibles comercialmente).

Análogo de Cap: Un análogo de cap se refiere a un dinucleótido no polimerizable que tiene la funcionalidad cap porque facilita la traducción o localización y/o previene la degradación de la molécula de ARN cuando se incorpora en el extremo 5' de la molécula de ARN. No polimerizable significa que el análogo de cap se incorporará solo en el extremo 5' porque no tiene un 5' trifosfato y, por tanto, no puede ser extendido en la dirección 3' mediante una ARN-polimerasa dependiente de la plantilla.

Los análogos de cap incluyen, pero no se limitan a, una estructura química seleccionada del grupo consistente en m7GpppG, m7GpppA, m7GpppC; análogos de cap no metilados (por ejemplo GpppG); análogo de cap dimetilado (por ejemplo m2,7GpppG), análogo de cap trimetilado (por ejemplo m2,2,7GpppG), análogos de cap simétricos dimetilados (por ejemplo m7Gpppm7G) o análogos de cap anti-inversos (por ejemplo ARCA; m7,2'OmeGpppG) m7,2'dGpppG, m7,3'OmeGpppG, m7,3'dGpppG y sus derivados tetrafosfato) (Stepinski et al., 2001. ARN 7 (10): 1486-95).

Otros análogos de cap ya han sido descritos previamente (US 7.074.596, WO 2008/016473, WO 2008/157688, WO 2009/149253, WO 2011/015347 y WO 2013/059475). La síntesis de análogos de cap dinucleótido N7-(4-clorofenoxietil)-sustituidos ha sido recientemente descrita (Kore et al. (2013) Bioorg. Med. Chem. 21(15): 4570-4).

Fragmentos de proteínas: Los "fragmentos" de proteínas o péptidos en el contexto de la presente descripción pueden comprender, típicamente, una secuencia de una proteína o péptido como se define aquí, que, con respecto a su secuencia de aminoácidos (o a su molécula de ácido nucleico codificada), está truncada en su extremo N y/o C en comparación con la secuencia de aminoácidos de la proteína original (nativa) (o de su molécula de ácido nucleico codificada). Así, este truncamiento puede ocurrir al nivel de aminoácidos o al nivel del ácido nucleico correspondiente. Por tanto, una identidad de secuencia con respecto a dicho fragmento como se define aquí puede referirse preferiblemente a la proteína o al péptido completo como se define aquí o a la molécula de ácido nucleico (codificante) completa de dicha proteína o péptido. En el contexto de los antígenos, dicho fragmento puede tener una longitud de aproximadamente 6 a aproximadamente 20 o incluso más aminoácidos, por ejemplo fragmentos procesados y presentados por moléculas MHC de clase I que preferiblemente tienen una longitud de aproximadamente 8 a aproximadamente 10 aminoácidos, por ejemplo 8, 9 o 10 (o incluso 6, 7, 11 o 12 aminoácidos), o fragmentos procesados y presentados por moléculas MHC de clase II que preferiblemente tienen una longitud de aproximadamente 13 o más aminoácidos, por ejemplo 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o incluso más aminoácidos, donde estos fragmentos pueden seleccionarse de cualquier parte de la secuencia de aminoácidos. Estos fragmentos son típicamente reconocidos por las células T en forma de un complejo consistente en el fragmento peptídico y una molécula MHC, es decir, los fragmentos típicamente no son reconocidos en su forma nativa. Los fragmentos de proteínas o péptidos (por ejemplo en relación a antígenos) pueden comprender al menos un epítopo de esas proteínas o péptidos. Además, también se puede entender que los dominios de una proteína, como el dominio extracelular, el dominio intracelular o el dominio transmembrana, y las versiones acortadas o truncadas de una proteína comprenden un fragmento de una proteína. Preferiblemente, un fragmento de una proteína comprende un fragmento funcional de la proteína, lo que significa que el fragmento ejerce el mismo efecto o funcionalidad que la proteína completa de la que se

deriva.

- Variantes de proteínas: Se pueden generar "variantes" de proteínas o péptidos como se definen en el contexto de la presente descripción, con una secuencia de aminoácidos que difiere de la secuencia original en una o más mutaciones, tales como una o más sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácidos.
- 5 Preferiblemente, estos fragmentos y/o variantes tienen la misma función biológica o actividad específica en comparación con la proteína nativa de longitud completa, por ejemplo su propiedad antigénica específica. Las "variantes" de proteínas o péptidos como se definen en el contexto de la presente descripción pueden comprender sustituciones de aminoácidos conservativas en comparación con su secuencia nativa, esto es, su secuencia fisiológica no mutada. Esas secuencias de aminoácidos, así como sus secuencias de nucleótidos
- 10 codificantes, en particular, están contenidas bajo el término variantes como se define aquí. Aquellas sustituciones donde los aminoácidos, que se originan a partir de la misma clase, se intercambian entre sí se denominan sustituciones conservativas. En particular, se trata de aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas, cadenas laterales cargadas positiva o negativamente, grupos aromáticos en las cadenas laterales o aminoácidos cuyas cadenas laterales pueden formar puentes de hidrógeno, por ejemplo cadenas con una
- 15 función hidroxilo. Esto significa que, por ejemplo, un aminoácido que tiene una cadena lateral polar es reemplazado por otro aminoácido que tiene una cadena lateral también polar, o, por ejemplo, que un aminoácido caracterizado por una cadena lateral hidrófoba es sustituido por otro aminoácido con una cadena lateral también hidrófoba (por ejemplo serina (treonina) por treonina (serina) o leucina (isoleucina) por isoleucina (leucina)). Son posibles inserciones y sustituciones, en particular en aquellas posiciones de la
- 20 secuencia que no provocan una modificación de la estructura tridimensional o no afectan a la región de unión. Las modificaciones de una estructura tridimensional por inserción(es) o eliminación(es) se pueden determinar fácilmente, por ejemplo utilizando espectroscopía CD (espectros de dicroísmo circular) (Urry, 1985, Absorption, Circular Dichroism and ORD of Polypeptides, en: Modern Physical Methods in Biochemistry, Neuberger et al. (ed.), Elsevier, Amsterdam).
- 25 Una "variante" de una proteína o péptido puede tener al menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% de identidad de aminoácidos en un tramo de 10, 20, 30, 50, 75 o 100 aminoácidos de dicha proteína o péptido.

Además, las variantes de proteínas o péptidos como se definen aquí, que pueden estar codificadas por una molécula de ácido nucleico, también pueden comprender aquellas secuencias donde los nucleótidos de la

30 secuencia de ácido nucleico codificante se intercambian de acuerdo con la degeneración del código genético, sin conducir a una alteración de la secuencia de aminoácidos respectiva de la proteína o péptido, es decir, la secuencia de aminoácidos o al menos parte de la misma puede no diferir de la secuencia original dentro del significado anterior.

Preferiblemente, una variante de una proteína comprende una variante funcional de la proteína, lo que significa

35 que la variante tiene el mismo efecto o funcionalidad que la proteína de la que se deriva.

Identidad de una secuencia: Para determinar el porcentaje en el que dos secuencias son idénticas, por ejemplo, secuencias de ácido nucleico o de aminoácidos como se definen aquí, preferiblemente secuencias de aminoácidos codificadas por una secuencia de ácido nucleico del vehículo polimérico como se define aquí o las secuencias de aminoácidos en sí mismas, éstas pueden alinearse para ser comparadas posteriormente

40 entre sí. Por tanto, por ejemplo, una posición de una primera secuencia se puede comparar con la posición correspondiente de la segunda secuencia. Si una posición de la primera secuencia está ocupada por el mismo componente (residuo) que en una posición de la segunda secuencia, ambas secuencias son idénticas en esta posición. Si este no es el caso, las secuencias difieren en esta posición. Si se producen inserciones en la segunda secuencia en comparación con la primera secuencia, se pueden insertar espacios en la primera

45 secuencia para permitir una alineación adicional. Si se producen eliminaciones en la segunda secuencia en comparación con la primera secuencia, se pueden insertar espacios en la segunda secuencia para permitir una alineación adicional. El porcentaje al que dos secuencias son idénticas es entonces función del número de posiciones idénticas dividido entre el número total de posiciones, incluyendo aquellas posiciones que solo están ocupadas en una secuencia. El porcentaje al que dos secuencias son idénticas se puede determinar usando

50 un algoritmo matemático. Un ejemplo preferente, pero no limitativo, de algoritmo matemático que puede emplearse es el algoritmo de Karlin et al. (1993), PNAS USA, 90: 5873-5877 o de Altschul et al. (1997), Nucleic Acids Res., 25: 3389-3402. Tal algoritmo está integrado en el programa BLAST. Este programa puede identificar secuencias que son idénticas a las secuencias de la presente descripción hasta cierto punto.

ARNm monocistrónico: Un ARNm monocistrónico puede ser típicamente un ARNm que comprende solo una

55 secuencia de codificación (marco de lectura abierto). Una secuencia de codificación/marco de lectura abierto

en este contexto es una secuencia de varios tripletes de nucleótidos (codones) que pueden traducirse en un péptido o proteína.

5 Ácido nucleico: El término ácido nucleico significa cualquier molécula de ADN o ARN y se usa como sinónimo de polinucleótido. Cuando se hace referencia aquí a un ácido nucleico o a una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína y/o péptido particular, dicho ácido nucleico o secuencia de ácido nucleico, en cada caso, también comprende preferiblemente secuencias reguladoras que permiten, su expresión, es decir, la transcripción y/o traducción de la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína o péptido particular en un huésped adecuado, por ejemplo un ser humano.

10 Péptido: Un péptido es un polímero de monómeros aminoácidos. En general, los monómeros están unidos mediante enlaces peptídicos. El término "péptido" no limita la longitud de la cadena polimérica de aminoácidos. En algunas realizaciones aquí descritas, un péptido puede contener, por ejemplo, menos de 50 unidades de monómero. Los péptidos más largos también se denominan polipéptidos, que típicamente tienen de 50 a 600 unidades monoméricas, más específicamente de 50 a 300 unidades monoméricas.

15 Cantidad farmacéuticamente efectiva: Una cantidad farmacéuticamente efectiva en el contexto de la presente descripción se entiende típicamente como una cantidad que es suficiente para inducir una respuesta inmune o para desencadenar el efecto terapéutico deseado.

Proteína: Una proteína típicamente consiste en uno o más péptidos y/o polipéptidos plegados en forma tridimensional, lo que facilita una función biológica.

20 Secuencia poli(C): Una secuencia poli(C) es típicamente una secuencia larga de nucleótidos citosina, típicamente de aproximadamente 10 a aproximadamente 200 nucleótidos de citosina, preferiblemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 nucleótidos de citosina, más preferiblemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 70 nucleótidos de citosina o incluso más preferiblemente de aproximadamente 20 a aproximadamente 50, o incluso de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 nucleótidos de citosina. Una secuencia poli(C) puede ubicarse preferiblemente 3' a la región de codificación
25 comprendida en un ácido nucleico.

Cola poli(A): Una cola poli(A), también llamada "cola 3'-poli(A)" o "secuencia poli(A)", es típicamente una larga secuencia homopolimérica de nucleótidos adenosina de hasta aproximadamente 400 nucleótidos de adenosina, por ejemplo de aproximadamente 25 a aproximadamente 400, preferiblemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 400, más preferiblemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 300, incluso más preferiblemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 250, con mayor preferencia de aproximadamente 60 a aproximadamente 250 nucleótidos de adenosina, añadidos en el extremo 3' de un ARNm. En el contexto de la presente descripción, la cola poli(A) de un ARNm se deriva preferiblemente de una plantilla de ADN por transcripción *in vitro* de ARN. Alternativamente, la secuencia poli(A) también puede obtenerse *in vitro* por métodos habituales de síntesis química, sin ser transcrita necesariamente desde un progenitor de ADN. Además, las secuencias poli(A) o colas poli(A) pueden generarse por
30 poliadenilación enzimática del ARN.
35

Ácido nucleico estabilizado: Un ácido nucleico estabilizado típicamente presenta una modificación que aumenta la resistencia a la degradación *in vivo* (por ejemplo, por una exo- o endo-nucleasa) y/o a la degradación *ex vivo* (por ejemplo durante el proceso de fabricación antes de la administración de la vacuna, por ejemplo durante la preparación de la solución de vacuna a administrar). Se puede estabilizar el ARN, por ejemplo, proporcionando una estructura 5'-CAP, una cola poli(A) o cualquier otra modificación UTR. También se puede lograr modificando el esqueleto o el contenido de G/C o el contenido de C del ácido nucleico. Otros métodos son conocidos en la técnica y concebibles en el contexto de la presente descripción.
40

Portador/portador polimérico: Un portador en el contexto de la presente descripción puede ser típicamente un compuesto que facilita el transporte y/o la formación de complejos de otro compuesto. Dicho portador puede formar un complejo con dicho otro compuesto. Un portador polimérico es un portador formado por un polímero.
45

Componente catiónico: El término "componente catiónico" se refiere típicamente a una molécula cargada, la cual está cargada positivamente (catión) a un valor pH típico de aproximadamente 1 a 9, preferiblemente a un pH de 9 o inferior (por ejemplo 5 a 9), igual o inferior a 8 (por ejemplo 5 a 8), igual o inferior a 7 (por ejemplo 5 a 7), con mayor preferencia a valores de pH fisiológicos, por ejemplo aproximadamente 7,3 a 7,4. Por consiguiente, un péptido, proteína o polímero catiónico según la presente descripción está cargado positivamente en condiciones fisiológicas, en particular bajo condiciones salinas fisiológicas de la célula *in vivo*.
50

Un péptido o proteína catiónico preferiblemente contiene un mayor número de aminoácidos catiónicos, por ejemplo, un mayor número de Arg, His, Lys u Orn, que otros residuos aminoácidos (en particular más aminoácidos catiónicos que residuos aminoácidos aniónicos como Asp o Glu) o contiene bloques formados principalmente por residuos aminoácidos catiónicos. La definición "catiónico" también puede referirse a componentes "poli-catiónicos".

Vehículo: Un vehículo es un agente, por ejemplo un portador, que puede usarse típicamente dentro de una composición farmacéutica o vacuna para facilitar la administración de los componentes de la composición farmacéutica o vacuna a un individuo.

Región no traducida 3' (3'-UTR): Una 3'-UTR es típicamente la parte de un ARNm que se encuentra entre la región de codificación de proteínas (es decir, el marco de lectura abierto) y la secuencia poli(A) del ARNm. La 3'-UTR de un ARNm no se traduce en una secuencia de aminoácidos. La secuencia 3'-UTR generalmente está codificada por el gen que es transcrito en el ARNm respectivo durante el proceso de expresión génica. La secuencia genómica se transcribe primero en un ARNm premaduro que comprende intrones opcionales. El ARNm premaduro se procesa luego en ARNm maduro en un proceso de maduración. Este proceso de maduración comprende los pasos de dotar de una 5'-cap, empalmar el ARNm prematuro para eliminar intrones opcionales y modificaciones del extremo 3', como poliadenilación del extremo 3' del ARNm premaduro, y escisiones endo- o exo-nucleasa opcionales, etc. En el contexto de la presente descripción, una 3'-UTR corresponde a la secuencia de un ARNm maduro dispuesta 3' al codón de parada de la región de codificación de proteínas, preferiblemente inmediatamente 3' al codón de parada de la región de codificación de proteínas, y que se extiende al lado 5' de la secuencia poli(A), preferiblemente al nucleótido inmediatamente 5' a la secuencia poli(A). El término "corresponde a" significa que la secuencia 3'-UTR puede ser una secuencia de ARN, como en la secuencia de ARNm utilizada para definir la secuencia 3'-UTR, o una secuencia de ADN que corresponde a dicha secuencia de ARN. En el contexto de la presente descripción, el término "una 3'-UTR de un gen", como "una 3'-UTR de un gen de albúmina", es la secuencia que corresponde a la 3'-UTR del ARNm maduro derivado de este gen, es decir, el ARNm obtenido por transcripción del gen y maduración del ARNm premaduro. El término "3'-UTR de un gen" abarca la secuencia de ADN y la secuencia de ARN de la 3'-UTR.

Región no traducida 5' (5'-UTR): Una 5'-UTR se entiende típicamente como una sección particular de ARN mensajero (ARNm). Se sitúa 5' del marco de lectura abierto del ARNm. Típicamente, la 5'-UTR comienza con el sitio de inicio de la transcripción y termina un nucleótido antes del codón de inicio del marco de lectura abierto. La 5'-UTR puede comprender elementos para controlar la expresión génica, también denominados elementos reguladores. Dichos elementos reguladores pueden ser, por ejemplo, sitios de unión a ribosomas o un tracto de oligopirimidina 5'-terminal. La 5'-UTR puede modificarse postranscripcionalmente, por ejemplo por adición de una 5'-CAP. En el contexto de la presente descripción, una 5'-UTR corresponde a la secuencia de un ARNm maduro entre la 5'-CAP y el codón de inicio. Preferiblemente, la 5'-UTR corresponde a la secuencia que se extiende desde un nucleótido situado 3' a la 5'-CAP, preferiblemente desde el nucleótido ubicado inmediatamente 3' a la 5'-CAP, hasta un nucleótido situado 5' del codón de inicio de la región de codificación de proteínas, preferiblemente al nucleótido ubicado inmediatamente 5' al codón de inicio de la región de codificación de proteínas. El nucleótido localizado inmediatamente 3' a la 5'-CAP de un ARNm maduro típicamente corresponde al sitio de inicio de la transcripción. El término "corresponde a" significa que la secuencia 5'-UTR puede ser una secuencia de ARN, como en la secuencia de ARNm utilizada para definir la secuencia 5'-UTR, o una secuencia de ADN que corresponde a dicha secuencia de ARN. En el contexto de la presente descripción, el término "una 5'-UTR de un gen", como "una 5'-UTR de un gen TOP", es la secuencia que corresponde a la 5'-UTR del ARNm maduro derivado de ese gen, es decir, el ARNm obtenido por transcripción del gen y maduración del ARNm premaduro. El término "5'-UTR de un gen" abarca la secuencia de ADN y la secuencia de ARN de la 5'-UTR.

Tracto de oligopirimidina terminal 5' (TOP): El tracto de oligopirimidina terminal 5' (TOP) es típicamente un tramo de nucleótidos pirimidina en la región terminal 5' de una molécula de ácido nucleico, tal como la región terminal 5' de ciertas moléculas de ARNm o la región terminal 5' de una entidad funcional, por ejemplo la región transcrita, de ciertos genes. La secuencia comienza con una citidina, que normalmente corresponde al sitio de inicio de la transcripción, y es seguida por un tramo de aproximadamente 3 a 30 nucleótidos pirimidina. Por ejemplo, la TOP puede comprender 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 o incluso más nucleótidos. El tramo de pirimidina y, por tanto la TOP 5', termina en un nucleótido 5' al primer nucleótido purina ubicado aguas debajo de la TOP. El ARNm que contiene un tracto de oligopirimidina terminal 5' a menudo se denomina ARNm TOP. En consecuencia, los genes que proporcionan tales ARN mensajeros se denominan genes TOP. Se han encontrado secuencias TOP, por ejemplo, en genes y ARNm que codifican factores de elongación de péptidos y proteínas ribosómicas.

Motivo TOP: En el contexto de la presente descripción, un motivo TOP es una secuencia de ácido nucleico que corresponde a una 5' TOP como se definió anteriormente. Así, un motivo TOP en el contexto de la presente

descripción es preferiblemente un tramo de nucleótidos pirimidina de una longitud de 3-30 nucleótidos. Preferiblemente, el motivo TOP consiste en al menos 3 nucleótidos pirimidina, preferiblemente al menos 4 nucleótidos pirimidina, preferiblemente al menos 5 nucleótidos pirimidina, más preferiblemente al menos 6 nucleótidos, más preferiblemente al menos 7 nucleótidos, con mayor preferencia al menos 8 nucleótidos pirimidina, donde el tramo de nucleótidos de pirimidina comienza preferiblemente en su extremo 5' con un nucleótido citosina. En los genes TOP y los ARNm TOP, el motivo TOP comienza preferiblemente en su extremo 5' con el sitio de inicio de la transcripción y termina en un nucleótido 5' al primer residuo de purina en dicho gen o ARNm. Un motivo TOP en el sentido de la presente descripción preferiblemente se dispone en el extremo 5' de una secuencia que representa una 5'-UTR o en el extremo 5' de una secuencia que codifica una 5'-UTR. Por tanto, preferiblemente, un tramo de 3 o más nucleótidos de pirimidina se denomina "motivo TOP" en el sentido de la presente descripción si este tramo está situado en el extremo 5' de una secuencia respectiva, tal como el ARNm aquí descrito, el elemento 5'-UTR del ARNm aquí descrito o la secuencia de ácido nucleico que se deriva de la 5'-UTR de un gen TOP como se describe aquí. En otras palabras, un tramo de 3 o más nucleótidos pirimidina que no se encuentra en el extremo 5' de un elemento 5'-UTR o de una 5'-UTR, sino en cualquier lugar dentro de un elemento 5'-UTR o de una 5'-UTR, preferiblemente no se denomina "motivo TOP".

Gen TOP: Los genes TOP se caracterizan típicamente por la presencia de un tracto de oligopirimidina 5' terminal. Además, la mayoría de los genes TOP se caracterizan por una regulación de traducción asociada al crecimiento. Sin embargo, también se conocen genes TOP con una regulación de traducción específica de tejido. Como se definió anteriormente, la 5'-UTR de un gen TOP corresponde a la secuencia de una 5'-UTR de un ARNm maduro derivado de un gen TOP, que preferiblemente se extiende desde el nucleótido 3' al 5'-CAP hasta el nucleótido 5' del codón de inicio. Una 5'-UTR de un gen TOP típicamente no comprende ningún codón de inicio, preferiblemente sin AUG (uAUG) aguas arriba o marcos de lectura abiertos (uORF) aguas arriba. Allí, los AUG aguas arriba y los marcos de lectura abiertos aguas arriba se entienden típicamente como AUG y marcos de lectura abiertos que ocurren 5' del codón de inicio (AUG) del marco de lectura abierto a traducirse. Las 5'-UTR de los genes TOP generalmente son bastante cortas. Las longitudes de las 5'-UTR de los genes TOP pueden variar entre 20 nucleótidos y hasta 500 nucleótidos y típicamente son inferiores a aproximadamente 200 nucleótidos, preferiblemente inferiores a aproximadamente 150 nucleótidos, con mayor preferencia inferiores a aproximadamente 100 nucleótidos. Ejemplos de 5'-UTR de genes TOP en el sentido de la presente descripción son aquellas secuencias de ácido nucleico que se extienden desde el nucleótido en la posición 5 hasta el nucleótido ubicado inmediatamente 5' al codón de inicio (por ejemplo ATG) en las secuencias de acuerdo con las SEQ ID NO. 1-1363, SEQ ID NO. 1395, SEQ ID NO. 1421 y SEQ ID NO. 1422 de la solicitud de patente internacional WO2013/143700 u homólogos o variantes de la misma. En este contexto, un fragmento particularmente preferente de una 5'-UTR de un gen TOP es una 5'-UTR de un gen TOP que carece del motivo 5' TOP. El término "5'-UTR de un gen TOP" se refiere preferiblemente a la 5'-UTR de un gen TOP natural.

Síntesis química de ARN: La síntesis química de fragmentos relativamente cortos de oligonucleótidos de estructura química definida proporciona un acceso rápido y económico a oligonucleótidos personalizados de cualquier secuencia deseada. Mientras que las enzimas sintetizan ADN y ARN solo en la dirección 5' a 3', la síntesis química de oligonucleótidos no tiene esta limitación, aunque a menudo se lleva a cabo en sentido opuesto, es decir, en la dirección 3' a 5'. Actualmente, el proceso se implementa como síntesis en fase sólida utilizando el método de fosforamidita y bloques de construcción de fosforamidita derivados de nucleósidos protegidos (A, C, G y U), o nucleósidos modificados químicamente.

Para obtener el oligonucleótido deseado, los bloques de construcción se acoplan secuencialmente a la cadena de oligonucleótidos en crecimiento en fase sólida en el orden requerido por la secuencia del producto en un proceso completamente automatizado. Al finalizar el ensamblaje de la cadena, el producto se libera de la fase sólida a la solución, se desprotege y se recoge. La aparición de reacciones secundarias establece límites prácticos para la longitud de los oligonucleótidos sintéticos (hasta aproximadamente 200 residuos nucleótidos), ya que el número de errores aumenta con la longitud del oligonucleótido sintetizado. Los productos a menudo se aíslan por HPLC para obtener los oligonucleótidos deseados con una alta pureza.

Los oligonucleótidos sintetizados químicamente encuentran diversas aplicaciones en biología molecular y medicina. Se usan más comúnmente como oligonucleótidos antisentido, ARN interferente pequeño, cebadores para la secuenciación y amplificación de ADN, sondas para detectar ADN o ARN complementario mediante hibridación molecular, herramientas para la introducción dirigida de mutaciones y sitios de restricción y para la síntesis de genes artificiales.

Transcripción de ARN *in vitro*: Los términos "transcripción de ARN *in vitro*" o "transcripción *in vitro*" se refieren a un proceso en el que el ARN se sintetiza en un sistema libre de células (*in vitro*). Se emplea ADN, en particular un plásmido de ADN, como plantilla para generar transcritos de ARN. El ARN puede obtenerse por transcripción *in vitro* dependiente del ADN de una plantilla de ADN apropiada, que según la presente descripción preferiblemente es una plantilla de ADN plasmídico linealizado. El promotor para controlar la

transcripción *in vitro* puede ser cualquier promotor para cualquier ARN-polimerasa dependiente de ADN. Ejemplos particulares de ARN-polimerasas dependientes de ADN son las ARN-polimerasas T7, T3 y SP6. Se puede obtener una plantilla de ADN para la transcripción de ARN *in vitro* clonando un ácido nucleico, en particular ADNc correspondiente al ARN respectivo a transcribir *in vitro*, e introduciéndolo en un vector apropiado para la transcripción *in vitro*, por ejemplo, en un plásmido de ADN. En una realización preferida aquí descrita, el molde de ADN se linealiza con una enzima de restricción adecuada antes de transcribirse *in vitro*. El ADNc puede obtenerse por transcripción inversa de ARNm o por síntesis química. Además, la plantilla de ADN para la síntesis de ARN *in vitro* también se puede obtener mediante síntesis génica.

Los métodos para la transcripción *in vitro* son conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Geall et al. (2013) Semin. Immunol. 25(2): 152-159; Brunelle et al. (2013) Methods Enzymol. 530:101-14). Los reactivos utilizados en dicho método típicamente incluyen:

- 1) una plantilla de ADN linealizada con una secuencia promotora que tiene una alta afinidad de unión por su respectiva ARN-polimerasa, tal como ARN-polimerasas codificadas de bacteriófagos;
- 2) ribonucleósidos trifosfato (NTP) para las cuatro bases (adenina, citosina, guanina y uracilo);
- 3) opcionalmente un análogo de cap como se definió anteriormente (por ejemplo, m7G(5')ppp(5')G (m7G));
- 4) una ARN-polimerasa dependiente de ADN capaz de unirse a la secuencia promotora dentro de la plantilla de ADN linealizado (por ejemplo T7, T3 o SP6 ARN-polimerasa);
- 5) opcionalmente un inhibidor de ribonucleasa (ARNasa) para inactivar cualquier ARNasa contaminante;
- 6) opcionalmente una pirofosfatasa para degradar el pirofosfato, que puede inhibir la transcripción;
- 7) MgCl₂, que suministra iones Mg²⁺ como cofactor para la polimerasa;
- 8) un tampón para mantener un pH adecuado, que también puede contener antioxidantes (por ejemplo DTT), y/o poliaminas, como espermidina, a concentraciones óptimas.

ARN, ARNm: El ARN es la abreviatura habitual del ácido ribonucleico. Es una molécula de ácido nucleico, es decir, un polímero consistente en monómeros de nucleótidos. Estos nucleótidos suelen ser monómeros adenosin-monofosfato (AMP), uridin-monofosfato (UMP), guanosin-monofosfato (GMP) y citidin-monofosfato (CMP) o análogos de los mismos, que están conectados entre sí a lo largo del denominado esqueleto. El esqueleto está formado por enlaces fosfodiéster entre el azúcar, es decir la ribosa, de un primer residuo y un residuo fosfato de un segundo monómero adyacente. El orden específico de los monómeros, es decir, el orden de las bases unidas al esqueleto azúcar/fosfato, se denomina secuencia de ARN. Normalmente el ARN puede obtenerse por transcripción de una secuencia de ADN, por ejemplo dentro de una célula. En las células eucariotas, la transcripción se realiza típicamente dentro del núcleo o las mitocondrias. *In vivo*, la transcripción de ADN generalmente da como resultado el llamado ARN prematuro (también llamado pre-ARNm, ARNm precursor o ARN nuclear heterogéneo), que debe procesarse en el llamado ARN mensajero, generalmente abreviado como ARNm. El procesamiento del ARN prematuro, por ejemplo en organismos eucariotas, comprende diversas modificaciones postranscripcionales diferentes, tales como empalme, 5'-cap, poliadenilación, exportación desde el núcleo o las mitocondrias y similares. La suma de estos procesos también se llama maduración del ARN. El ARN mensajero maduro generalmente proporciona la secuencia de nucleótidos que puede traducirse en una secuencia de aminoácidos de un péptido o proteína particular. Típicamente, un ARNm maduro comprende una 5'-cap, opcionalmente una 5'-UTR, un marco de lectura abierto, opcionalmente una 3'-UTR y una cola poli(A).

Además del ARN mensajero, existen varios tipos de ARN no codificantes que pueden estar involucrados en la regulación de la transcripción y/o la traducción y en la inmunoestimulación. Dentro de la presente descripción, el término "ARN" abarca además cualquier tipo de molécula de ARN monocatenario (ARNs) o bicatenario (ARNds) conocido en la técnica, tal como ARN viral, ARN retroviral y ARN replicón, ARN interferente pequeño (ARNsi), ARN antisentido (ARNas), ARN circular (ARNcirc), ribozimas, aptámeros, riboswitches, ARN inmunoestimulador/inmunoestimulante, ARN transferente (ARNt), ARN ribosómico (ARNr), ARN nuclear pequeño (ARNsn), ARN nucleolar pequeño (ARNsno), microARN (ARNmi) y ARN que interactúa con Piwi (ARNpi).

Fragmento de una secuencia de ácido nucleico, particularmente un ARN: Un fragmento de una secuencia de ácido nucleico consiste en un tramo continuo de nucleótidos correspondiente a un tramo continuo de nucleótidos en la secuencia de ácido nucleico de longitud completa, que es la base de la secuencia de ácido nucleico del fragmento, que tiene una longitud de al menos un 20%, preferiblemente al menos 30%, más preferiblemente al menos 40%, más preferiblemente al menos 50%, incluso más preferiblemente al menos 60%, incluso más preferiblemente al menos 70%, incluso más preferiblemente al menos 80% y con total preferencia al menos un 90% de la longitud de la secuencia de ácido nucleico completa. Tal fragmento, en el sentido de la presente descripción, preferiblemente es un fragmento funcional de la secuencia de ácido nucleico de longitud completa.

Variante de una secuencia de ácido nucleico, particularmente un ARN: Una variante de una secuencia de ácido nucleico se refiere a una variante de una secuencia de ácido nucleico que forma la base de una secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico variante puede exhibir una o más deleciones, inserciones, adiciones y/o sustituciones de nucleótidos en comparación con la secuencia de ácido nucleico de la que se deriva la variante. Preferiblemente, una variante de una secuencia de ácido nucleico es al menos un 40%, preferiblemente al menos 50%, más preferiblemente al menos 60%, más preferiblemente al menos 70%, incluso más preferiblemente al menos 80%, incluso más preferiblemente al menos 90% , con total preferencia al menos un 95% idéntica a la secuencia de ácido nucleico de la que se deriva la variante. Preferiblemente, la variante es una variante funcional. Una "variante" de una secuencia de ácido nucleico puede tener al menos un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% de identidad de nucleótidos en un tramo de 10, 20, 30, 50, 75 o 100 nucleótidos de dicha secuencia de ácido nucleico.

Administración/aplicación intratumoral: El término "administración/aplicación intratumoral" se refiere a la administración directa de una composición farmacéutica dentro o adyacente a un tumor o cáncer y/o en la vecindad inmediata de un tumor o cáncer. También se incluyen inyecciones múltiples en regiones separadas del tumor o cáncer. Además, la administración/aplicación intratumoral incluye el suministro de una composición farmacéutica en una o más metástasis.

Los métodos para la administración intratumoral de fármacos son conocidos en la técnica (Brincker, 1993. Crit. Rdo. Oncol Hematol 15(2): 91-8; Celikoglu et al., 2008. Cancer Therapy 6, 545-552). Por ejemplo, la composición farmacéutica puede administrarse mediante inyección de aguja convencional, inyección de chorro sin aguja o electroporación o combinaciones de las mismas, en el tejido tumoral o canceroso. La composición farmacéutica se puede inyectar directamente en el tumor o cáncer (tejido) con gran precisión utilizando tomografía computarizada, ultrasonidos, imágenes de cámara gamma, tomografía por emisión de positrones o imágenes por resonancia magnética. Otros procedimientos se seleccionan del grupo que incluye, pero no se limita a, inyección intratumoral directa por endoscopia, broncoscopia, cistoscopia, colonoscopia, laparoscopia y cateterismo.

Receptores señuelo: Los receptores señuelo reconocen ciertos factores de crecimiento o citoquinas con alta afinidad y especificidad, pero son estructuralmente incapaces de señalar o presentar el agonista a los complejos receptores de señalización. Actúan como una trampa molecular para el agonista y para señalar los componentes del receptor. Un receptor señuelo, o receptor engañoso, es un receptor que se une a un ligando, inhibiendo su unión a su receptor normal. Por ejemplo, el receptor VEGFR-1 puede evitar que el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) se una al VEGFR-2.

Receptores negativos dominantes: Los receptores negativos dominantes son variantes del receptor particular que comprenden mutaciones dominantes negativas (DN) que conducen a polipéptidos mutantes que interrumpen la actividad del receptor de tipo salvaje cuando se sobreexpresan.

35 *Descripción detallada*

La presente invención es definida por las reivindicaciones adjuntas y se refiere a una composición que contiene ARN para su uso en el tratamiento o la profilaxis de enfermedades tumorales y/o cancerosas, donde la composición que contiene el ARN comprende al menos un ARN codificante, el cual comprende al menos una región codificante que codifica para al menos una citoquina, o un fragmento o variante de la misma donde la citoquina es interleuquina-12 (IL-12) donde el fragmento o la variante tiene la misma función biológica o actividad específica en comparación con la proteína nativa de longitud completa, donde el al menos un ARN codificante es un ARNm, donde la composición que contiene ARN se aplica intratumoralmente y donde el paciente ha recibido o recibe un modulador de punto de control seleccionado de un inhibidor de CTLA4 y un inhibidor de la ruta PD-1.

Además, se describe aquí una composición que contiene un ARN, la cual comprende al menos un ARN, y se proporciona particularmente para su uso en el tratamiento o la profilaxis de enfermedades tumorales y/o cancerosas, donde la composición que contiene ARN se aplica/administra preferiblemente vía intratumoral. Es especialmente preferente que la composición que contiene ARN se inyecte directamente en el tejido tumoral. Alternativamente, es especialmente preferente que la composición que contiene ARN se inyecte adyacente a o cerca de un tejido tumoral y/o metástasis.

Los inventores han descubierto que la aplicación intratumoral o la administración de la composición que contiene ARN aquí descrita es capaz de tratar eficazmente enfermedades tumorales y/o cancerosas y sus trastornos relacionados. Se ha demostrado que la aplicación intratumoral es sorprendentemente efectiva para disminuir el tamaño del tumor. Además, la aplicación de la composición que contiene ARN aquí descrita era

capaz de aumentar la supervivencia en modelos animales.

- 5 El al menos un ARN de la composición que contiene ARN puede seleccionarse del grupo consistente en ARN modificado químicamente o no modificado, ARN monocatenario o bicatenario, ARN codificante o no codificante, ARNm, oligoribonucleótidos, ARN viral, ARN retroviral, ARN replicón, ARNt, ARNr, ARN inmunoestimulador, microARN, ARNsi, ARN nuclear pequeño (ARNsn), riboswitch de ARN de horquilla pequeña (sh), aptámero de ARN, ARN señuelo, ARN antisentido, una ribozima o cualquier combinación de los mismos.

En realizaciones específicas, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN se selecciona de un ARN codificante o no codificante.

ARN codificante:

- 10 Según una realización preferente de la presente descripción, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN comprende al menos una región codificante que codifica al menos un péptido o proteína. Preferiblemente, el ARN codificante se selecciona del grupo consistente en ARNm, ARN viral, ARN retroviral y ARN replicón.

- 15 En realizaciones preferidas aquí descritas, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN codifica para al menos una citoquina y/o para al menos una quimioquina y/o para al menos un producto de gen suicida, y/o para al menos una proteína o péptido inmunogénico y/o para al menos un inductor de muerte celular/apoptosis y/o para al menos un inhibidor de la angiogénesis y/o para al menos una proteína de choque térmico y/o para al menos un antígeno tumoral y/o para al menos un inhibidor de β -catenina y/o para al menos un activador de la vía STING (estimulador de genes de interferón) y/o para al menos un modulador de punto de control y/o para al menos un anticuerpo y/o para al menos un receptor negativo dominante y/o para al menos un receptor señuelo y/o para al menos un inhibidor de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) y/o para al menos un inhibidor de la vía IDO y/o para al menos una proteína o péptido que se une a inhibidores de apoptosis, o fragmentos o variantes de los mismos, como se detallará más adelante.

1. Citoquinas

- 25 En una realización preferente de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN comprende al menos una región codificante que codifica para al menos una citoquina, o un fragmento o variante del mismo.

- 30 Preferiblemente la citoquina es una interleuquina (IL). Se pueden seleccionar una o más interleuquinas, por ejemplo, de la siguiente lista: IL-1 α , IL-1 β , IL-1 γ (antagonista), IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10; IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28A/B, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-35. Además, la citoquina puede ser una o más citoquinas seleccionadas de la familia TNF, por ejemplo seleccionadas de la siguiente lista: TNF, especialmente TNF α , LT α , LT β , LIGHT, TWEAK, APRIL, BAFF, TL1A, GITRL, OX40L, CD40L (CD154), FasL, CD27L, CD30L, 4-1BBL, TRAIL, ligando RANK. Otros ejemplos de citoquina preferentes pueden seleccionarse de la siguiente lista: ligando FLT3, G-CSF, GM-CSF, IFN $\alpha/\beta/\omega$, IFN γ , LIF, M-CSF, MIF, OSM, factor de células madre (Stem Cell Factor), TGF β 1, TGF β 2, TGF β 3, ligando TSLP.

Se prefieren particularmente citoquinas seleccionadas de la siguiente lista: IL-12, IL-15, IL-2, IFN γ , TNF α , IL-18, IFN α , IL-1 β , IL-32, IL-7, IL-21, IL-8, GM-CSF.

- 40 En una realización especialmente preferente, el ARN de la composición aquí descrita codifica para la interleuquina-12 o CD40L. Los inventores han demostrado que la codificación de ARNm para estas citoquinas es especialmente efectiva cuando se aplica siguiendo el enfoque aquí descrito. Son particularmente preferentes secuencias de ARN de acuerdo con las SEC ID NO 1, 3, 4194, 4195, 4196, 4197, 4198, 4199, 4200, que codifican IL-12. Además, son particularmente preferentes las secuencias de ARN de acuerdo con las SEC ID NO 3898, 3899, 3900, 3901, 3902, 3903, 3904, 10073, que codifican CD40L.

- 45 Según realizaciones preferentes aquí descritas, las citoquinas pueden seleccionarse de cualquier citoquina seleccionada del grupo consistente en 4-1BBL; Apo2L/TRAIL; APRIL; BAFF; CD27L; CD30L; CD40L (CD154); CXCL8; EL-17C; FasL; FLT3_ligando; G-CSF; GITRL; GM-CSF; IFN α ; IFN β ; IFN γ ; IFN ω ; IL-1 α ; IL-1 β ; IL-10; IL-11; IL-12; IL-12A; IL-13; IL-14; IL-15; IL-16; IL-17A; IL-17B; IL-17D; IL-17E; IL-17F; IL-18; IL-19; IL-1 γ (antagonista); IL-2; IL-20; IL-21; IL-22; IL-23; IL-24; IL-25; IL-26; IL-27A; IL-27B; IL-28A; IL-28B; IL-29; IL-3; IL-31; IL-32; IL-33; IL-37; IL-4; IL-5; IL-6; IL-7; IL-9; LIF; LIGHT; LT α ; LT β ; M-CSF; MIF; OSM; OX40L; RANK_ligand; Stem_Cell_Factor; TGF β 1; TGF β 2; TGF β 3; TL1A; TNF; TWEAK, preferiblemente como se muestran en la Tabla 1. Son particularmente preferentes en este contexto las secuencias de ARN que codifican una citoquina de acuerdo con la Tabla 1.

ES 2 753 259 T3

Tabla 1: Citoquinas

Nombre gen	Proteína nº acceso	Secuencia proteína SEQ ID NO:	Secuencia ARN tipo salvaje SEQ ID NO:	Secuencia ARN optimizad SEQ ID NO:
4-1BBL	UniProtKB: P41273	3849	3850	3851,3852,3853, 3854, 3855, 3856
APRIL	UniProtKB: O75888	3857	3858	3859, 3860, 3861, 3862, 3863, 3864
BAFF	UniProtKB: Q5H8V1	3865	3866	3867, 3868, 3869, 3870, 3871, 3872
BAFF	UniProtKB: Q9Y275	3873	3874	3875, 3876, 3877, 3878, 3879, 3880
CD27L	UniProtKB: P32970	3881	3882	3883, 3884, 3885, 3886, 3887, 3888
CD30L	UniProtKB: P32971	3889	3890	3891, 3892, 3893, 3894, 3895, 3896
CD40L_(CD154)	UniProtKB: P29965	3897	3898	3899, 3900, 3901, 3902, 3903, 3904
EL-17C	UniProtKB: Q9P0M4	3905	3906	3907, 3908, 3909, 3910, 3911, 3912
FLT3_ligando	Genbank: AAA90950.1	3913	3914	3915, 3916, 3917, 3918, 3919, 3920
FLT3_ligando	UniProtKB: P49771	3921	3922	3923, 3924, 3925, 3926, 3927, 3928
G-CSF	UniProtKB: P09919	3929	3930	3931, 3932, 3933, 3934, 3935, 3936
GITRL	UniProtKB: Q9UNG2	3937	3938	3939, 3940, 3941, 3942, 3943, 3944
GM-CSF	UniProtKB: P04141	3945	3946	3947, 3948, 3949, 3950, 3951, 3952
IFNalfa	UniProtKB: G9JKF1	3953	3954	3955, 3956, 3957, 3958, 3959, 3960
IFNalfa	UniProtKB: P01562	3961	3962	3963, 3964, 3965, 3966, 3967, 3968
IFNalfa	UniProtKB: P01563	3969	3970	3971, 3972, 3973, 3974, 3975, 3976
IFNalfa	UniProtKB: P01566	3977	3978	3979, 3980, 3981, 3982, 3983, 3984
IFNalfa	UniProtKB: P01567	3985	3986	3987, 3988, 3989, 3990, 3991, 3992
IFNalfa	UniProtKB: P01568	3993	3994	3995, 3996, 3997, 3998, 3999, 4000
IFNalfa	UniProtKB: P01569	4001	4002	4003, 4004, 4005, 4006, 4007, 4008
IFNalfa	UniProtKB: P01570	4009	4010	4011, 4012, 4013, 4014, 4015, 4016
IFNalfa	UniProtKB: P01571	4017	4018	4019, 4020, 4021, 4022, 4023, 4024
IFNalfa	UniProtKB: P05013	4025	4026	4027, 4028, 4029, 4030, 4031, 4032
IFNalfa	UniProtKB: P05014	4033	4034	4035, 4036, 4037, 4038, 4039, 4040
IFNalfa	UniProtKB: P05015	4041	4042	4043, 4044, 4045, 4046, 4047, 4048
IFNalfa	UniProtKB: P32881	4049	4050	4051, 4052, 4053, 4054, 4055, 4056
IFNalfa	UniProtKB: Q14618	4057	4058	4059, 4060, 4061, 4062, 4063, 4064
IFNalfa	UniProtKB: Q86UP4	4065	4066	4067, 4068, 4069, 4070, 4071, 4072
IFNB	UniProtKB: P01574	4073	4074	4075, 4076, 4077, 4078, 4079, 4080
IFNB	UniProtKB: Q15943	4081	4082	4083, 4084, 4085, 4086, 4087, 4088

ES 2 753 259 T3

IFNG	UniProtKB: P01579	4089	4090	4091, 4092, 4093, 4094, 4095, 4096
IFNG	UniProtKB: Q14609	4097	4098	4099, 4100, 4101, 4102, 4103, 4104
IFNG	UniProtKB: Q14610	4105	4106	4107, 4108, 4109, 4110, 4111, 4112
IFNG	UniProtKB: Q14611	4113	4114	4115, 4116, 4117, 4118, 4119, 4120
IFNG	UniProtKB: Q14612	4121	4122	4123, 4124, 4125, 4126, 4127, 4128
IFNG	UniProtKB: Q14613	4129	4130	4131, 4132, 4133, 4134, 4135, 4136
IFNG	UniProtKB: Q14614	4137	4138	4139, 4140, 4141, 4142, 4143, 4144
IFNG	UniProtKB: Q14615	4145	4146	4147, 4148, 4149, 4150, 4151, 4152
IFNG	UniProtKB: Q8NHY9	4153	4154	4155, 4156, 4157, 4158, 4159, 4160
IFNomega	UniProtKB: P05000	4161	4162	4163, 4164, 4165, 4166, 4167, 4168
IL-10	UniProtKB: P22301	4169	4170	4171, 4172, 4173, 4174, 4175, 4176
IL-11	UniProtKB: P20809	4177	4178	4179, 4180, 4181, 4182, 4183, 4184
IL-12A	UniProtKB: P29459	4185	4186	4187, 4188, 4189, 4190, 4191, 4192
IL-12	UniProtKB: P29460	4193	4194	4195, 4196, 4197, 4198, 4199, 4200
IL-13	UniProtKB: P35225	4201	4202	4203, 4204, 4205, 4206, 4207, 4208
IL-14	UniProtKB: P40222	4209	4210	4211, 4212, 4213, 4214, 4215, 4216
IL-15	UniProtKB: P40933	4217	4218	4219, 4220, 4221, 4222, 4223, 4224
IL-16	UniProtKB: Q14005	4225	4226	4227, 4228, 4229, 4230, 4231, 4232
IL-17A	UniProtKB: Q16552	4233	4234	4235, 4236, 4237, 4238, 4239, 4240
IL-17B	UniProtKB: Q9NRM6	4241	4242	4243, 4244, 4245, 4246, 4247, 4248
IL-17B	UniProtKB: Q9UHF5	4249	4250	4251, 4252, 4253, 4254, 4255, 4256
IL-17D	UniProtKB: Q8TAD2	4257	4258	4259, 4260, 4261, 4262, 4263, 4264
IL-17F	UniProtKB: F1JZ09	4265	4266	4267, 4268, 4269, 4270, 4271, 4272
IL-17F	UniProtKB: Q96PD4	4273	4274	4275, 4276, 4277, 4278, 4279, 4280
IL-18	UniProtKB: A0A024R3E0	4281	4282	4283, 4284, 4285, 4286, 4287, 4288
IL-18	UniProtKB: B0YJ28	4289	4290	4291, 4292, 4293, 4294, 4295, 4296
IL-18	UniProtKB: Q14116	4297	4298	4299, 4300, 4301, 4302, 4303, 4304
IL-19	UniProtKB: Q9UHD0	4305	4306	4307, 4308, 4309, 4310, 4311, 4312
IL-1_alpha	UniProtKB: P01583	4313	4314	4315, 4316, 4317, 4318, 4319, 4320
IL-1_beta	UniProtKB: P01584	4321	4322	4323, 4324, 4325, 4326, 4327, 4328
IL-1ra (antagonista)	UniProtKB: P18510-2	4329	4330	4331, 4332, 4333, 4334, 4335, 4336
IL-1ra (antagonista)	UniProtKB: P18510-3	4337	4338	4339, 4340, 4341, 4342, 4343, 4344

ES 2 753 259 T3

IL-1ra (antagonista)	UniProtKB: P18510	4345	4346	4347, 4348, 4349, 4350, 4351, 4352
IL-20	UniProtKB: Q9NYY1	4353	4354	4355, 4356, 4357, 4358, 4359, 4360
IL-21	RefSeq: NP_001193935.1	4361	4362	4363, 4364, 4365, 4366, 4367, 4368
IL-21	RefSeq: NP_068575.1	4369	4370	4371, 4372, 4373, 4374, 4375, 4376
IL-22	UniProtKB: Q9GZX6	4377	4378	4379, 4380, 4381, 4382, 4383, 4384
IL-23	UniProtKB: Q9NPF7	4385	4386	4387, 4388, 4389, 4390, 4391, 4392
IL-24	UniProtKB: Q13007	4393	4394	4395, 4396, 4397, 4398, 4399, 4400
IL-24	UniProtKB: Q2YHE6	4401	4402	4403, 4404, 4405, 4406, 4407, 4408
IL-25	UniProtKB: Q969H8	4409	4410	4411, 4412, 4413, 4414, 4415, 4416
IL-25	UniProtKB: Q9H293	4417	4418	4419, 4420, 4421, 4422, 4423, 4424
IL-26	UniProtKB: Q9NPH9	4425	4426	4427, 4428, 4429, 4430, 4431, 4432
IL-27A	UniProtKB: Q8NEV9	4433	4434	4435, 4436, 4437, 4438, 4439, 4440
IL-27B	UniProtKB: Q14213	4441	4442	4443, 4444, 4445, 4446, 4447, 4448
IL-28A	UniProtKB: Q8IZJ0	4449	4450	4451, 4452, 4453, 4454, 4455, 4456
IL-28B	UniProtKB: Q8IZI9	4457	4458	4459, 4460, 4461, 4462, 4463, 4464
IL-29	UniProtKB: Q8IU54	4465	4466	4467, 4468, 4469, 4470, 4471, 4472
IL-2	UniProtKB: P60568	4473	4474	4475, 4476, 4477, 4478, 4479, 4480
IL-2	UniProtKB: Q0GK43	4481	4482	4483, 4484, 4485, 4486, 4487, 4488
IL-2	UniProtKB: Q13169	4489	4490	4491, 4492, 4493, 4494, 4495, 4496
IL-2	UniProtKB: Q6NZ91	4497	4498	4499, 4500, 4501, 4502, 4503, 4504
IL-2	UniProtKB: Q6NZ93	4505	4506	4507, 4508, 4509, 4510, 4511, 4512
IL-31	UniProtKB: Q6EBC2	4513	4514	4515, 4516, 4517, 4518, 4519, 4520
IL-32	UniProtKB: P24001	4521	4522	4523, 4524, 4525, 4526, 4527, 4528
IL-33	UniProtKB: Q95760	4529	4530	4531, 4532, 4533, 4534, 4535, 4536
IL-37	UniProtKB: Q9NZH6	4537	4538	4539, 4540, 4541, 4542, 4543, 4544
IL-3	UniProtKB: P08700	4545	4546	4547, 4548, 4549, 4550, 4551, 4552
IL-3	UniProtKB: Q6NZ78	4553	4554	4555, 4556, 4557, 4558, 4559, 4560
IL-3	UniProtKB: Q6NZ79	4561	4562	4563, 4564, 4565, 4566, 4567, 4568
IL-4	UniProtKB: P05112-2	4569	4570	4571, 4572, 4573, 4574, 4575, 4576
IL-4	UniProtKB: P05112	4577	4578	4579, 4580, 4581, 4582, 4583, 4584
IL-5	UniProtKB: P05113	4585	4586	4587, 4588, 4589, 4590, 4591, 4592
IL-6	UniProtKB: P05231	4593	4594	4595, 4596, 4597, 4598, 4599, 4600

ES 2 753 259 T3

IL-7	UniProtKB: A8K673	4601	4602	4603, 4604, 4605, 4606, 4607, 4608
IL-7	UniProtKB: P13232	4609	4610	4611, 4612, 4613, 4614, 4615, 4616
IL-9	UniProtKB: P15248	4617	4618	4619, 4620, 4621, 4622, 4623, 4624
LIF	UniProtKB: P15018	4625	4626	4627, 4628, 4629, 4630, 4631, 4632
LIGHT	UniProtKB: O43557	4633	4634	4635, 4636, 4637, 4638, 4639, 4640
LTalfa	UniProtKB: B4DVZ8	4641	4642	4643, 4644, 4645, 4646, 4647, 4648
LTalfa	UniProtKB: P01374	4649	4650	4651, 4652, 4653, 4654, 4655, 4656
LTalfa	UniProtKB: P09960	4657	4658	4659, 4660, 4661, 4662, 4663, 4664
LTalfa	UniProtKB: Q5ST95	4665	4666	4667, 4668, 4669, 4670, 4671, 4672
LTalfa	UniProtKB: Q5STV3	4673	4674	4675, 4676, 4677, 4678, 4679, 4680
LTalfa	UniProtKB: Q6FG55	4681	4682	4683, 4684, 4685, 4686, 4687, 4688
LTbeta	UniProtKB: Q06643	4689	4690	4691, 4692, 4693, 4694, 4695, 4696
LTbeta	UniProtKB: Q5STB2	4697	4698	4699, 4700, 4701, 4702, 4703, 4704
M-CSF	UniProtKB: P09603	4705	4706	4707, 4708, 4709, 4710, 4711, 4712
MIF	UniProtKB: A6MUU8	4713	4714	4715, 4716, 4717, 4718, 4719, 4720
MIF	UniProtKB: P14174	4721	4722	4723, 4724, 4725, 4726, 4727, 4728
OSM	UniProtKB: P13725	4729	4730	4731, 4732, 4733, 4734, 4735, 4736
OX40L	UniProtKB: P23510	4737	4738	4739, 4740, 4741, 4742, 4743, 4744
OX40L	UniProtKB: P43489	4745	4746	4747, 4748, 4749, 4750, 4751, 4752
RANK_ligando	UniProtKB: O14788	4753	4754	4755, 4756, 4757, 4758, 4759, 4760
Factor células madre	UniProtKB: P21583-2	4761	4762	4763, 4764, 4765, 4766, 4767, 4768
Factor células madre	UniProtKB: P21583	4769	4770	4771, 4772, 4773, 4774, 4775, 4776
TGFbeta1	UniProtKB: A0A024R0P8	4777	4778	4779, 4780, 4781, 4782, 4783, 4784
TGFbeta1	UniProtKB: P01137	4785	4786	4787, 4788, 4789, 4790, 4791, 4792
TGFbeta2	UniProtKB: P61812	4793	4794	4795, 4796, 4797, 4798, 4799, 4800
TGFbeta3	UniProtKB: A5YM40	4801	4802	4803, 4804, 4805, 4806, 4807, 4808
TGFbeta3	UniProtKB: P10600	4809	4810	4811, 4812, 4813, 4814, 4815, 4816
TL1A	UniProtKB: O95150	4817	4818	4819, 4820, 4821, 4822, 4823, 4824
TWEAK	UniProtKB: Q4ACW9	4825	4826	4827, 4828, 4829, 4830, 4831, 4832
CXCL8	UniProtKB: P10145	5265	5266	5267, 5268, 5269, 5270, 5271, 5272
Apo2L/TRAIL	UniProtKB: P50591	6897	6898	6899, 6900, 6901, 6902, 6903, 6904
FasL	UniProtKB: P48023	7321	7322	7323, 7324, 7325, 7326, 7327, 7328

TNF	UniProtKB: P01375	7369	7370	7371, 7372, 7373, 7374, 7375, 7376
TNF	UniProtKB: Q5STB3	7377	7378	7379, 7380, 7381, 7382, 7383, 7384

- 5 En una realización especialmente preferente, la composición aquí descrita comprende al menos un ARN, preferiblemente un ARNm, que comprende al menos una región codificante que codifica para al menos una citoquina o un fragmento o variante del mismo, donde la al menos una región codificante comprende una secuencia de ARN es idéntica o al menos un 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% idéntica a las secuencias de ARN de acuerdo con las SEC ID NO mostradas en la Tabla 1.

2. Quimioquinas:

- 10 En otra realización preferente de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN comprende al menos una región codificante que codifica para al menos una quimioquina, o un fragmento o variante del mismo.

- 15 Las quimioquinas son citoquinas quimiotácticas que controlan los patrones migratorios y el posicionamiento de las células inmunes, según lo revisado por Griffith et al., 2014. Annu Rev. Immunol 32:659-702 (PMID 24655300). La función de la quimioquina es crítica para todo el movimiento de las células inmunes, desde la migración requerida para el desarrollo de células inmunes y la homeostasis, hasta la requerida para generar respuestas inmunes celulares y humorales primarias y amnésicas, hasta el reclutamiento patológico de células inmunes en la enfermedad. Las quimioquinas constituyen la familia más grande de citoquinas, que consta de aproximadamente 50 ligandos de quimioquinas endógenos en humanos y ratones.

- 20 De acuerdo con realizaciones preferentes en el contexto de la presente descripción, las quimioquinas pueden seleccionarse de cualquier quimioquina seleccionada del grupo consistente en CCL1; CCL11; CCL12; CCL13; CCL14; CCL15; CCL16; CCL17; CCL18; CCL19; CCL2; CCL20; CCL21; CCL22; CCL24; CCL25; CCL26; CCL27; CCL28; CCL3; CCL4; CCL5; CCL6; CCL7; CCL8; CCL9; CX3CL1; CXCL1; CXCL10; CXCL11; CXCL12; CXCL13; CXCL14; CXCL15; CXCL2; CXCL3; CXCL4; CXCL5; CXCL6; CXCL7; CXCL8; CXCL9; XCL1; XCL2, preferiblemente como se describe en la Tabla 2. Son particularmente preferentes en este contexto las secuencias de ARN que codifican una quimioquina de acuerdo con la Tabla 2.

25

Tabla 2: Quimioquinas

Nombre gen	Proteína nº acceso	Secuencia proteína SEQ ID NO:	Secuencia ARN tipo salvaje SEQ ID NO:	Secuencia ARN optimizada SEQ ID NO:
CCL11	UniProtKB: P51671	4833	4834	4835, 4836, 4837, 4838, 4839, 4840
CCL11	UniProtKB: Q619T4	4841	4842	4843, 4844, 4845, 4846, 4847, 4848
CCL12	UniProtKB: Q62401	4849	4850	4851, 4852, 4853, 4854, 4855, 4856
CCL13	UniProtKB: Q99616	4857	4858	4859, 4860, 4861, 4862, 4863, 4864
CCL14	UniProtKB: Q16627	4865	4866	4867, 4868, 4869, 4870, 4871, 4872
CCL15	UniProtKB: Q16663	4873	4874	4875, 4876, 4877, 4878, 4879, 4880
CCL16	UniProtKB: 015467	4881	4882	4883, 4884, 4885, 4886, 4887, 4888
CCL17	UniProtKB: Q92583	4889	4890	4891, 4892, 4893, 4894, 4895, 4896
CCL18	UniProtKB: P55774	4897	4898	4899, 4900, 4901, 4902, 4903, 4904
CCL19	UniProtKB: Q61BD6	4905	4906	4907, 4908, 4909, 4910, 4911, 4912
CCL19	UniProtKB: Q99731	4913	4914	4915, 4916, 4917, 4918, 4919, 4920
CCL1	UniProtKB: P22362	4921	4922	4923, 4924, 4925, 4926, 4927, 4928
CCL20	UniProtKB: P78556	4929	4930	4931, 4932, 4933, 4934, 4935, 4936

ES 2 753 259 T3

CCL21	UniProtKB: O00585	4937	4938	4939, 4940, 4941, 4942, 4943, 4944
CCL22	UniProtKB: O00626	4945	4946	4947, 4948, 4949, 4950, 4951, 4952
CCL24	UniProtKB: 000175	4953	4954	4955, 4956, 4957, 4958, 4959, 4960
CCL25	UniProtKB: 015444	4961	4962	4963, 4964, 4965, 4966, 4967, 4968
CCL26	UniProtKB: Q9Y258	4969	4970	4971, 4972, 4973, 4974, 4975, 4976
CCL27	UniProtKB: Q5VZ77	4977	4978	4979, 4980, 4981, 4982, 4983, 4984
CCL28	UniProtKB: A0N0Q3	4985	4986	4987, 4988, 4989, 4990, 4991, 4992
CCL28	UniProtKB: Q9NRJ3	4993	4994	4995, 4996, 4997, 4998, 4999, 5000
CCL2	UniProtKB: P13500	5001	5002	5003, 5004, 5005, 5006, 5007, 5008
CCL3	UniProtKB: A0N0R1	5009	5010	5011, 5012, 5013, 5014, 5015, 5016
CCL3	UniProtKB: P10147	5017	5018	5019, 5020, 5021, 5022, 5023, 5024
CCL4	UniProtKB: P13236	5025	5026	5027, 5028, 5029, 5030, 5031, 5032
CCL4	UniProtKB: Q7M4M2	5033	5034	5035, 5036, 5037, 5038, 5039, 5040
CCL5	UniProtKB: D0EI67	5041	5042	5043, 5044, 5045, 5046, 5047, 5048
CCL5	UniProtKB: P13501	5049	5050	5051, 5052, 5053, 5054, 5055, 5056
CCL6	UniProtKB: P27784	5057	5058	5059, 5060, 5061, 5062, 5063, 5064
CCL7	UniProtKB: P80098	5065	5066	5067, 5068, 5069, 5070, 5071, 5072
CCL7	UniProtKB: Q7Z7Q8	5073	5074	5075, 5076, 5077, 5078, 5079, 5080
CCL8	UniProtKB: H0UIC7	5081	5082	5083, 5084, 5085, 5086, 5087, 5088
CCL8	UniProtKB: P80075	5089	5090	5091, 5092, 5093, 5094, 5095, 5096
CCL9	UniProtKB: P51670	5097	5098	5099, 5100, 5101, 5102, 5103, 5104
CX3CL1	UniProtKB: A0N0N7	5105	5106	5107, 5108, 5109, 5110, 5111, 5112
CX3CL1	UniProtKB: P78423	5113	5114	5115, 5116, 5117, 5118, 5119, 5120
CX3CL1	UniProtKB: Q6I9S9	5121	5122	5123, 5124, 5125, 5126, 5127, 5128
CXCL10	UniProtKB: A0A024RDA4	5129	5130	5131, 5132, 5133, 5134, 5135, 5136
CXCL10	UniProtKB: P02778	5137	5138	5139, 5140, 5141, 5142, 5143, 5144
CXCL11	UniProtKB: 014625	5145	5146	5147, 5148, 5149, 5150, 5151, 5152
CXCL12	UniProtKB: P48061	5153	5154	5155, 5156, 5157, 5158, 5159, 5160
CXCL13	UniProtKB: L8E878	5161	5162	5163, 5164, 5165, 5166, 5167, 5168
CXCL13	UniProtKB: O43927	5169	5170	5171, 5172, 5173, 5174, 5175, 5176
CXCL14	UniProtKB: 095715	5177	5178	5179, 5180, 5181, 5182, 5183, 5184
CXCL15	UniProtKB: Q9WVL7	5185	5186	5187, 5188, 5189, 5190, 5191, 5192

CXCL1	UniProtKB: P09341	5193	5194	5195, 5196, 5197, 5198, 5199, 5200
CXCL2	UniProtKB: A0A024RDD9	5201	5202	5203, 5204, 5205, 5206, 5207, 5208
CXCL2	UniProtKB: P19875	5209	5210	5211, 5212, 5213, 5214, 5215, 5216
CXCL3	UniProtKB: P19876	5217	5218	5219, 5220, 5221, 5222, 5223, 5224
CXCL4	UniProtKB: P02776	5225	5226	5227, 5228, 5229, 5230, 5231, 5232
CXCL5	UniProtKB: P42830	5233	5234	5235, 5236, 5237, 5238, 5239, 5240
CXCL5	UniProtKB: Q6I9S7	5241	5242	5243, 5244, 5245, 5246, 5247, 5248
CXCL6	UniProtKB: P80162	5249	5250	5251, 5252, 5253, 5254, 5255, 5256
CXCL7	UniProtKB: P02775	5257	5258	5259, 5260, 5261, 5262, 5263, 5264
CXCL8	UniProtKB: P10145	5265	5266	5267, 5268, 5269, 5270, 5271, 5272
CXCL9	UniProtKB: L8E8X0	5273	5274	5275, 5276, 5277, 5278, 5279, 5280
CXCL9	UniProtKB: Q07325	5281	5282	5283, 5284, 5285, 5286, 5287, 5288
XCL1	UniProtKB: P47992	5289	5290	5291, 5292, 5293, 5294, 5295, 5296
XCL2	UniProtKB: Q9UBD3	5297	5298	5299, 5300, 5301, 5302, 5303, 5304

En este contexto, se prefieren particularmente las quimioquinas seleccionadas de la siguiente lista: CXCL9, CXCL10, CCL5, XCL1, CCL20, CCL19, CCL21, CCL2, CCL3, CCL16 y CXCL12.

- 5 En una realización particularmente preferente, la composición aquí descrita comprende al menos un ARN, preferiblemente un ARNm, que comprende al menos una región codificante que codifica al menos una quimioquina o un fragmento o variante de la misma, donde la al menos una región codificante comprende una secuencia de ARN es idéntica o al menos un 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% idéntica a las secuencias de ARN de acuerdo con las SEC ID NO descritas en la Tabla 2.

10 3. Productos génicos suicidas

- 15 En una realización preferida adicional de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN codifica para al menos un denominado producto génico suicida, especialmente para una enzima suicida, preferiblemente para una enzima metabolizadora de nucleótidos. Preferentemente, el ARN se usa en combinación con un profármaco que es un sustrato del producto génico suicida, especialmente la enzima suicida, convirtiéndose en un compuesto citotóxico por el producto génico suicida. El profármaco apropiado se puede añadir a la composición de ARN aquí descrita o se puede administrar por separado al paciente.

- 20 Pueden seleccionarse una o más enzimas suicidas preferentes de la siguiente lista: timidina-quinasa, preferiblemente una timidina-quinasa viral, más preferiblemente timidina-quinasa del virus Herpes simplex, timidina-quinasa de Varicella zoster; timidina-quinasa vegetal, preferiblemente una timidina-quinasa de tomate; citosina-desaminasa, preferiblemente citosina-desaminasa bacteriana o de levadura; desoxinucleósido-quinasa, preferiblemente de *Drosophila melanogaster*; desoxicitidina-quinasa, preferiblemente de mamífero, prima nucleósido-fosforilasa, preferiblemente bacteriana.

- 25 Es ya conocido que la terapia génica suicida es un tratamiento prometedor para el cáncer (Ardiani et al., 2012. Curr. Gene Ther. 12(2):77-91. P ID: 22384805). Este enfoque se basa en el suministro y la expresión exitosos del gen suicida a las células tumorales. El gen suicida codifica una enzima con la capacidad única de activar un profármaco de otra manera ineficaz. Después de la expresión del gen suicida en las células transfectadas, se administra un profármaco apropiado y se convierte en un compuesto citotóxico por la acción del producto del gen suicida. Como la mayoría de los genes suicidas codifican enzimas que pertenecen a la clase de enzimas metabolizadoras de nucleótidos, el modo de acción general de los profármacos activados es la interferencia con la síntesis de ADN que, en consecuencia, provoca la inducción de apoptosis. La potencia de estos
30 medicamentos se maximiza en las células cancerosas debido a su mayor tasa de proliferación en comparación

con las células normales. Debido a la posibilidad de suministrar genes preferencialmente a las células tumorales, esta estrategia tiene el potencial de ofrecer una muerte selectiva de tumores a la vez que se conservan las células normales, una característica que los enfoques estándar de quimioterapia y radioterapia generalmente no ofrecen.

- 5 La siguiente tabla 3 (Ardiani et al., 2012. Curr. Gene Ther. 12(2):77-91. PMID: 22384805) resume las enzimas metabolizadoras de nucleótidos preferentes útiles en el enfoque aquí descrito. La tabla incluye variantes y mutantes de tales enzimas que fueron generadas por estrategias de ingeniería de proteínas.

Tabla 3: enzimas suicidas

Enzima	Gen fuente	Sustrato natural	Profármaco	Variantes/ Mutantes	Acc.inhibid. profármaco*
Virus Herpes Simplex Timidina-quinasa (HSVTK)	Virus Herpes Simplex 1 (HSV-1) Timidina-quinasa (TK)	Timidina	Ganciclovir (GCV), aciclovir (ACV)	Mutante 30	1
				Mutante 75	1
				SR39	1
				A168H	1
				A167Y	1
				Q125N	1, 2
Citosina-desaminasa bacteriana (bCD)	<i>Escherichia coli</i> -codA	Citosina	5-Fluorocitosina (5-FC)	D314 mutantes	1, 2, 4
				bCD1525	1, 2, 4
Citosina-desaminasa de levadura (yCD)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> -fcyl	Citosina	5-FC	yCD triple	1, 2, 4
				D92E	1, 2, 4
Desoxinucleosido-quinasa de <i>Drosophila melanogaster</i> (Dm-dNK)	<i>Drosophila melanogaster</i> -dNK	Los 4 desoxi-ribonucleósidos	azidotimidina (AZT), didesoxicitosina (ddC); CdA; 9-beta-D-arabinofuranosil-2-fluoroadenina (F-AraA); GCV, 9-beta-D-arabinosilguanina (AraG); 2',3'-dideshidro-3'-desoxitimidina (D4T); 2',3'-Didesoxitimidina (ddT)	MuD	1, 5
				B5	1
				B10	1, 3
				M88R	1
				HDHD-12, HD-16	1, 5
				R4.V3	1
Desoxicitidina-quinasa (dCK)	<i>Homo sapiens</i> -dCK	Desoxicitidina	2',2'-difluoro-desoxicitidina (dFdC), AraA, β-L-timidina (L-dT) AZT citarabina 5'-monophosphate (AraC)	DMMA, DMLA	1, 3
				EpTK6	1, 3, 5
				Ser-74	1, 3
Purina nucleósido fosforilasa (PNP)	<i>Escherichia coli</i> -deoD	Ribonucleósidos purina	9-(6-desoxi-α-L-talofuranosil)-6-metilpurina (Me(talo)-MeP-R)	M64V	1, 4
*Acción inhibitoria fármaco. 1: síntesis ADN; 2: Timidilato-sintetasa; 3: Ribonucleotido-reductasa; 4: síntesis ARN/proteína; 5: transcriptasa inversa.					

- 10 La timidina-quinasa del virus *Herpes simplex* tipo 1 (HSVTK, EC 2.7.1.21), un homodímero con una subunidad de masa molecular de 45 kDa, es responsable de la fosforilación de timidina, desoxicitidina, desoxitimidilato (dTMP), así como varios análogos de pirimidinas y guaninas farmacéuticamente importantes. Es de señalar que HSVTK es responsable de la fosforilación inicial y la limitación de la velocidad de los análogos de guanosina antivirales aciclovir (ACV) y ganciclovir (GCV). Una vez monofosforilados, estos análogos pueden fosforilarse aún más mediante enzimas endógenas (guanilato-quinasa y nucleósido-difosfoquinasa) antes de incorporarse al ADN naciente para causar la desestabilización de doble cadena y, posteriormente, la muerte celular.
- 15

Además, se puede usar la timidina-quinasa del virus *Varicella zoster* (VZV-tk), por ejemplo junto con el profármaco 6-metoxipurina-arabinósido (ara-M) o 1-(2'-desoxi-2-fluoro-b-D-arabinofuranosil)-5-yodouracilo (FIAU). Otros ejemplos son las timidina-quinasas del virus de la enfermedad de Aleutia (ADV), el virus sincitial respiratorio (RSV) y el citomegalovirus (CMV).

- 5 La citosina-desaminasa (EC; EC 3.5.4.1) es una enzima en la vía de recuperación de pirimidina que cataliza la desaminación de la citosina para formar uracilo y amoníaco. CD de *E. coli* (bCD) es un hexámero de subunidades de 48 kDa con un hierro metálico catalítico. Esta enzima está ausente en los mamíferos y únicamente presente en hongos y bacterias. Se utiliza en la terapia génica suicida debido a su capacidad para desaminar el fármaco antifúngico 5-fluorocitosina (5FC) a 5-fluorouracilo (5FU), un potente fármaco antineoplásico. UPRT (Uracil-fosforibosiltransferasa) puede usarse como posible potenciador.
- 10

La citosina-desaminasa de *Saccharomyces cerevisiae* o de levadura (yCD, EC 3.5.4.1) es un homodímero de subunidades de 17,5 kDa y se ha demostrado que es más activa hacia 5FC que bCD (Km 22 veces menor) con una eficiencia catalítica ligeramente mejor (k_{cat}/K_m) hacia 5FC en relación con su sustrato natural citosina.

- 15 La desoxirribonucleósido-quinasa de *Drosophila melanogaster* (Dm-dNK; EC 2.7.1.145) es una quinasa homodimérica multisustrato de 29 kDa capaz de fosforilar los cuatro desoxirribonucleósidos naturales necesarios para la síntesis de ADN. Además de su amplia especificidad de sustrato, Dm-dNK tiene velocidades catalíticas más altas hacia estos desoxinucleósidos naturales y varios análogos de nucleósidos en comparación con las desoxinucleósido-quinasas de mamífero. Debido a estas características distintivas, Dm-dNK es una enzima especialmente preferente para la aplicación de terapia génica suicida aquí descrita.

- 20 La desoxicitidina-quinasa humana (dCK; EC 2.7.1.74) es una enzima homodimérica de 30,5 kDa en la vía de rescate de los desoxirribonucleósidos y es responsable de activar todos los desoxirribonucleósidos naturales, excluyendo la timidina, como precursores para la síntesis de ADN. Debido a su amplia especificidad de sustrato, dCK puede activar múltiples análogos de nucleósidos eficaces contra diferentes tipos de cáncer. Sin embargo, la dCK de tipo salvaje es intrínsecamente un catalizador relativamente pobre, con bajas tasas de renovación,
- 25 y la activación del profármaco depende de sus niveles de expresión. De hecho, los análogos de nucleósidos que son sustratos eficientes de dCK, como citarabina (AraC), fludarabina (F-AraA), cladribina (CdA) y gemcitabina (dFdC), son agentes antileucémicos eficaces, ya que se ha demostrado que como los linfoblastos tienen altos niveles de expresión de dCK, mientras que las células cancerosas que carecen de actividad de dCK son resistentes a estos mismos análogos. Por tanto, dCK es una enzima especialmente preferente para el enfoque aquí descrito.
- 30

- Preferiblemente, el ARN de la composición que contiene ARN aquí descrita se usa en combinación con componentes adicionales que potencian el efecto citotóxico del tratamiento. Es especialmente preferente emplear el ARN en combinación con ARN que codifica pata conexas y/o con una proteína de la familia de las conexas o partes o fragmentos de las mismas. Las conexas son proteínas transmembrana que forman uniones entre las células. Permiten la transferencia de por ejemplo moléculas entre células vecinas, facilitando así la transferencia de sustancias citotóxicas.
- 35

- Aunque la terapia génica suicida es un enfoque anticancerígeno bastante nuevo, el concepto fue descrito originalmente hace más de dos décadas, en 1986, por Moolten (Moolten, 1986. *Cáncer Res.* 46(10):5276-81). También propuso la existencia de lo que actualmente se conoce como el efecto espectador, ahora ampliamente reconocido como una característica fundamental del éxito de la terapia génica suicida. Por definición, el efecto espectador es la extensión de los efectos citotóxicos de las células transfectadas a células vecinas no transfectadas, observándose una regresión tumoral completa cuando solo se transfecta con éxito una pequeña subpoblación de células tumorales. Este fenómeno es crucial para la efectividad general de la terapia génica suicida hoy en día debido a las bajas eficiencias de transfección que se pueden lograr con los sistemas de administración disponibles.
- 40
- 45

- Se cree que el efecto espectador se produce por dos mecanismos principales: local e inmunomediado. El mecanismo local implica la muerte de células cercanas no transfectadas debido a la transferencia de materiales tóxicos o enzimas suicidas a través de uniones comunicantes, vesículas apoptóticas o por difusión de metabolitos tóxicos solubles. Las uniones comunicantes son importantes en las interacciones célula-célula y son responsables de la transferencia de iones, nucleótidos y moléculas pequeñas a células adyacentes. Sin embargo, la transferencia de medicamentos tóxicos a través de uniones comunicantes puede no estar disponible en ciertos tipos de tumores que sub-regulan la comunicación de la unión comunicante intracelular y muestran uniones comunicantes desorganizadas y no funcionales. Para abordar este problema, varios estudios han aumentado la expresión de conexas, los bloques constructivos de las uniones comunicantes, demostrando que se lograron un mejor efecto espectador y mejor muerte celular.
- 50
- 55

La evidencia acumulada de experimentos *in vivo* sugiere que el efecto inmune mediado por el efecto espectador también juega un papel importante en la regresión tumoral. La presencia de infiltrados inflamatorios,

quimioquinas y citoquinas es elevada en tumores regresivos de animales inmuno-competentes que reciben tratamiento de terapia génica suicida. Estas citoquinas y quimioquinas inducen aún más la producción de moléculas inmunorreguladoras capaces de estimular un efecto anticancerígeno más robusto y, además, debido a que la muerte de las células transfectadas es vía la apoptosis, se pueden liberar numerosas señales inflamatorias para provocar una potente respuesta inmune. Por tanto, la combinación de la composición aquí descrita con conexas o con ARN que codifica conexas es especialmente preferente, ya que fortalece el efecto espectador, aumentando así la eficiencia de la composición que contiene ARN aquí descrita.

De acuerdo con realizaciones preferidas en el contexto de la presente descripción, los productos génicos suicida pueden seleccionarse de cualquier producto génico suicida seleccionado del grupo consistente en citosina-desaminasa_codA; citosina-desaminasa_fcy1; desoxicitidina-quinasa dCK; desoxinucleósido-quinasa_dNK; nucleósido-purina-fosforilasa_deoD; timidina-quinasa TK, preferiblemente como se describe en la Tabla 4. Son particularmente preferentes en este contexto las secuencias de ARN que codifican un producto génico suicida de acuerdo con la Tabla 4.

Tabla 4: Productos génicos suicida

Nombre gen	Proteína No. acceso	Secuencia proteica SEQ ID NO:	Secuencia ARN tipo salvaje SEQ ID NO:	Secuencia ARN SEQ ID NO:
Citosina-desaminasa_codA	UniProtKB: A0A024KS17	5305	5306	5307, 5308, 5309, 5310, 5311, 5312
Citosina-desaminasa_codA	UniProtKB: A0A0H2V4N7	5313	5314	5315, 5316, 5317, 5318, 5319, 5320
Citosina-desaminasa_codA	UniProtKB: A0A0H2YX33	5321	5322	5323, 5324, 5325, 5326, 5327, 5328
Citosina-desaminasa_codA	UniProtKB: F4NM90	5329	5330	5331, 5332, 5333, 5334, 5335, 5336
Citosina-desaminasa_codA	UniProtKB: H9UNZ4	5337	5338	5339, 5340, 5341, 5342, 5343, 5344
Citosina-desaminasa_codA	UniProtKB: Q1RFJ5	5345	5346	5347, 5348, 5349, 5350, 5351, 5352
Citosina-desaminasa_codA	UniProtKB: Q2VP09	5353	5354	5355, 5356, 5357, 5358, 5359, 5360
Citosina-desaminasa_codA	UniProtKB: Q53ZC8	5361	5362	5363, 5364, 5365, 5366, 5367, 5368
Citosina-desaminasa_codA	UniProtKB: Q6Q8Q1	5369	5370	5371, 5372, 5373, 5374, 5375, 5376
Citosina-desaminasa_codA	UniProtKB: W8ZNH5	5377	5378	5379, 5380, 5381, 5382, 5383, 5384
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A023ZJG6	5385	5386	5387, 5388, 5389, 5390, 5391, 5392
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A024XGF7	5393	5394	5395, 5396, 5397, 5398, 5399, 5400
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A024XUW9	5401	5402	5403, 5404, 5405, 5406, 5407, 5408
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0C5ITD0	5409	5410	5411, 5412, 5413, 5414, 5415, 5416
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4WVI5	5417	5418	5419, 5420, 5421, 5422, 5423, 5424
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4WY08	5425	5426	5427, 5428, 5429, 5430, 5431, 5432
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4WZA2	5433	5434	5435, 5436, 5437, 5438, 5439, 5440
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4WZQ5	5441	5442	5443, 5444, 5445, 5446, 5447, 5448
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4X0R8	5449	5450	5451, 5452, 5453, 5454, 5455, 5456
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4X195	5457	5458	5459, 5460, 5461, 5462, 5463, 5464
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4X2R9	5465	5466	5467, 5468, 5469, 5470, 5471, 5472
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4X3Q1	5473	5474	5475, 5476, 5477, 5478, 5479, 5480

ES 2 753 259 T3

Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4X4K1	5481	5482	5483, 5484, 5485, 5486, 5487, 5488
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4X5B7	5489	5490	5491, 5492, 5493, 5494, 5495, 5496
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4X7R4	5497	5498	5499, 5500, 5501, 5502, 5503, 5504
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4X7X4	5505	5506	5507, 5508, 5509, 5510, 5511, 5512
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XA07	5513	5514	5515, 5516, 5517, 5518, 5519, 5520
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XA25	5521	5522	5523, 5524, 5525, 5526, 5527, 5528
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XAV6	5529	5530	5531, 5532, 5533, 5534, 5535, 5536
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XG5	5537	5538	5539, 5540, 5541, 5542, 5543, 5544
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XDL4	5545	5546	5547, 5548, 5549, 5550, 5551, 5552
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XG53	5553	5554	5555, 5556, 5557, 5558, 5559, 5560
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XGH3	5561	5562	5563, 5564, 5565, 5566, 5567, 5568
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XHD4	5569	5570	5571, 5572, 5573, 5574, 5575, 5576
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XIK5	5577	5578	5579, 5580, 5581, 5582, 5583, 5584
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XJR4	5585	5586	5587, 5588, 5589, 5590, 5591, 5592
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XL36	5593	5594	5595, 5596, 5597, 5598, 5599, 5600
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XNH2	5601	5602	5603, 5604, 5605, 5606, 5607, 5608
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XNS1	5609	5610	5611, 5612, 5613, 5614, 5615, 5616
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XQY5	5617	5618	5619, 5620, 5621, 5622, 5623, 5624
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XS80	5625	5626	5627, 5628, 5629, 5630, 5631, 5632
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XS82	5633	5634	5635, 5636, 5637, 5638, 5639, 5640
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XTC2	5641	5642	5643, 5644, 5645, 5646, 5647, 5648
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XUZ4	5649	5650	5651, 5652, 5653, 5654, 5655, 5656
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XW26	5657	5658	5659, 5660, 5661, 5662, 5663, 5664
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XXD1	5665	5666	5667, 5668, 5669, 5670, 5671, 5672
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XYH3	5673	5674	5675, 5676, 5677, 5678, 5679, 5680
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4XZT0	5681	5682	5683, 5684, 5685, 5686, 5687, 5688
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Y164	5689	5690	5691, 5692, 5693, 5694, 5695, 5696
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Y2A8	5697	5698	5699, 5700, 5701, 5702, 5703, 5704
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Y3N1	5705	5706	5707, 5708, 5709, 5710, 5711, 5712
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Y5S3	5713	5714	5715, 5716, 5717, 5718, 5719, 5720
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Y5Y1	5721	5722	5723, 5724, 5725, 5726, 5727, 5728
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Y7I2	5729	5730	5731, 5732, 5733, 5734, 5735, 5736

ES 2 753 259 T3

Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Y8S5	5737	5738	5739, 5740, 5741, 5742, 5743, 5744
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YAR2	5745	5746	5747, 5748, 5749, 5750, 5751, 5752
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YBY2	5753	5754	5755, 5756, 5757, 5758, 5759, 5760
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YCB3	5761	5762	5763, 5764, 5765, 5766, 5767, 5768
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YEC2	5769	5770	5771, 5772, 5773, 5774, 5775, 5776
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YF30	5777	5778	5779, 5780, 5781, 5782, 5783, 5784
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YGU2	5785	5786	5787, 5788, 5789, 5790, 5791, 5792
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YHN3	5793	5794	5795, 5796, 5797, 5798, 5799, 5800
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YIU4	5801	5802	5803, 5804, 5805, 5806, 5807, 5808
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YJ74	5809	5810	5811, 5812, 5813, 5814, 5815, 5816
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YKC5	5817	5818	5819, 5820, 5821, 5822, 5823, 5824
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YMN8	5825	5826	5827, 5828, 5829, 5830, 5831, 5832
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YMV6	5833	5834	5835, 5836, 5837, 5838, 5839, 5840
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YPP6	5841	5842	5843, 5844, 5845, 5846, 5847, 5848
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YRD4	5849	5850	5851, 5852, 5853, 5854, 5855, 5856
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YS13	5857	5858	5859, 5860, 5861, 5862, 5863, 5864
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YTJ7	5865	5866	5867, 5868, 5869, 5870, 5871, 5872
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YUX9	5873	5874	5875, 5876, 5877, 5878, 5879, 5880
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YV34	5881	5882	5883, 5884, 5885, 5886, 5887, 5888
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YXE1	5889	5890	5891, 5892, 5893, 5894, 5895, 5896
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YYM6	5897	5898	5899, 5900, 5901, 5902, 5903, 5904
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4YZB7	5905	5906	5907, 5908, 5909, 5910, 5911, 5912
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Z060	5913	5914	5915, 5916, 5917, 5918, 5919, 5920
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Z1S2	5921	5922	5923, 5924, 5925, 5926, 5927, 5928
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Z2L6	5929	5930	5931, 5932, 5933, 5934, 5935, 5936
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Z4A1	5937	5938	5939, 5940, 5941, 5942, 5943, 5944
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Z552	5945	5946	5947, 5948, 5949, 5950, 5951, 5952
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Z6N6	5953	5954	5955, 5956, 5957, 5958, 5959, 5960
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Z800	5961	5962	5963, 5964, 5965, 5966, 5967, 5968
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4Z9V2	5969	5970	5971, 5972, 5973, 5974, 5975, 5976
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZB52	5977	5978	5979, 5980, 5981, 5982, 5983, 5984
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZCA2	5985	5986	5987, 5988, 5989, 5990, 5991, 5992

ES 2 753 259 T3

Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZCG3	5993	5994	5995, 5996, 5997, 5998, 5999, 6000
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZEM2	6001	6002	6003, 6004, 6005, 6006, 6007, 6008
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZFD0	6009	6010	6011, 6012, 6013, 6014, 6015, 6016
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZGR1	6017	6018	6019, 6020, 6021, 6022, 6023, 6024
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZIM2	6025	6026	6027, 6028, 6029, 6030, 6031, 6032
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZJC0	6033	6034	6035, 6036, 6037, 6038, 6039, 6040
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZK17	6041	6042	6043, 6044, 6045, 6046, 6047, 6048
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZMC8	6049	6050	6051, 6052, 6053, 6054, 6055, 6056
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZMX9	6057	6058	6059, 6060, 6061, 6062, 6063, 6064
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZP21	6065	6066	6067, 6068, 6069, 6070, 6071, 6072
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZQ62	6073	6074	6075, 6076, 6077, 6078, 6079, 6080
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZQ92	6081	6082	6083, 6084, 6085, 6086, 6087, 6088
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZS31	6089	6090	6091, 6092, 6093, 6094, 6095, 6096
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZS87	6097	6098	6099, 6100, 6101, 6102, 6103, 6104
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZTS6	6105	6106	6107, 6108, 6109, 6110, 6111, 6112
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZUK0	6113	6114	6115, 6116, 6117, 6118, 6119, 6120
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZVN6	6121	6122	6123, 6124, 6125, 6126, 6127, 6128
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZWP2	6129	6130	6131, 6132, 6133, 6134, 6135, 6136
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: A0A0D4ZX07	6137	6138	6139, 6140, 6141, 6142, 6143, 6144
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: Q12178	6145	6146	6147, 6148, 6149, 6150, 6151, 6152
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: W7PK48	6153	6154	6155, 6156, 6157, 6158, 6159, 6160
Citosina-desaminasa_fcy1	UniProtKB: W7R647	6161	6162	6163, 6164, 6165, 6166, 6167, 6168
Desoxicitidina-quinasa_dCK	UniProtKB: P27707	6169	6170	6171, 6172, 6173, 6174, 6175, 6176
Desoxinucleósido-quinasa_dNK	UniProtKB: Q540Z9	6177	6178	6179, 6180, 6181, 6182, 6183, 6184
Desoxinucleósido-quinasa_dNK	UniProtKB: Q9XZT6	6185	6186	6187, 6188, 6189, 6190, 6191, 6192
Nucleósido-purina- fosforilasa_deoD	UniProtKB: A0A023Z7B9	6193	6194	6195, 6196, 6197, 6198, 6199, 6200
Nucleósido-purina- fosforilasa_deoD	UniProtKB: A0A024KMI2	6201	6202	6203, 6204, 6205, 6206, 6207, 6208
Nucleósido-purina- fosforilasa_deoD	UniProtKB: A0A0E0SRY5	6209	6210	6211, 6212, 6213, 6214, 6215, 6216
Nucleósido-purina- fosforilasa_deoD	UniProtKB: A0A0E0U7I4	6217	6218	6219, 6220, 6221, 6222, 6223, 6224
Nucleósido-purina- fosforilasa_deoD	UniProtKB: A0A0E0VFI3	6225	6226	6227, 6228, 6229, 6230, 6231, 6232
Nucleósido-purina- fosforilasa_deoD	UniProtKB: A0A0E0Y455	6233	6234	6235, 6236, 6237, 6238, 6239, 6240
Nucleósido-purina- fosforilasa_deoD	UniProtKB: A0A0E1M7E2	6241	6242	6243, 6244, 6245, 6246, 6247, 6248

Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0E3KJD7	6249	6250	6251, 6252, 6253, 6254, 6255, 6256
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0F6CCW6	6257	6258	6259, 6260, 6261, 6262, 6263, 6264
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0F6FGI8	6265	6266	6267, 6268, 6269, 6270, 6271, 6272
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0F6GWR2	6273	6274	6275, 6276, 6277, 6278, 6279, 6280
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0G2SIK5	6281	6282	6283, 6284, 6285, 6286, 6287, 6288
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0G3J9R6	6289	6290	6291, 6292, 6293, 6294, 6295, 6296
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0G3J9Y2	6297	6298	6299, 6300, 6301, 6302, 6303, 6304
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0G3KD68	6305	6306	6307, 6308, 6309, 6310, 6311, 6312
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0H2Z6H1	6313	6314	6315, 6316, 6317, 6318, 6319, 6320
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0H3EQW1	6321	6322	6323, 6324, 6325, 6326, 6327, 6328
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0H3XF09	6329	6330	6331, 6332, 6333, 6334, 6335, 6336
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A0A0J9WZC9	6337	6338	6339, 6340, 6341, 6342, 6343, 6344
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A7ZVS7	6345	6346	6347, 6348, 6349, 6350, 6351, 6352
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: A8A8B3	6353	6354	6355, 6356, 6357, 6358, 6359, 6360
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B11S35	6361	6362	6363, 6364, 6365, 6366, 6367, 6368
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B1LEI9	6369	6370	6371, 6372, 6373, 6374, 6375, 6376
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B1XFJ4	6377	6378	6379, 6380, 6381, 6382, 6383, 6384
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B3HEI4	6385	6386	6387, 6388, 6389, 6390, 6391, 6392
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B5Z4R6	6393	6394	6395, 6396, 6397, 6398, 6399, 6400
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B616N1	6401	6402	6403, 6404, 6405, 6406, 6407, 6408
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B7LEN0	6409	6410	6411, 6412, 6413, 6414, 6415, 6416
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B7LXU6	6417	6418	6419, 6420, 6421, 6422, 6423, 6424
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B7MNI1	6425	6426	6427, 6428, 6429, 6430, 6431, 6432
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B7N2V8	6433	6434	6435, 6436, 6437, 6438, 6439, 6440
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B7NH52	6441	6442	6443, 6444, 6445, 6446, 6447, 6448
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B7NW64	6449	6450	6451, 6452, 6453, 6454, 6455, 6456
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: B7UR12	6457	6458	6459, 6460, 6461, 6462, 6463, 6464
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: C3SE47	6465	6466	6467, 6468, 6469, 6470, 6471, 6472
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: C4ZT66	6473	6474	6475, 6476, 6477, 6478, 6479, 6480
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: C8TQD7	6481	6482	6483, 6484, 6485, 6486, 6487, 6488
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: C8U157	6489	6490	6491, 6492, 6493, 6494, 6495, 6496
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: C8UN92	6497	6498	6499, 6500, 6501, 6502, 6503, 6504

Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: D3GY24	6505	6506	6507, 6508, 6509, 6510, 6511, 6512
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: D3QNE6	6513	6514	6515, 6516, 6517, 6518, 6519, 6520
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: D6I4N2	6521	6522	6523, 6524, 6525, 6526, 6527, 6528
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: D6IHU2	6529	6530	6531, 6532, 6533, 6534, 6535, 6536
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: D6J6A4	6537	6538	6539, 6540, 6541, 6542, 6543, 6544
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: E0J437	6545	6546	6547, 6548, 6549, 6550, 6551, 6552
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: E2QLE4	6553	6554	6555, 6556, 6557, 6558, 6559, 6560
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: E3PFG7	6561	6562	6563, 6564, 6565, 6566, 6567, 6568
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: E8YEH0	6569	6570	6571, 6572, 6573, 6574, 6575, 6576
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: F4NLK2	6577	6578	6579, 6580, 6581, 6582, 6583, 6584
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: F4SEX7	6585	6586	6587, 6588, 6589, 6590, 6591, 6592
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: F4STB8	6593	6594	6595, 6596, 6597, 6598, 6599, 6600
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: F4T9F1	6601	6602	6603, 6604, 6605, 6606, 6607, 6608
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: F4UXB7	6609	6610	6611, 6612, 6613, 6614, 6615, 6616
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: F4VN60	6617	6618	6619, 6620, 6621, 6622, 6623, 6624
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: F4VQF8	6625	6626	6627, 6628, 6629, 6630, 6631, 6632
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: H9V0H4	6633	6634	6635, 6636, 6637, 6638, 6639, 6640
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: J7QV83	6641	6642	6643, 6644, 6645, 6646, 6647, 6648
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: P0ABP8	6649	6650	6651, 6652, 6653, 6654, 6655, 6656
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: Q0T8S9	6657	6658	6659, 6660, 6661, 6662, 6663, 6664
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: Q1R259	6665	6666	6667, 6668, 6669, 6670, 6671, 6672
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: W8ZSE4	6673	6674	6675, 6676, 6677, 6678, 6679, 6680
Nucleósido-purina-fosforilasa deoD	UniProtKB: X5FDR9	6681	6682	6683, 6684, 6685, 6686, 6687, 6688
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: B2CPP5	6689	6690	6691, 6692, 6693, 6694, 6695, 6696
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: B2CPP6	6697	6698	6699, 6700, 6701, 6702, 6703, 6704
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: B2CPP7	6705	6706	6707, 6708, 6709, 6710, 6711, 6712
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: B2CPP8	6713	6714	6715, 6716, 6717, 6718, 6719, 6720
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: B2CPP9	6721	6722	6723, 6724, 6725, 6726, 6727, 6728
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: B2CPQ0	6729	6730	6731, 6732, 6733, 6734, 6735, 6736
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: B2CPQ2	6737	6738	6739, 6740, 6741, 6742, 6743, 6744
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: B2CPQ3	6745	6746	6747, 6748, 6749, 6750, 6751, 6752
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: B2CPQ4	6753	6754	6755, 6756, 6757, 6758, 6759, 6760

Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: B2CPQ5	6761	6762	6763, 6764, 6765, 6766, 6767, 6768
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: O72346	6769	6770	6771, 6772, 6773, 6774, 6775, 6776
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: P06478	6777	6778	6779, 6780, 6781, 6782, 6783, 6784
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: P08333	6785	6786	6787, 6788, 6789, 6790, 6791, 6792
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9DLP2	6793	6794	6795, 6796, 6797, 6798, 6799, 6800
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9ENS0	6801	6802	6803, 6804, 6805, 6806, 6807, 6808
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9ENS1	6809	6810	6811, 6812, 6813, 6814, 6815, 6816
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9ENS2	6817	6818	6819, 6820, 6821, 6822, 6823, 6824
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9ENS3	6825	6826	6827, 6828, 6829, 6830, 6831, 6832
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9ENS4	6833	6834	6835, 6836, 6837, 6838, 6839, 6840
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9ENS5	6841	6842	6843, 6844, 6845, 6846, 6847, 6848
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9IYZ7	6849	6850	6851, 6852, 6853, 6854, 6855, 6856
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9IYZ9	6857	6858	6859, 6860, 6861, 6862, 6863, 6864
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9IZ02	6865	6866	6867, 6868, 6869, 6870, 6871, 6872
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9IZ03	6873	6874	6875, 6876, 6877, 6878, 6879, 6880
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9IZ07	6881	6882	6883, 6884, 6885, 6886, 6887, 6888
Timidina-quinasa_TK	UniProtKB: Q9QNF7	6889	6890	6891, 6892, 6893, 6894, 6895, 6896

- En una realización especialmente preferente, la composición aquí descrita comprende al menos un ARN, preferiblemente un ARNm, que comprende al menos una región codificante que codifica al menos un producto génico suicida o un fragmento o variante del mismo, donde la al menos una región de codificación comprende una secuencia de ARN que es idéntica o al menos un 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89 %, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% idéntica a las secuencias de ARN de acuerdo con las SEC ID NO descritas en la Tabla 4.

4. Proteínas o péptidos inmunológicos

- Preferentemente, el ARN, preferiblemente ARNm, de la composición de ARN aquí descrita codifica para al menos una proteína o péptido inmunogénico, especialmente una proteína o péptido de un patógeno, preferiblemente un patógeno viral, o un fragmento o variante del mismo. Utilizando ARN que codifica una proteína o péptido inmunogénico que es preferiblemente un antígeno patógeno, es posible utilizar la inmunidad preexistente contra dichos antígenos para el tratamiento de enfermedades tumorales y/o cancerosas. La respuesta de la memoria inmune se activa y el sistema inmunitario se fortalece para atacar las células tumorales.

- Esta realización se basa en el reconocimiento de que, en principio, cada organismo con un sistema inmune exhibe "respuestas inmunes de memoria" contra ciertas moléculas extrañas (antígenos), por ejemplo proteínas, en particular proteínas virales o bacterianas. Si un organismo ya ha sido infectado en un momento anterior con el antígeno, una respuesta inmune contra por ejemplo la proteína viral ya ha sido provocada por esta infección. El sistema inmune tiene una "memoria" de esta respuesta y la almacena. Como consecuencia de una reinfección con el antígeno, la respuesta inmune se reactiva. Dicha reactivación puede derivarse de la administración de un ARN, preferiblemente ARNm, que codifica el antígeno, donde la administración intratumoral preferente según la presente descripción es especialmente efectiva. Con la reactivación de la respuesta inmune de la memoria contra patógenos virales, por ejemplo, es posible destruir de forma efectiva células tumorales.

Ejemplos preferentes de proteínas o péptidos inmunogénicos para esta realización son proteínas o péptidos de patógenos generalizados, es decir, patógenos con los que cada organismo, en particular mamífero, preferiblemente humano, tiene una alta probabilidad de infectarse al menos una vez en su vida. Éstos incluyen, por ejemplo, cualquier proteína o péptido estructural o no estructural de:

- 5 – virus de la influenza tipo A o B o cualquier otro ortomixovirus (influenza tipo C),
- picornavirus, como rinovirus o virus de la hepatitis A,
- togavirus, como alfavirus o rubivirus, por ejemplo Sindbis, Semliki-Forest o rubeolavirus (virus del sarampión),
- virus de la rubéola (virus del sarampión alemán),
- 10 – coronavirus, en particular subtipos HCV-229E o HCV-OC43,
- rhabdovirus, como virus de la rabia,
- paramixovirus, como virus de las paperas,
- reovirus, como rotavirus del grupo A, B o C,
- hepadnavirus, como el virus de la hepatitis B,
- 15 – papovirus, como virus del papiloma humano (VPH) de cualquier serotipo, especialmente de 1 a 75,
- adenovirus, en particular tipos 1 a 47,
- virus del herpes, como virus del herpes simple 1, 2 o 3,
- citomegalovirus (CMV), preferiblemente CMVpp65,
- Virus de Epstein Barr (VEB),
- 20 – virus vaccinia y
- bacteria *Chlamydomphila pneumoniae* (*Chlamydia pneumoniae*).

Otros ejemplos de proteínas o péptidos inmunogénicos preferentes son proteínas o péptidos de patógenos que rara vez infectan un organismo. Sin embargo, la codificación de ARN para una o más de estas proteínas o péptidos puede ser eficaz en el enfoque aquí descrito. Estas proteínas o péptidos incluyen, por ejemplo, cualquier proteína o péptido estructural o no estructural de:

- Flavivirus, como el virus del dengue tipo 1 a 4, el virus de la fiebre amarilla, el virus del Nilo Occidental,
- Virus de la encefalitis japonesa
- virus de la hepatitis C
- calicivirus,
- 30 – filovirus, como el virus del Ébola,
- bornavirus
- bunyavirus, como el virus de la fiebre del Valle del Rift,
- arenavirus, como LCMV (virus de la coriomeningitis linfocítica) o virus de la fiebre hemorrágica,
- retrovirus, como VIH y
- 35 – parvovirus.

Preferiblemente, el ARN de la composición de ARNm aquí descrita codifica para la nucleoproteína de la influenza (NP). Los inventores han demostrado que el uso de una composición que contiene ARNm que codifica para la nucleoproteína de la influenza es especialmente eficaz para reducir el tamaño del tumor cuando se aplica de acuerdo con el enfoque aquí descrito. En este contexto, un ARNm que codifica una nucleoproteína de influenza de acuerdo con la SEQ ID NO. 6 es particularmente preferente.

5. Inductores de muerte celular e inductores de apoptosis

En el sentido más amplio, un inductor de apoptosis o un inductor de muerte celular debe entenderse como una molécula que induce autofagia, cornificación, excitotoxicidad, necrosis, degeneración walleriana, entosis, catástrofe mitótica, necroptosis y piroptosis (revisado en Kroemer, G., et al. "Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009." *Cell Death & Differentiation* 16.1 (2009): 3-11).

En otra realización preferente de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN codifica para al menos un inductor de la apoptosis, preferiblemente un inductor de la apoptosis seleccionado del grupo consistente en la familia Bcl-2 y la proteína supresora tumoral p53 y ligandos de receptores de muerte transmembrana, especialmente de la superfamilia de genes del receptor TNF (factor de necrosis tumoral), agonistas del receptor proapoptico y Beclin-1.

Un inductor de apoptosis particularmente preferido en el contexto de la presente descripción es Beclin-1 (derivado del gen BECN1). Es sabido en la técnica que Beclin-1 interactúa con Bcl-2, BCL2L2, GOPC y MAP1LC3A para regular la autofagia y la muerte celular.

La apoptosis proporciona una barrera importante contra el cáncer. Sin embargo, las mutaciones específicas (por ejemplo, la mutación del gen supresor tumoral p53) permiten que algunas células tumorales escapen de la muerte apoptótica y se vuelvan más malignas. empleando un ARNm que codifica para al menos un inductor de la apoptosis es posible reactivar la apoptosis, que es un sistema importante y eficaz del organismo para eliminar células cancerosas.

Ejemplos preferentes de inductores de la apoptosis se pueden seleccionar de la siguiente lista: Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik, Blk, Citocromo C, caspasas, especialmente caspasa 3, caspasa 6, caspasa 7, caspasa 8, caspasa 9, dominio death, especialmente de Fas, preferiblemente FasL, TNF α , Apo2L/TRAIL, agonista de DR4 y/o DR5, Apo3L, anticuerpo agonista DR4, anticuerpo agonista DR5, proteínquinasa R (PKR) (preferiblemente PKR activa constitutiva), granzima B.

Dos vías de señalización inician la apoptosis: la vía intrínseca actúa a través de las proteínas Bcl-2 intracelulares, la vía extrínseca a través de los receptores pro-apoptóticos de la superficie celular.

La vía de señalización intrínseca para la muerte celular programada implica señales intracelulares no mediadas por receptores, que inducen actividades en las mitocondrias, las cuales inician la apoptosis. Los estímulos para la vía intrínseca incluyen infecciones virales o daño celular por toxinas, radicales libres o radiación. El daño del ADN celular también puede inducir la activación de la vía intrínseca de la muerte celular programada. Estos estímulos inducen cambios en la membrana mitocondrial interna que provocan la pérdida del potencial transmembrana, lo que provoca la liberación de proteínas proapoptóticas en el citosol. Las proteínas proapoptóticas activan las caspasas, que median la destrucción celular por diferentes vías. Estas proteínas también se trasladan al núcleo celular, lo que induce la fragmentación del ADN, un sello distintivo de la apoptosis. La regulación de los eventos pro-apoptóticos en las mitocondrias se produce a través de la actividad de los miembros de la familia de proteínas Bcl-2 y la proteína supresora tumoral p53. Los miembros de la familia de proteínas Bcl-2 pueden ser proapoptóticos o antiapoptóticos. Las proteínas antiapoptóticas son Bcl-2, Bcl-x, Bcl-xL, Bcl-XS, Bcl-w y BAG. Las proteínas pro-apoptóticas incluyen Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik y Blk (Elmore, 2007. Toxicol Pathol. 35(4): 495-516 (PMID: 17562483)), que son especialmente preferentes en el enfoque aquí descrito.

La vía de señalización extrínseca que conduce a la apoptosis involucra receptores de muerte transmembrana, que son miembros de la superfamilia de genes del receptor del factor de necrosis tumoral (TNF). Los miembros de esta familia de receptores se unen a ligandos extrínsecos y transducen señales intracelulares que, finalmente, resultan en la destrucción celular. Los ligandos mejor caracterizados de estos receptores hasta la fecha son FasL, TNF α , Apo2L y Apo3L. Los receptores correspondientes son FasR, TNFR1, DR3 y DR4/DR5. Las moléculas que estimulan la actividad de estas proteínas proapoptóticas o activan estos receptores se encuentran actualmente en evaluación por su potencial terapéutico en el tratamiento del cáncer, incluyendo neoplasias hematológicas (Elmore, 2007. Toxicol Pathol. 35(4): 495-516 (PMID: 17562483)). Estos ligandos extrínsecos son otros ejemplos especialmente preferente para su uso en el enfoque aquí descrito.

Nuevos conocimientos de moléculas han inspirado el desarrollo de agonistas de receptores proapoptóticos (PARA), incluyendo el ligando de apoptosis de proteína humana recombinante 2/ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF (Apo2L/TRAIL). Además, se están desarrollando anticuerpos monoclonales agonistas contra sus receptores de señalización DR4 (TRAILR1) y DR5 (TRAILR2). Mapatumumab es un ejemplo de un anticuerpo agonista DR4. Ejemplos de anticuerpos agonistas DR5 incluyen Lexatumumab, Apomab, AMG655, CS-1008 y LBY-135 (Ashkenazi, 2008. Nat. Rdo. Drug Discov. 7(12): 1001-12 (PMID: 18989337)).

La siguiente tabla 5 resume algunos inductores de apoptosis preferentes.

Tabla 5: inductores de apoptosis

Gen/Agente	Ejemplo
<u>Ruta intrínseca</u>	
Bcl-10	
Bax	
Bak	
Bid	
Bad	
Bim	
Bik	
Blk	
Cytochrome c	
Caspase 3, 6, 7, 8, 9	
<u>Ruta extrínseca</u>	
FasL	
TNF α	

ES 2 753 259 T3

Apo2L/TRAIL	
Apo3L	
Anticuerpo agonista DR4	Mapatumumab
Anticuerpo agonista DR5	Lexatumumab, Apomab, AMG655, CS-1008, LBY-135
Otros	
Granzima B	

- De acuerdo con realizaciones preferentes en el contexto de la presente descripción, los inductores de apoptosis pueden seleccionarse de cualquier inductor de apoptosis seleccionado del grupo consistente en Apo2L/TRAIL; Apo3L; Malo; Bak; Bax; Bcl-10; Bid; Bik; Bim; Blk; Caspasa_3; Caspasa_6; Caspasa_7; Caspasa_8; Caspasa_9; Citocromo_c; FasL; Granzima_B; TNF, preferiblemente como se describe en la Tabla 6. Son particularmente preferentes en este contexto las secuencias de ARN que codifican un inductor de apoptosis de acuerdo con la Tabla 6.

Tabla 6: inductores de apoptosis:

Nombre Gen	Proteína N° acceso	Secuencia proteína SEQ ID NO:	Secuencia ARN tipo salvaje SEQ ID NO:	Secuencia ARN optimizada SEQ ID NO:
Apo2L/TRAIL	UniProtKB: P50591	6897	6898	6899, 6900, 6901, 6902, 6903, 6904
Apo3L	UniProtKB: O43508	6905	6906	6907, 6908, 6909, 6910, 6911, 6912
Bad	UniProtKB: A0A024R562	6913	6914	6915, 6916, 6917, 6918, 6919, 6920
Bad	UniProtKB: Q92934	6921	6922	6923, 6924, 6925, 6926, 6927, 6928
Bak	UniProtKB: Q16611	6929	6930	6931, 6932, 6933, 6934, 6935, 6936
Bak	UniProtKB: Q8NFF3	6937	6938	6939, 6940, 6941, 6942, 6943, 6944
Bax	UniProtKB: A0A0C4MVT1	6945	6946	6947, 6948, 6949, 6950, 6951, 6952
Bax	UniProtKB: A0A0C4MW46	6953	6954	6955, 6956, 6957, 6958, 6959, 6960
Bax	UniProtKB: A0A0C4MWS3	6961	6962	6963, 6964, 6965, 6966, 6967, 6968
Bax	UniProtKB: 16LPK7	6969	6970	6971, 6972, 6973, 6974, 6975, 6976
Bax	UniProtKB: K4JQN1	6977	6978	6979, 6980, 6981, 6982, 6983, 6984
Bax	UniProtKB: Q07812	6985	6986	6987, 6988, 6989, 6990, 6991, 6992
Bcl-10	UniProtKB: O95999	6993	6994	6995, 6996, 6997, 6998, 6999, 7000
Bid	UniProtKB: A8ASI8	7001	7002	7003, 7004, 7005, 7006, 7007, 7008
Bid	UniProtKB: B2ZP78	7009	7010	7011, 7012, 7013, 7014, 7015, 7016
Bid	UniProtKB: B2ZP79	7017	7018	7019, 7020, 7021, 7022, 7023, 7024
Bid	UniProtKB: P55957	7025	7026	7027, 7028, 7029, 7030, 7031, 7032
Bik	UniProtKB: A0A024R4X6	7033	7034	7035, 7036, 7037, 7038, 7039, 7040
Bik	UniProtKB: Q13323	7041	7042	7043, 7044, 7045, 7046, 7047, 7048
Bim	UniProtKB: O43521	7049	7050	7051, 7052, 7053, 7054, 7055, 7056

ES 2 753 259 T3

Blk	UniProtKB: P51451	7057	7058	7059, 7060, 7061, 7062, 7063, 7064
Caspasa_3	UniProtKB: P42574	7065	7066	7067, 7068, 7069, 7070, 7071, 7072
Caspasa_6	UniProtKB: P55212	7073	7074	7075, 7076, 7077, 7078, 7079, 7080
Caspasa_7	UniProtKB: P55210	7081	7082	7083, 7084, 7085, 7086, 7087, 7088
Caspasa_8	UniProtKB: B5BU46	7089	7090	7091, 7092, 7093, 7094, 7095, 7096
Caspasa_8	UniProtKB: B6CGU5	7097	7098	7099, 7100, 7101, 7102, 7103, 7104
Caspasa_8	UniProtKB: C3S3G0	7105	7106	7107, 7108, 7109, 7110, 7111, 7112
Caspasa_8	UniProtKB: Q14790	7113	7114	7115, 7116, 7117, 7118, 7119, 7120
Caspasa_9	UniProtKB: A0A024R8F1	7121	7122	7123, 7124, 7125, 7126, 7127, 7128
Caspasa_9	UniProtKB: A0A024R814	7129	7130	7131, 7132, 7133, 7134, 7135, 7136
Caspasa_9	UniProtKB: P55211	7137	7138	7139, 7140, 7141, 7142, 7143, 7144
Caspasa_9	UniProtKB: Q9H257	7145	7146	7147, 7148, 7149, 7150, 7151, 7152
Citocromo_c	UniProtKB: A0A024R9B7	7153	7154	7155, 7156, 7157, 7158, 7159, 7160
Citocromo_c	UniProtKB: A0A024RAP6	7161	7162	7163, 7164, 7165, 7166, 7167, 7168
Citocromo_c	UniProtKB: A0A024RBN6	7169	7170	7171, 7172, 7173, 7174, 7175, 7176
Citocromo_c	UniProtKB: A0A024RBY9	7177	7178	7179, 7180, 7181, 7182, 7183, 7184
Citocromo_c	UniProtKB: B8XYC5	7185	7186	7187, 7188, 7189, 7190, 7191, 7192
Citocromo_c	UniProtKB: G4XXL9	7193	7194	7195, 7196, 7197, 7198, 7199, 7200
Citocromo_c	UniProtKB: H0UI06	7201	7202	7203, 7204, 7205, 7206, 7207, 7208
Citocromo_c	UniProtKB: H6SG12	7209	7210	7211, 7212, 7213, 7214, 7215, 7216
Citocromo_c	UniProtKB: H6SG13	7217	7218	7219, 7220, 7221, 7222, 7223, 7224
Citocromo_c	UniProtKB: H6SG14	7225	7226	7227, 7228, 7229, 7230, 7231, 7232
Citocromo_c	UniProtKB: H6SG15	7233	7234	7235, 7236, 7237, 7238, 7239, 7240
Citocromo_c	UniProtKB: 095101	7241	7242	7243, 7244, 7245, 7246, 7247, 7248
Citocromo_c	UniProtKB: P08574	7249	7250	7251, 7252, 7253, 7254, 7255, 7256
Citocromo_c	UniProtKB: P99999	7257	7258	7259, 7260, 7261, 7262, 7263, 7264
Citocromo_c	UniProtKB: Q49610	7265	7266	7267, 7268, 7269, 7270, 7271, 7272
Citocromo_c	UniProtKB: Q53XN1	7273	7274	7275, 7276, 7277, 7278, 7279, 7280
Citocromo_c	UniProtKB: Q6FGA0	7281	7282	7283, 7284, 7285, 7286, 7287, 7288
Citocromo_c	UniProtKB: Q6FGI7	7289	7290	7291, 7292, 7293, 7294, 7295, 7296
Citocromo_c	UniProtKB: Q71U45	7297	7298	7299, 7300, 7301, 7302, 7303, 7304
Citocromo_c	UniProtKB: Q86WV2	7305	7306	7307, 7308, 7309, 7310, 7311, 7312

Citocromo_c	UniProtKB: Q9UEG9	7313	7314	7315, 7316, 7317, 7318, 7319, 7320
FasL	UniProtKB: P48023	7321	7322	7323, 7324, 7325, 7326, 7327, 7328
Granzima_B	UniProtKB: J3KQ52	7329	7330	7331, 7332, 7333, 7334, 7335, 7336
Granzima_B	UniProtKB: Q67BC3	7337	7338	7339, 7340, 7341, 7342, 7343, 7344
Granzima_B	UniProtKB: Q6XGZ2	7345	7346	7347, 7348, 7349, 7350, 7351, 7352
Granzima_B	UniProtKB: Q6XGZ3	7353	7354	7355, 7356, 7357, 7358, 7359, 7360
Granzima_B	UniProtKB: Q6XGZ4	7361	7362	7363, 7364, 7365, 7366, 7367, 7368
TNF	UniProtKB: P01375	7369	7370	7371, 7372, 7373, 7374, 7375, 7376
TNF	UniProtKB: Q5STB3	7377	7378	7379, 7380, 7381, 7382, 7383, 7384

- 5 En una realización especialmente preferente, la composición aquí descrita comprende al menos un ARN, preferiblemente un ARNm, que comprende al menos una región codificante que codifica al menos un inductor de la apoptosis o inductor de muerte celular o un fragmento o variante del mismo, donde la al menos una región de codificación comprende una secuencia de ARN que es idéntica o al menos un 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88 %, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% idéntica a las secuencias de ARN de acuerdo con las SEQ ID NO descritas en la Tabla 6 .

6. Inhibidores de la angiogénesis

- 10 En una realización preferente adicional de la composición que contiene ARN aquí descrita, el al menos un ARN, preferiblemente ARNm, codifica para al menos un modulador o inhibidor de la angiogénesis, preferiblemente un inhibidor de la angiogénesis endógeno o un fragmento o variante del mismo. El crecimiento y la supervivencia del tumor dependen de la angiogénesis para proporcionar un camino de suministro de oxígeno y nutrientes a las células tumorales. Empleando la codificación de ARN para al menos un inhibidor de la
- 15 angiogénesis de acuerdo con el enfoque aquí descrito es posible bloquear la angiogénesis de manera localizada, es decir, dentro del tejido tumoral, proporcionando así un método eficaz para detener el crecimiento tumoral y disminuir el volumen del tumor. Ejemplos preferidos de inhibidores de la angiogénesis según la descripción se pueden seleccionar de la siguiente lista: interferón alfa (IFN- α), (interferón beta) IFN- β , interferón gamma (IFN- γ), CXCL9, CXCL10, interleucina 12 (IL- 12), factor plaquetario 4 (PF-4), factor de necrosis tumoral
- 20 alfa (TNF- α), tirosina-quinasa 1 tipo fms soluble (sFLT-1), quinasa hepática fetal 1 (FLK-1), angiostatina, endostatina, vasostatina, canstatina, tumstatina, fragmento de prolacina de 16 kD, inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 (Ti P-1), inhibidor tisular de metaloproteinasas 2 (TIMP-2), inhibidor tisular de metaloproteinasas 3 (TIMP-3), trombospondina 1 (TSP-1), trombospondina 2 (TSP-2), Maspin, PEX, receptor soluble de tirosina-proteína quinasa 1 (sTie1), receptor 2 de angiopoyetina-1 soluble (sTie2), angiopoyetina-1,
- 25 angiopoyetina-2, anticuerpo de receptor del factor de crecimiento endotelial antivascolar 2 (VEGFR2) (por ejemplo Alacizumab, Ramucirumab), anticuerpo el factor de crecimiento endotelial antivascolar (VEGF) (por ejemplo Brolucizumab, Ranibizumab, Bevacizumab) y anticuerpo anti-receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 1 (VEGFR1) (por ejemplo Icrucumab).

- 30 Sin este proceso de reclutamiento de vasos sanguíneos, el crecimiento tumoral se limita a 1 a 2 mm², el límite de difusión de oxígeno. Ya en 1971, Folkman propuso que el crecimiento tumoral podría detenerse bloqueando la angiogénesis (Folkman, 1972. N. Engl. J. Med. 285(21):1182-6).

- 35 La angiogénesis es un proceso multietapa de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de la vasculatura preexistente que incluye la activación, proliferación y migración de células endoteliales (CE), la alteración de las membranas basales vasculares, la remodelación de la matriz extracelular tisular, la formación de tubos y redes vasculares, el reclutamiento de células de soporte, incluyendo células musculares lisas y pericitos, y la conexión a la red vascular preexistente.

Dentro de un microambiente dado, la respuesta angiogénica resulta de un equilibrio entre factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos, secretados tanto por las células tumorales como por los componentes del estroma; la prevalencia de la primera determina el "cambio angiogénico", lo que resulta en la activación de la

angiogénesis seguida del crecimiento tumoral (Hanahan y Folkman, 1996. Cell 86 (3): 353-64).

Las estrategias basadas en la terapia génica de inhibición de la angiogénesis y especialmente el enfoque aquí descrito tienen varias ventajas en comparación con las modalidades convencionales de administración de fármacos antiangiogénicos. En primer lugar, dado que la supresión efectiva de la angiogénesis patológica puede eventualmente requerir un tratamiento crónico, la estrategia de terapia génica aquí descrita es útil para lograr la administración selectiva a los tejidos afectados y la expresión prolongada de los agentes terapéuticos. La terapia génica en general también representa un método para evitar los problemas de producción de muchas proteínas recombinantes, incluida su estabilidad y solubilidad; la producción adecuada de factores antiangiogénicos por métodos de ingeniería recombinante ha sido a veces problemática (por ejemplo, para la angiostatina) y puede limitar su aplicación clínica. Además, el uso de transferencia génica permite el correcto plegamiento de los agentes proteicos y su estabilidad *in vivo*, ya que se ensamblan en su entorno fisiológico. Una característica particularmente atractiva del enfoque aquí descrito es la posibilidad de dirigir el suministro de genes a tejidos selectivos, a saber, tejido tumoral, logrando así la expresión de genes localizados y altas concentraciones locales de fármacos sin aumentar los niveles sistémicos de agentes terapéuticos y, por tanto, dando como resultado un índice terapéutico mejorado.

Los inhibidores de la angiogénesis son heterogéneos en origen y potencia y su lista creciente incluye productos de proteólisis de moléculas más grandes con una función diferente, como angiostatina, endostatina y vasoestatina, moduladores de la actividad del factor de crecimiento endotelial vascular, como FLT-1 soluble (sFLT-1) y algunas citoquinas/quimioquinas de marcada actividad anti-endotelial, como IL-12, IFN- α y CXCL10. La siguiente tabla 8 (adaptada de Persano et al., 2007. Mol. Aspects Med. 28(1):87-114. PMID: 17306361) resume los inhibidores de angiogénesis preferentes que pueden usarse en el enfoque aquí descrito.

De acuerdo con las realizaciones preferentes en el contexto de la presente descripción, los inhibidores de angiogénesis pueden seleccionarse de cualquier inhibidor de angiogénesis endógeno seleccionado del grupo consistente en angiopoyetina-2; angiostatina; canstatina; CXCL10; CXCL4; CXCL9; endostatina; FLK-1; IFN α ; IFN β ; IFN γ ; IL-12; PEX; PRL; SERPINB5; sFLT-1; sTie2; TIMP-1; TIMP-2; TIMP-3; TNF; TSP-1; TSP-2; tumstatina; vasostatina, preferiblemente como se describe en la Tabla 7. Son particularmente preferentes en este contexto las secuencias de ARN que codifican un inhibidor de la angiogénesis de acuerdo con la Tabla 7.

Tabla 7: inhibidores de la angiogénesis endógena

Nombre Gen	Proteína N° acceso.	Secuencia proteína SEQ ID NO:	Secuencia ARN tipo salvaje SEQ ID NO:	Secuencia ARN optimizada SEQ ID NO:
IFN α	UniProtKB: G9JKF1	3953	3954	3955, 3956, 3957, 3958, 3959, 3960
IFN α	UniProtKB: P01562	3961	3962	3963, 3964, 3965, 3966, 3967, 3968
IFN α	UniProtKB: P01563	3969	3970	3971, 3972, 3973, 3974, 3975, 3976
IFN α	UniProtKB: P01566	3977	3978	3979, 3980, 3981, 3982, 3983, 3984
IFN α	UniProtKB: P01567	3985	3986	3987, 3988, 3989, 3990, 3991, 3992
IFN α	UniProtKB: P01568	3993	3994	3995, 3996, 3997, 3998, 3999, 4000
IFN α	UniProtKB: P01569	4001	4002	4003, 4004, 4005, 4006, 4007, 4008
IFN α	UniProtKB: P01570	4009	4010	4011, 4012, 4013, 4014, 4015, 4016
IFN α	UniProtKB: P01571	4017	4018	4019, 4020, 4021, 4022, 4023, 4024
IFN α	UniProtKB: P05013	4025	4026	4027, 4028, 4029, 4030, 4031, 4032
IFN α	UniProtKB: P05014	4033	4034	4035, 4036, 4037, 4038, 4039, 4040
IFN α	UniProtKB: P05015	4041	4042	4043, 4044, 4045, 4046, 4047, 4048
IFN α	UniProtKB: P32881	4049	4050	4051, 4052, 4053, 4054, 4055, 4056
IFN α	UniProtKB: Q14618	4057	4058	4059, 4060, 4061, 4062, 4063, 4064
IFN α	UniProtKB: Q86UP4	4065	4066	4067, 4068, 4069, 4070, 4071, 4072

ES 2 753 259 T3

IFNB	UniProtKB: P01574	4073	4074	4075, 4076, 4077, 4078, 4079, 4080
IFNB	UniProtKB: Q15943	4081	4082	4083, 4084, 4085, 4086, 4087, 4088
IFNG	UniProtKB: P01579	4089	4090	4091, 4092, 4093, 4094, 4095, 4096
IFNG	UniProtKB: Q14609	4097	4098	4099, 4100, 4101, 4102, 4103, 4104
IFNG	UniProtKB: Q14610	4105	4106	4107, 4108, 4109, 4110, 4111, 4112
IFNG	UniProtKB: Q14611	4113	4114	4115, 4116, 4117, 4118, 4119, 4120
IFNG	UniProtKB: Q14612	4121	4122	4123, 4124, 4125, 4126, 4127, 4128
IFNG	UniProtKB: Q14613	4129	4130	4131, 4132, 4133, 4134, 4135, 4136
IFNG	UniProtKB: Q14614	4137	4138	4139, 4140, 4141, 4142, 4143, 4144
IFNG	UniProtKB: Q14615	4145	4146	4147, 4148, 4149, 4150, 4151, 4152
IFNG	UniProtKB: Q8NHY9	4153	4154	4155, 4156, 4157, 4158, 4159, 4160
IL-12	UniProtKB: P29460	4193	4194	4195, 4196, 4197, 4198, 4199, 4200
CXCL10	UniProtKB: A0A024RDA4	5129	5130	5131, 5132, 5133, 5134, 5135, 5136
CXCL10	UniProtKB: P02778	5137	5138	5139, 5140, 5141, 5142, 5143, 5144
CXCL4	UniProtKB: P02776	5225	5226	5227, 5228, 5229, 5230, 5231, 5232
CXCL9	UniProtKB: L8E8X0	5273	5274	5275, 5276, 5277, 5278, 5279, 5280
CXCL9	UniProtKB: Q07325	5281	5282	5283, 5284, 5285, 5286, 5287, 5288
TNF	UniProtKB: P01375	7369	7370	7371, 7372, 7373, 7374, 7375, 7376
TNF	UniProtKB: Q5STB3	7377	7378	7379, 7380, 7381, 7382, 7383, 7384
Angiopoyetina-2	UniProtKB: B2R6E3	7385	7386	7387, 7388, 7389, 7390, 7391, 7392
Angiopoyetina-2	UniProtKB: 015123	7393	7394	7395, 7396, 7397, 7398, 7399, 7400
Angiostatina	UniProtKB: A0A0F7G8J1	7401	7402	7403, 7404, 7405, 7406, 7407, 7408
Angiostatina	UniProtKB: P00747	7409	7410	7411, 7412, 7413, 7414, 7415, 7416
Angiostatina	UniProtKB: Q5TEH5	7417	7418	7419, 7420, 7421, 7422, 7423, 7424
Canstatina	UniProtKB: P08572	7425	7426	7427, 7428, 7429, 7430, 7431, 7432
Endostatina	Homo_sapiens	7433	7434	7435, 7436, 7437, 7438, 7439, 7440
FLK-1	UniProtKB: P35968	7441	7442	7443, 7444, 7445, 7446, 7447, 7448
PEX	UniProtKB: P78562	7449	7450	7451, 7452, 7453, 7454, 7455, 7456
PRL	UniProtKB: P01236	7457	7458	7459, 7460, 7461, 7462, 7463, 7464
SERPINB5	UniProtKB: P36952	7465	7466	7467, 7468, 7469, 7470, 7471, 7472
sFLT-1	UniProtKB: H9N1E7	7473	7474	7475, 7476, 7477, 7478, 7479, 7480
sFLT-1	UniProtKB: H9N1E8	7481	7482	7483, 7484, 7485, 7486, 7487, 7488

sFLT-1	UniProtKB: L7RSL3	7489	7490	7491, 7492, 7493, 7494, 7495, 7496
sFLT-1	UniProtKB: P17948	7497	7498	7499, 7500, 7501, 7502, 7503, 7504
sTie2	UniProtKB: B5A953	7505	7506	7507, 7508, 7509, 7510, 7511, 7512
TIMP-1	UniProtKB: P01033	7513	7514	7515, 7516, 7517, 7518, 7519, 7520
TIMP-2	UniProtKB: P16035	7521	7522	7523, 7524, 7525, 7526, 7527, 7528
TIMP-3	UniProtKB: P35625	7529	7530	7531, 7532, 7533, 7534, 7535, 7536
TSP-1	UniProtKB: P07996	7537	7538	7539, 7540, 7541, 7542, 7543, 7544
TSP-2	UniProtKB: P35442	7545	7546	7547, 7548, 7549, 7550, 7551, 7552
Tumstatina	UniProtKB: Q01955	7553	7554	7555, 7556, 7557, 7558, 7559, 7560
Vasostatina	UniProtKB: P10645	7561	7562	7563, 7564, 7565, 7566, 7567, 7568

- 5 En una especialmente preferente, la composición aquí descrita comprende al menos un ARN, preferiblemente un ARNm, que comprende al menos una región codificante que codifica para al menos un inhibidor de la angiogénesis o un fragmento o variante del mismo, donde la al menos una región codificante comprende una secuencia de ARN que es idéntica o al menos un 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% idéntica a las secuencias de ARN de acuerdo con las SEQ ID NO mostradas en la Tabla 7.

7. Proteínas de choque térmico

- 10 En una realización preferente adicional de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN codifica para al menos una proteína de choque térmico (HSP) o un fragmento o variante de la misma. Preferiblemente, la proteína de choque térmico se puede seleccionar de la siguiente lista: HSP27, HSP47 (serpina H1), HSP60, HSP70, HSC70, GRP78 (BiP), HSP90, HSP110, GRP94 (gp96), GRP170 (ORP150), PDI/PDIA, CRT/CALR.

- 15 Según lo revisado por Graner et al. (Graner MW, Lillehei KO, Katsanis E. Endoplasmic reticulum chaperones and their roles in the immunogenicity of cancer vaccines. *Front Oncol.* 2015 Jan 6; 4:379. doi: 10.3389/fonc.2014.00379), las proteínas de choque térmico desempeñan funciones esenciales de mantenimiento celular y son indispensables durante la síntesis, plegamiento y transporte de proteínas a través de las membranas intracelulares, así como en la degradación de proteínas. Las HSP pertenecen a una familia de chaperones multiproteicos que consiste en, pero no se limita a, HSP27, HSP47 (serpina H1), HSP60, HSP70, HSC70, GRP78 (BiP), HSP90, HSP110, GRP94 (gp96), GRP170 (ORP150), PDI/PDIA, CRT/CALR.
- 20 Además de las funciones intracelulares como chaperones, se ha demostrado que las HSP desempeñan un papel extracelular importante como simuladores de respuestas inmunes, en particular en entornos tumorales. Varios informes en la literatura demostraron que los complejos HSP-péptido derivados de tumores inducen respuestas inmunes antitumorales de manera muy eficiente. El mecanismo molecular de estas observaciones
- 25 ha sido aclarado. Las HSP como chaperones tienen la capacidad de unirse a péptidos desnaturalizados, incluidos los antigénicos, y esos complejos son internalizados por las células presentadoras de antígenos (APC), lo que finalmente conduce a la presentación de antígenos y a la inducción de inmunidad. Además de su función de chaperón, se ha demostrado que las HSP desencadenan señales de peligro en el microambiente tumoral y, por tanto, estimulan los macrófagos y las células dendríticas (DC) para producir citoquinas
- 30 proinflamatorias y mejorar las respuestas inmunes inducidas.

- De acuerdo con realizaciones preferentes en el contexto de la presente descripción, las proteínas de choque térmico pueden seleccionarse de cualquier proteína de choque térmico seleccionada del grupo consistente en calreticulina; GRP170 (ORP150); GRP78 (BiP); GRP94 (gp96); HSC70; HSP110; HSP27; HSP47_ (serpina_H1); HSP60; HSP70; HSP90; PDI/PDIA, preferiblemente como se describe en la Tabla 8. Son
- 35 particularmente preferentes en este contexto las secuencias de ARN que codifican una proteína de choque térmico de acuerdo con la Tabla 8.

Tabla 8: proteínas de choque térmico

Nombre Gen	Proteína N° acceso.	Secuencia proteína SEQ ID NO:	Secuencia ARN tipo salvaje SEQ ID NO:	Secuencia ARN optimizada SEQ ID NO:
calreticulina	UniProtKB: B4DHR1	7569	7570	7571, 7572, 7573, 7574, 7575, 7576
calreticulina	UniProtKB: B4E2Y9	7577	7578	7579, 7580, 7581, 7582, 7583, 7584
calreticulina	UniProtKB: P27797	7585	7586	7587, 7588, 7589, 7590, 7591, 7592
calreticulina	UniProtKB: Q96L12	7593	7594	7595, 7596, 7597, 7598, 7599, 7600
GRP170_(ORP150)	UniProtKB: Q9Y4L1	7601	7602	7603, 7604, 7605, 7606, 7607, 7608
GRP78_(BiP)	UniProtKB: P11021	7609	7610	7611, 7612, 7613, 7614, 7615, 7616
GRP94_(gp96)	UniProtKB: P14625	7617	7618	7619, 7620, 7621, 7622, 7623, 7624
HSC70	UniProtKB: P11142	7625	7626	7627, 7628, 7629, 7630, 7631, 7632
HSP110	UniProtKB: Q92598	7633	7634	7635, 7636, 7637, 7638, 7639, 7640
HSP27	UniProtKB: P04792	7641	7642	7643, 7644, 7645, 7646, 7647, 7648
HSP47_(serpina_H1)	UniProtKB: P50454	7649	7650	7651, 7652, 7653, 7654, 7655, 7656
HSP60	UniProtKB: AOA024R3X4	7657	7658	7659, 7660, 7661, 7662, 7663, 7664
HSP60	UniProtKB: B3GQS7	7665	7666	7667, 7668, 7669, 7670, 7671, 7672
HSP60	UniProtKB: P10809	7673	7674	7675, 7676, 7677, 7678, 7679, 7680
HSP60	UniProtKB: Q0VDF9	7681	7682	7683, 7684, 7685, 7686, 7687, 7688
HSP70	UniProtKB: P38646	7689	7690	7691, 7692, 7693, 7694, 7695, 7696
HSP90	UniProtKB: P07900	7697	7698	7699, 7700, 7701, 7702, 7703, 7704
HSP90	UniProtKB: P08238	7705	7706	7707, 7708, 7709, 7710, 7711, 7712
PDI/PDIA	UniProtKB: P07237	7713	7714	7715, 7716, 7717, 7718, 7719, 7720
PDI/PDIA	UniProtKB: Q6YPB0	7721	7722	7723, 7724, 7725, 7726, 7727, 7728
PDI/PDIA	UniProtKB: Q71S60	7729	7730	7731, 7732, 7733, 7734, 7735, 7736

- En una realización especialmente preferente, la composición aquí descrita comprende al menos un ARN, preferiblemente un ARNm, que comprende al menos una región codificante que codifica para al menos una proteína de choque térmico o un fragmento o variante de la misma, donde la al menos una región de codificación comprende una secuencia de ARN que es idéntica o al menos un 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89 %, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% idéntica a las secuencias de ARN de acuerdo con las SEQ ID NO descritas en la Tabla 8.

8. Antígenos tumorales

- 10 En una realización preferente adicional de la composición que contiene ARN aquí descrita, la composición puede contener ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos un antígeno tumoral o un fragmento o variante del mismo, que se usan en la vacunación para inducir una respuesta inmune adaptativa como se describe aquí.

- 15 En este contexto, es particularmente preferente que los antígenos tumorales estén codificados por un ARN, preferiblemente ARNm, comprendido en la composición de ARN aquí descrita. Es particularmente preferente

que la composición de ARN aquí descrita comprenda al menos un ARN que codifica al menos un antígeno tumoral o un fragmento o variante del mismo.

Los antígenos tumorales se localizan preferiblemente en la superficie de la célula (tumoral). Los antígenos tumorales también pueden seleccionarse de proteínas que se sobreexpresan en células tumorales en comparación con una célula normal. Además, los antígenos tumorales también incluyen antígenos expresados en células que no son (no eran) (u originalmente no es sí mismas) degeneradas, sino que están asociadas con el supuesto tumor. Antígenos que están conectados con vasos de suministro a tumores o a su (re)formación, en particular aquellos antígenos que están asociados a la neovascularización, por ejemplo factores de crecimiento como VEGF, bFGF, etc., también se incluyen aquí. Los antígenos conectados con un tumor además incluyen antígenos de células o tejidos que típicamente embeben el tumor. Además, algunas sustancias (generalmente proteínas o péptidos) se expresan en pacientes que padecen (a sabiendas o no) de una enfermedad cancerosa y se producen en mayores concentraciones en los fluidos corporales de dichos pacientes. Estas sustancias también se conocen como "antígenos tumorales", sin embargo, no son antígenos en el sentido estricto de una sustancia que induce la respuesta inmune. La clase de antígenos tumorales se puede dividir en antígenos específicos de tumor (TSA) y antígenos asociados a tumor (TAA). Los TSA solo pueden ser presentados por células tumorales y nunca por células normales "sanas". Suelen ser el resultado de una mutación específica del tumor. Los TAA, que son más comunes, generalmente se presentan tanto en células tumorales como en células sanas. Estos antígenos son reconocidos y la célula presentadora de antígeno puede ser destruida por las células T citotóxicas. Además, los antígenos tumorales también pueden aparecer en la superficie del tumor en forma de, por ejemplo, un receptor mutado. En este caso, pueden ser reconocidos por anticuerpos.

Además, los antígenos asociados a tumores pueden clasificarse como antígenos específicos de tejido, también llamados antígenos específicos de melanocitos, antígenos de cáncer testicular y antígenos específicos de tumor. Los antígenos de cáncer testicular se entienden típicamente como péptidos o proteínas de genes asociados a la línea germinal que pueden estar activados en una amplia variedad de tumores. Los antígenos de cáncer testicular humanos pueden subdividirse en antígenos codificados en el cromosoma X, los llamados antígenos CT-X, y antígenos no codificados en el cromosoma X, los llamados (antígenos CT no X). Los antígenos de cáncer testicular codificados en el cromosoma X comprenden, por ejemplo, la familia de genes de antígeno de melanoma, la llamada familia MAGE. Los genes de la familia MAGE pueden caracterizarse por un dominio de homología MAGE compartido (MHD). Cada uno de estos antígenos, es decir, antígenos específicos de melanocitos, antígenos de cáncer testicular y antígenos específicos de tumor, pueden provocar una respuesta inmune celular y humoral autóloga. Por consiguiente, el antígeno tumoral codificado por la secuencia de ácido nucleico es preferiblemente un antígeno específico de melanocitos, un antígeno de cáncer testicular o un antígeno específico de tumor, preferiblemente un antígeno CT-X, un antígeno CT no X, un compañero de unión para un antígeno CT-X o un compañero de unión para un antígeno CT no X o un antígeno específico de tumor, más preferiblemente un antígeno CT-X, un compañero de unión para un antígeno CT no X o un antígeno específico de tumor.

Antígenos tumorales preferentes particulares se seleccionan de la lista consistente en 5T4, 707-AP, 9D7, AFP, AlbZIP HPG1, alfa-5-beta-1-integrina, alfa-5-beta-6-integrina, alfa-actinina-4/m, alfa-metilacil-coenzima A racemasa, ART-4, ARTC1/m, B7H4, BAGE-1, BCL-2, bcr/abl, beta-catenina/m, BING-4, BRCA1/m, BRCA2/m, CA 15-3/CA 27-29, CA 19-9, CA72-4, CA125, calreticulina, CAMEL, CASP-8/m, catepsina B, catepsina L, CD19, CD20, CD22, CD25, CDE30, CD33, CD4, CD52, CD55, CD56, CD80, CDC27/m, CDK4/m, CDKN2A/m, CEA, CLCA2, CML28, CML66, COA-1/m, proteína similar a coactosina, collage XXIII, COX-2, CT-9/BRD6, Cten, ciclina B1, ciclina D1, cyp-B, CYPB1, DAM-10, DAM-6, DEK-CAIM, EFTUD2/m, EGFR, ELF2/m, EMMPRIN, EpCam, EphA2, EphA3, ErbB3, ETV6 -AML1, EZH2, FGF- 5, FN, Frau-1, G250, GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE7b, GAGE-8, GDEP, GnT-V, gp100, GPC3, GPNMB/m, HAGE, HAST-2, hepsina, Her2/neu, HERV-K-MEL, HLA-A*0201-R17I, HLA-A11/m, HLA-A2/m, HNE, homeobox NKX3.1, HOM-TES-14/SCP-1, HOM-TES-85, HP V-E6, HPV- E7, HSP70-2M, HST-2, hTERT, iCE, IGF-1R, IL-13Ra2, IL-2R, IL-5, receptor de laminina inmaduro, calicreína-2, calicreína-4, Ki67, KIAA0205, KIAA0205/m, KK-LC-1, K-Ras/m, LAGE-A1, LDLR-FUT, MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A12, MAGE-B1, MAGE-B2, MAGE-B3, MAGE-B4, MAGE-B5, MAGE-B6, MAGE-B10, MAGE-B16, MAGE-B17, MAGE-C1, MAGE-C2, MAGE-C3, MAGE-D1, MAGE-D2, MAGE-D4, MAGE-E1, MAGE-E2, MAGE-F1, MAGE-H1, MAGEL2, mamaglobina A, MART-1/melan-A, MART-2, MART-2/m, proteína de matriz 22, MC1R, M-CSF, ME1/m, mesotelina, MG50/PXDN, MMP11, antígeno MN/CA IX, MRP-3, MUC-1, MUC-2, MUM-1/m, MUM-2/m, MUM-3/m, miosina clase I/m, NA88-A, N-acetilglucosaminiltransferasa-V, Neo-PAP, Neo-PAP/m, NFYC/m, NGEP, NMP22, NPM/ALK, N-Ras/m, NSE, NY-ESO-B, NY-ESO-1, OA1, OFA-ILRP, OGT, OGT/m, OS-9, OS-9/m, osteocalcina, osteopontina, p15, p190 minor bcr-abl, p53, p53/m, PAGE-4, PAI-1, PAI-2, PAP, PART-1, PATE, PDEF, Pim-1-Quinasa, Pin-1, Pml/PARalfa, POTE, PRAME, PRDX5/m, prosteína, proteinasa-3, PSA, PSCA, PSGR, PSM, PSMA, PTPRK/m, RAGE-1, RBAF600/m, RHAMM/CD168, RU1, RU2, S-100, SAGE, SART-1, SART-2, SART-3, SCC, SIRT2/m, Sp17, SSX-1, SSX-2/HOM-MEL-40, SSX-4, STAMP-1, STEAP-1, survivina, survivina-2B, SYT-SSX-1, SYT- SSX-2, TA-90, TAG-72, TARP, TEL-AML1, TGFbeta, TGFbetaRII, TGM-4, TPI/m, TRAG-3, TRG, TRP-1, TRP-2/6b, TRP-INT2, TRP-p8, tirosinasa,

UPA, VEGFR1, VEGFR-2/FLK-1 y WT1. Tales antígenos tumorales se pueden seleccionar preferiblemente del grupo consistente en p53, CA125, EGFR, Her2/neu, hTERT, PAP, MAGE-A1, MAGE-A3, Mesotelina, MUC-1, GP100, MART-1, tirosinasa, PSA, PSCA, PSMA, STEAP-1, VEGF, VEGFR1, VEGFR2, Ras, CEA o WT1, y más preferiblemente de PAP, MAGE-A3, WT1 y MUC-1. Tales antígenos tumorales pueden seleccionarse preferiblemente del grupo consistente en MAGE-A1 (por ejemplo MAGE-A1 según el número de acceso M77481), MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A6 (por ejemplo MAGE-A6 según el número de acceso NM_005363), MAGE-C1, MAGE-C2, melan-A (por ejemplo, melan-A según el número de acceso IMM_005511), GP100 (por ejemplo GP100 según el número de acceso M77348), tirosinasa (por ejemplo, tirosinasa según el número de acceso NM_000372), survivina (por ejemplo survivina según el número de acceso AF077350), CEA (por ejemplo CEA según el número de acceso NM_004363), Her-2/neu (por ejemplo Her-2/neu según el número de acceso M11730), WT1 (por ejemplo WT1 según el número de acceso NM_000378), PRAME (por ejemplo PRAME según el número de acceso NM_006115), EGFR1 (receptor 1 del factor de crecimiento epidérmico) (por ejemplo EGFR1 (receptor 1 del factor de crecimiento epidérmico) según el número de acceso AF288738), MUC1, mucina-1 (por ejemplo mucina-1 según el número de acceso NM_002456), SEC61G (por ejemplo SEC61G según el número de acceso NM_014302), hTERT (por ejemplo número de acceso hTERT NM_198253), 5T4 (por ejemplo 5T4 según el número de acceso NM_006670), TRP-2 (por ejemplo TRP-2 según el número de acceso NM_001922), STEAP1, PCA, PSA, PSMA, etc.

De acuerdo con realizaciones preferentes en el contexto de la presente descripción, los antígenos tumorales pueden seleccionarse de cualquier antígeno tumoral seleccionado del grupo consistente en 1A01_HLA-A/m; 1A02; 5T4; ACRBP; AFP; AKAP4; alfa-actinina-4/m; alfa-metilacil-coenzima_A_racemasa; ANDR; ART-4; ARTC1/m; AURKB; B2MG; B3GN5; B4GN1; B7H4; BAGE-1; BASI; BCL-2; bcr/abl; beta-catenina/m; BING-4; BIRC7; BRCA1/m; BY55; calreticulina; CAMEL; CASPA; Caspase_8; catepsina_B; catepsina_L; CD1A; CD1B; CD1C; CD1D; CD1E; CD20; CD22; CD276; CD33; CD3E; CD3Z; CD4; CD44_Isoforma_I; CD44_Isoforma_6; CD52; CD55; CD56; CD80; CD86; CD8A; CDC27/m; CDE30; CDK4/m; CDKN2A/m; CEA; CEAM6; CH3L2; CLCA2; CML28; CML66; COA-1/m; proteína tipo coactosina; colágeno_XXIII; COX2; CP1B1; CSAG2; CT-9/BRD6; CT45A1; CT55; CTAG2_Isoforma_LAGE-1A; CTAG2_Isoforma_LAGE-1B; CTCFL; Cten; ciclina_B1; ciclina_D1; cyp-B; DAM-10; DEP1A; E7; EFIA2; EFTUD2/m; EGFR; EGLN3; ELF2/m; EMMPRIN; EpCam; EphA2; EphA3; ErbB3; ERBB4; ERG; ETV6; EWS; EZH2; FABP7; FCGR3A_Versión_1; FCGR3A_Versión_2; FGF5; FGFR2; fibronectina; FOS; FOXP3; FUT1; G250; GAGE-1; GAGE-2; GAGE-3; GAGE-4; GAGE-5; GAGE-6; GAGE7b; GAGE-8_(GAGE-2D); GASR; GnT-V; GPC3; GPNMB/m; GRM3; HAGE; hepsina; Her2/neu; HLA-A2/m; homeobox_NKX3.1; HOM-TE5-85; HPG1; HS71A; HS71B; HST-2; hTERT; iCE; IF2B3; IL-10; IL-13Ra2; IL2-RA; IL2RB; IL2-RG; IL-5; IMP3; ITA5; ITB1; ITB6; calicreína-2; calicreína-4; KI20A; KIAA0205; KIF2C; KK-LC-1; LDLR; LGMN; LIRB2; LY6K; MAGA5; MAGA8; MAGAB; MAGE- B1; MAGE- E1; MAGE-A1; MAGE-A10; MAGE-A12; MAGE-A2; MAGE-A3; MAGE-A4; MAGE-A6; MAGE-A9; MAGE-B10; MAGE-B16; MAGE-B17; MAGE-B2; MAGE-B3; MAGE-B4; MAGE-B5; MAGE-B6; MAGE-C1; MAGE-C2; MAGE-C3; MAGE-D1; MAGE-D2; MAGE-D4; MAGE-E1_(MAGE1); MAGE-E2; MAGE-F1; MAGE-HI; MAGEL2; mamaglobina_A; MART-1/melan-A; MART-2; MC1_R; M-CSF; mesotelina; MITF; MMP1_1; MMP7; MUC-1; MUM-1/m; MUM-2/m; MYO1A; MYO1B; MYO1C; MYO1D; MYO1E; MYO1F; MYO1G; MYO1H; NA17; NA88-A; Neo-PAP; NFYC/m; NGEP; N-myc; NPM; NRCAM; NSE; NUF2; NY-ESO-1; OA1; OGT; OS9; osteocalcina; osteopontina; p53; PAGE-4; PAI-1; PAI-2; PAP; PATE; PAX3; PAX5; PD1L1; PDCD1; PDEF; PECA1; PGCB; PGFRB; Pim-1_quinasa; Pin-1; PLAC1; PMEL; PML; POTE; POTEF; PRAME; PRDX5/m; PRM2; prostetina; proteinasa-3; PSA; PSB9; PSCA; PSGR; PSM; PTPRC; RAB8A; RAGE-1; RARA; RASH; RASK; RASN; RGS5; RHAMM/CD168; RHOC; RSSA; RU1; RU2; RUNX1; S-100; SAGE; SART- 1; SART-2; SART-3; SEPR; SERPINB5; SIA7F; SIA8A; SIAT9; SIRT2/m; SOX10; SP17; SPNXA; SPXN3; SSX-1; SSX-2; SSX3; SSX-4; ST1A1; STAG2; STAMP1; STEAP-1; survivina; Survivina-2B; SYCP1; SYT-SSX-1; SYT-SSX-2; TARP; TCRg; TF2AA; TGFbeta1; TGFR2; TGM4; TIE2; TKTL1; TPI/m; TRGV11; TRGV9; TRPC1; TRP-p8; TSG10; TSPY1; TVC_(TRGV3); TX101; tirosinasa; TYRP1; TYRP2; UPA; VEGFR1; WT1; XAGE1, preferiblemente como se describe en la Tabla 9. Son particularmente preferentes en este contexto las secuencias de ARN que codifican un antígeno tumoral de acuerdo con la Tabla 9.

50

Tabla 9: antígenos tumorales

Nombre Gen	Proteína Nº acceso	Secuencia proteína SEQ ID NO:	Sec. ARN tipo salvaje SEQ ID NO:	Secuencia ARN optimizada SEQ ID NO:
1A01_HLA-A/m	UniProtKB: P30443	398	399	400, 401, 402, 403, 404
1A02	UniProtKB: P01892	405	406	407, 408, 409, 410, 411
5T4	UniProtKB: Q13641	412	413	414, 415, 416, 417, 418
ACRBP	UniProtKB: Q8NEB7	419	420	421, 422, 423, 424, 425
AFP	UniProtKB: P02771	426	427	428, 429, 430, 431, 432

ES 2 753 259 T3

AKAP4	UniProtKB: Q5JQC9	433	434	435, 436, 437, 438, 439
alf-actinina-_4/m	UniProtKB: B4DSX0	440	441	442, 443, 444, 445, 446
alfa-actinina-_4/m	UniProtKB: B4E337	447	448	449, 450, 451, 452, 453
alfa-actinina-_4/m	UniProtKB: O43707	454	455	456, 457, 458, 459, 460
alfa-metilacil-coenzima A racemasa	UniProtKB: A0A024RE16	461	462	463, 464, 465, 466, 467
alfa-metilacil-coenzima A racemasa	UniProtKB: A8KAC3	468	469	470, 471, 472, 473, 474
ANDR	UniProtKB: P10275	475	476	477, 478, 479, 480, 481
ART-4	UniProtKB: Q9ULX3	482	483	484, 485, 486, 487, 488
ARTC1/m	UniProtKB: P52961	489	490	491, 492, 493, 494, 495
AURKB	UniProtKB: Q96GD4	496	497	498, 499, 500, 501, 502
B2MG	UniProtKB: P61769	503	504	505, 506, 507, 508, 509
B3GN5	UniProtKB: Q9BYG0	510	511	512, 513, 514, 515, 516
B4GN1	UniProtKB: Q00973	517	518	519, 520, 521, 522, 523
B7H4	UniProtKB: Q7Z7D3	524	525	526, 527, 528, 529, 530
BAGE-1	UniProtKB: Q13072	531	532	533, 534, 535, 536, 537
BASI	UniProtKB: P35613	538	539	540, 541, 542, 543, 544
BCL-2	UniProtKB: A9QXG9	545	546	547, 548, 549, 550, 551
bcr/abl	UniProtKB: A9UEZ4	552	553	554, 555, 556, 557, 558
bcr/abl	UniProtKB: A9UEZ7	559	560	561, 562, 563, 564, 565
bcr/abl	UniProtKB: A9UEZ8	566	567	568, 569, 570, 571, 572
bcr/abl	UniProtKB: A9UEZ9	573	574	575, 576, 577, 578, 579
bcr/abl	UniProtKB: A9UF00	580	581	582, 583, 584, 585, 586
bcr/abl	UniProtKB: A9UF01	587	588	589, 590, 591, 592, 593
bcr/abl	UniProtKB: A9UF03	594	595	596, 597, 598, 599, 600
bcr/abl	UniProtKB: A9UF04	601	602	603, 604, 605, 606, 607
bcr/abl	UniProtKB: A9UF05	608	609	610, 611, 612, 613, 614
bcr/abl	UniProtKB: A9UF06	615	616	617, 618, 619, 620, 621
bcr/abl	UniProtKB: A9UF08	622	623	624, 625, 626, 627, 628
beta-catenina/m	UniProtKB: P35222	629	630	631, 632, 633, 634, 635
beta-catenina/m	UniProtKB: Q8WYA6	636	637	638, 639, 640, 641, 642
BING-4	UniProtKB: O15213	643	644	645, 646, 647, 648, 649
BIRC7	UniProtKB: Q96CA5	650	651	652, 653, 654, 655, 656

ES 2 753 259 T3

BRCA1/m	UniProtKB: A0A024R1V0	657	658	659, 660, 661, 662, 663
BRCA1/m	UniProtKB: A0A024R1V7	664	665	666, 667, 668, 669, 670
BRCA1/m	UniProtKB: A0A024R1Z8	671	672	673, 674, 675, 676, 677
BRCA1/m	UniProtKB: A0A068BFX7	678	679	680, 681, 682, 683, 684
BRCA1/m	UniProtKB: C6YB45	685	686	687, 688, 689, 690, 691
BRCA1/m	UniProtKB: C6YB47	692	693	694, 695, 696, 697, 698
BRCA1/m	UniProtKB: G3XAC3	699	700	701, 702, 703, 704, 705
BY55	UniProtKB: 095971	706	707	708, 709, 710, 711, 712
CAMEL	UniProtKB: O95987	713	714	715, 716, 717, 718, 719
CASPA	UniProtKB: Q92851-4	720	721	722, 723, 724, 725, 726
catepsina_B	UniProtKB: A0A024R374	727	728	729, 730, 731, 732, 733
catepsina_B	UniProtKB: P07858	734	735	736, 737, 738, 739, 740
catepsina_L	UniProtKB: A0A024R276	741	742	743, 744, 745, 746, 747
catepsina_L	UniProtKB: P07711	748	749	750, 751, 752, 753, 754
catepsina_L	UniProtKB: Q9HBQ7	755	756	757, 758, 759, 760, 761
CD1A	UniProtKB: P06126	762	763	764, 765, 766, 767, 768
CD1B	UniProtKB: P29016	769	770	771, 772, 773, 774, 775
CD1C	UniProtKB: P29017	776	777	778, 779, 780, 781, 782
CD1D	UniProtKB: P15813	783	784	785, 786, 787, 788, 789
CD1E	UniProtKB: P15812	790	791	792, 793, 794, 795, 796
CD20	UniProtKB: P11836	797	798	799, 800, 801, 802, 803
CD22	UniProtKB: O60926	804	805	806, 807, 808, 809, 810
CD22	UniProtKB: P20273	811	812	813, 814, 815, 816, 817
CD22	UniProtKB: Q0EAF5	818	819	820, 821, 822, 823, 824
CD276	UniProtKB: Q5ZPR3	825	826	827, 828, 829, 830, 831
CD33	UniProtKB: B4DF51	832	833	834, 835, 836, 837, 838
CD33	UniProtKB: P20138	839	840	841, 842, 843, 844, 845
CD33	UniProtKB: Q546G0	846	847	848, 849, 850, 851, 852
CD3E	UniProtKB: P07766	853	854	855, 856, 857, 858, 859
CD3Z	UniProtKB: P20963	860	861	862, 863, 864, 865, 866
CD44_Isoforma_1	UniProtKB: P16070	867	868	869, 870, 871, 872, 873
CD44_Isoforma_6	UniProtKB: P16070-6	874	875	876, 877, 878, 879, 880

ES 2 753 259 T3

CD4	UniProtKB: P01730	881	882	883, 884, 885, 886, 887
CD52	UniProtKB: P31358	888	889	890, 891, 892, 893, 894
CD52	UniProtKB: Q6IBD0	895	896	897, 898, 899, 900, 901
CD52	UniProtKB: V9HWN9	902	903	904, 905, 906, 907, 908
CD55	UniProtKB: B1AP15	909	910	911, 912, 913, 914, 915
CD55	UniProtKB: D3DT85	916	917	918, 919, 920, 921, 922
CD55	UniProtKB: D3DT86	923	924	925, 926, 927, 928, 929
CD55	UniProtKB: P08174	930	931	932, 933, 934, 935, 936
CD56	UniProtKB: P13591	937	938	939, 940, 941, 942, 943
CD80	UniProtKB: A0N0P2	944	945	946, 947, 948, 949, 950
CD80	UniProtKB: P33681	951	952	953, 954, 955, 956, 957
CD86	UniProtKB: P42081	958	959	960, 961, 962, 963, 964
CD8A	UniProtKB: P01732	965	966	967, 968, 969, 970, 971
CDC27/m	UniProtKB: G5EA36	972	973	974, 975, 976, 977, 978
CDC27/m	UniProtKB: P30260	979	980	981, 982, 983, 984, 985
CDE30	UniProtKB: P28908	986	987	988, 989, 990, 991, 992
CDK4/m	UniProtKB: A0A024RBB6	993	994	995, 996, 997, 998, 999
CDK4/m	UniProtKB: P11802	1000	1001	1002, 1003, 1004, 1005, 1006
CDK4/m	UniProtKB: Q6LC83	1007	1008	1009, 1010, 1011, 1012, 1013
CDK4/m	UniProtKB: Q96BE9	1014	1015	1016, 1017, 1018, 1019, 1020
CDKN2A/m	UniProtKB: D1LYX3	1021	1022	1023, 1024, 1025, 1026, 1027
CDKN2A/m	UniProtKB: G3XAG3	1028	1029	1030, 1031, 1032, 1033, 1034
CDKN2A/m	UniProtKB: K7PML8	1035	1036	1037, 1038, 1039, 1040, 1041
CDKN2A/m	UniProtKB: L8E941	1042	1043	1044, 1045, 1046, 1047, 1048
CDKN2A/m	UniProtKB: Q8N726	1049	1050	1051, 1052, 1053, 1054, 1055
CEA	RefSeq: NP_004354	1056	1057	1058, 1059, 1060, 1061, 1062
CEAM6	UniProtKB: P40199	1063	1064	1065, 1066, 1067, 1068, 1069
CH3L2	UniProtKB: Q15782	1070	1071	1072, 1073, 1074, 1075, 1076
CLCA2	UniProtKB: Q9UQC9	1077	1078	1079, 1080, 1081, 1082, 1083
CML28	UniProtKB: Q9NQT4	1084	1085	1086, 1087, 1088, 1089, 1090
CML66	UniProtKB: Q96RS6	1091	1092	1093, 1094, 1095, 1096, 1097
COA-1/m	UniProtKB: Q5T124	1098	1099	1100, 1101, 1102, 1103, 1104

ES 2 753 259 T3

Proteína tipo coactosina	UniProtKB: Q14019	1105	1106	1107, 1108, 1109, 1110, 1111
colágeno_XXIII	UniProtKB: L8EAS4	1112	1113	1114, 1115, 1116, 1117, 1118
colágeno_XXIII	UniProtKB: Q86Y22	1119	1120	1121, 1122, 1123, 1124, 1125
COX-2	UniProtKB: Q6ZYK7	1126	1127	1128, 1129, 1130, 1131, 1132
CP1B1	UniProtKB: Q16678	1133	1134	1135, 1136, 1137, 1138, 1139
CSAG2	UniProtKB: Q9Y5P2-2	1140	1141	1142, 1143, 1144, 1145, 1146
CSAG2	UniProtKB: Q9Y5P2	1147	1148	1149, 1150, 1151, 1152, 1153
CT45A1	UniProtKB: Q5HYN5	1154	1155	1156, 1157, 1158, 1159, 1160
CT55	UniProtKB: Q8WUE5	1161	1162	1163, 1164, 1165, 1166, 1167
CT-_9/BRD6	UniProtKB: Q58F21	1168	1169	1170, 1171, 1172, 1173, 1174
CTAG2_Isoforma_LAGE-1A	UniProtKB: O75638-2	1175	1176	1177, 1178, 1179, 1180, 1181
CTAG2_Isoforma_LAGE-1B	UniProtKB: O75638	1182	1183	1184, 1185, 1186, 1187, 1188
CTCFL	UniProtKB: Q8NI51	1189	1190	1191, 1192, 1193, 1194, 1195
Cten	UniProtKB: Q8IZW8	1196	1197	1198, 1199, 1200, 1201, 1202
cyclin_B1	UniProtKB: P14635	1203	1204	1205, 1206, 1207, 1208, 1209
cyclin_D1	UniProtKB: P24385	1210	1211	1212, 1213, 1214, 1215, 1216
cyp-B	UniProtKB: P23284	1217	1218	1219, 1220, 1221, 1222, 1223
DAM-10	UniProtKB: P43366	1224	1225	1226, 1227, 1228, 1229, 1230
DEP1A	UniProtKB: Q5TB30	1231	1232	1233, 1234, 1235, 1236, 1237
E7	UniProtKB: P03129	1238	1239	1240, 1241, 1242, 1243, 1244
E7	UniProtKB: P06788	1245	1246	1247, 1248, 1249, 1250, 1251
E7	UniProtKB: P17387	1252	1253	1254, 1255, 1256, 1257, 1258
E7	UniProtKB: P06429	1259	1260	1261, 1262, 1263, 1264, 1265
E7	UniProtKB: P27230	1266	1267	1268, 1269, 1270, 1271, 1272
E7	UniProtKB: P24837	1273	1274	1275, 1276, 1277, 1278, 1279
E7	UniProtKB: P21736	1280	1281	1282, 1283, 1284, 1285, 1286
E7	UniProtKB: P26558	1287	1288	1289, 1290, 1291, 1292, 1293
E7	UniProtKB: P36831	1294	1295	1296, 1297, 1298, 1299, 1300
E7	UniProtKB: P36833	1301	1302	1303, 1304, 1305, 1306, 1307
E7	UniProtKB: Q9QCZ1	1308	1309	1310, 1311, 1312, 1313, 1314
E7	UniProtKB: Q81965	1315	1316	1317, 1318, 1319, 1320, 1321
E7	UniProtKB: Q80956	1322	1323	1324, 1325, 1326, 1327, 1328

ES 2 753 259 T3

EF1A2	UniProtKB: Q05639	1329	1330	1331, 1332, 1333, 1334, 1335
EFTUD2/m	UniProtKB: Q15029	1336	1337	1338, 1339, 1340, 1341, 1342
EGFR	UniProtKB: A0A0B4J1Y5	1343	1344	1345, 1346, 1347, 1348, 1349
EGFR	UniProtKB: E7BSV0	1350	1351	1352, 1353, 1354, 1355, 1356
EGFR	UniProtKB: L0R6G1	1357	1358	1359, 1360, 1361, 1362, 1363
EGFR	UniProtKB: P00533-2	1364	1365	1366, 1367, 1368, 1369, 1370
EGFR	UniProtKB: P00533	1371	1372	1373, 1374, 1375, 1376, 1377
EGFR	UniProtKB: Q147T7	1378	1379	1380, 1381, 1382, 1383, 1384
EGFR	UniProtKB: Q504U8	1385	1386	1387, 1388, 1389, 1390, 1391
EGFR	UniProtKB: Q8NDU8	1392	1393	1394, 1395, 1396, 1397, 1398
EGLN3	UniProtKB: Q9H6Z9	1399	1400	1401, 1402, 1403, 1404, 1405
ELF2/m	UniProtKB: B7Z720	1406	1407	1408, 1409, 1410, 1411, 1412
EMMPRIN	UniProtKB: Q54A51	1413	1414	1415, 1416, 1417, 1418, 1419
EpCam	UniProtKB: P16422	1420	1421	1422, 1423, 1424, 1425, 1426
EphA2	UniProtKB: P29317	1427	1428	1429, 1430, 1431, 1432, 1433
EphA3	UniProtKB: P29320	1434	1435	1436, 1437, 1438, 1439, 1440
EphA3	UniProtKB: Q6P4R6	1441	1442	1443, 1444, 1445, 1446, 1447
ErbB3	UniProtKB: B3KWG5	1448	1449	1450, 1451, 1452, 1453, 1454
ErbB3	UniProtKB: B4DQG7	1455	1456	1457, 1458, 1459, 1460, 1461
ERBB4	UniProtKB: Q15303	1462	1463	1464, 1465, 1466, 1467, 1468
ERG	UniProtKB: P11308	1469	1470	1471, 1472, 1473, 1474, 1475
ETV6	UniProtKB: P41212	1476	1477	1478, 1479, 1480, 1481, 1482
EWS	UniProtKB: Q01844	1483	1484	1485, 1486, 1487, 1488, 1489
EZH2	UniProtKB: F2YMM1	1490	1491	1492, 1493, 1494, 1495, 1496
EZH2	UniProtKB: G3XAL2	1497	1498	1499, 1500, 1501, 1502, 1503
EZH2	UniProtKB: L0R855	1504	1505	1506, 1507, 1508, 1509, 1510
EZH2	UniProtKB: Q15910	1511	1512	1513, 1514, 1515, 1516, 1517
EZH2	UniProtKB: S4S3R8	1518	1519	1520, 1521, 1522, 1523, 1524
FABP7	UniProtKB: 015540	1525	1526	1527, 1528, 1529, 1530, 1531
FCGR3A_Versión_1	UniProtKB: P08637	1532	1533	1534, 1535, 1536, 1537, 1538
FCGR3A_Versión_2	CCDS: CCDS1232.1	1539	1540	1541, 1542, 1543, 1544, 1545
FGF5	UniProtKB: P12034	1546	1547	1548, 1549, 1550, 1551, 1552

ES 2 753 259 T3

FGF5	UniProtKB: Q60518	1553	1554	1555, 1556, 1557, 1558, 1559
FGFR2	UniProtKB: P21802	1560	1561	1562, 1563, 1564, 1565, 1566
fibronectina	UniProtKB: A0A024R5I6	1567	1568	1569, 1570, 1571, 1572, 1573
fibronectina	UniProtKB: A0A024RB01	1574	1575	1576, 1577, 1578, 1579, 1580
fibronectina	UniProtKB: A0A024RDT9	1581	1582	1583, 1584, 1585, 1586, 1587
fibronectina	UniProtKB: A0A024RDV5	1588	1589	1590, 1591, 1592, 1593, 1594
fibronectina	UniProtKB: A6NH44	1595	1596	1597, 1598, 1599, 1600, 1601
fibronectina	UniProtKB: A8K6A5	1602	1603	1604, 1605, 1606, 1607, 1608
fibronectina	UniProtKB: B2R627	1609	1610	1611, 1612, 1613, 1614, 1615
fibronectina	UniProtKB: B3KXM5	1616	1617	1618, 1619, 1620, 1621, 1622
fibronectina	UniProtKB: B4DIC5	1623	1624	1625, 1626, 1627, 1628, 1629
fibronectina	UniProtKB: B4DN21	1630	1631	1632, 1633, 1634, 1635, 1636
fibronectina	UniProtKB: B4DS98	1637	1638	1639, 1640, 1641, 1642, 1643
fibronectina	UniProtKB: B4DTH2	1644	1645	1646, 1647, 1648, 1649, 1650
fibronectina	UniProtKB: B4DTK1	1651	1652	1653, 1654, 1655, 1656, 1657
fibronectina	UniProtKB: B4DU16	1658	1659	1660, 1661, 1662, 1663, 1664
fibronectina	UniProtKB: B7Z3W5	1665	1666	1667, 1668, 1669, 1670, 1671
fibronectina	UniProtKB: B7Z939	1672	1673	1674, 1675, 1676, 1677, 1678
fibronectina	UniProtKB: G5E9X3	1679	1680	1681, 1682, 1683, 1684, 1685
fibronectina	UniProtKB: Q9H382	1686	1687	1688, 1689, 1690, 1691, 1692
FOS	UniProtKB: P01100	1693	1694	1695, 1696, 1697, 1698, 1699
FOXP3	UniProtKB: Q9BZS1	1700	1701	1702, 1703, 1704, 1705, 1706
FUT1	UniProtKB: P19526	1707	1708	1709, 1710, 1711, 1712, 1713
G250	UniProtKB: Q16790	1714	1715	1716, 1717, 1718, 1719, 1720
GAGE-1	Genbank: AAA82744	1721	1722	1723, 1724, 1725, 1726, 1727
GAGE-2	UniProtKB: Q6NT46	1728	1729	1730, 1731, 1732, 1733, 1734
GAGE-3	UniProtKB: Q13067	1735	1736	1737, 1738, 1739, 1740, 1741
GAGE-4	UniProtKB: Q13068	1742	1743	1744, 1745, 1746, 1747, 1748
GAGE-5	UniProtKB: Q13069	1749	1750	1751, 1752, 1753, 1754, 1755
GAGE-6	UniProtKB: Q13070	1756	1757	1758, 1759, 1760, 1761, 1762
GAGE7b	UniProtKB: O76087	1763	1764	1765, 1766, 1767, 1768, 1769
GAGE-8_(GAGE-2D)	UniProtKB: Q9UEU5	1770	1771	1772, 1773, 1774, 1775, 1776

ES 2 753 259 T3

GASR	UniProtKB: P32239	1777	1778	1779, 1780, 1781, 1782, 1783
GnT-V	UniProtKB: Q09328	1784	1785	1786, 1787, 1788, 1789, 1790
GPC3	UniProtKB: I6QTG3	1791	1792	1793, 1794, 1795, 1796, 1797
GPC3	UniProtKB: P51654	1798	1799	1800, 1801, 1802, 1803, 1804
GPC3	UniProtKB: Q8IYG2	1805	1806	1807, 1808, 1809, 1810, 1811
GNPMB/m	UniProtKB: A0A024RA55	1812	1813	1814, 1815, 1816, 1817, 1818
GNPMB/m	UniProtKB: Q14956	1819	1820	1821, 1822, 1823, 1824, 1825
GNPMB/m	UniProtKB: Q8IXJ5	1826	1827	1828, 1829, 1830, 1831, 1832
GNPMB/m	UniProtKB: Q96F58	1833	1834	1835, 1836, 1837, 1838, 1839
GRM3	UniProtKB: Q14832	1840	1841	1842, 1843, 1844, 1845, 1846
HAGE	UniProtKB: Q9NXZ2	1847	1848	1849, 1850, 1851, 1852, 1853
hepsina	UniProtKB: B2ZDQ2	1854	1855	1856, 1857, 1858, 1859, 1860
hepsina	UniProtKB: P05981	1861	1862	1863, 1864, 1865, 1866, 1867
Her2/neu	UniProtKB: B4DTR1	1868	1869	1870, 1871, 1872, 1873, 1874
Her2/neu	UniProtKB: L8E8G2	1875	1876	1877, 1878, 1879, 1880, 1881
Her2/neu	UniProtKB: P04626	1882	1883	1884, 1885, 1886, 1887, 1888
Her2/neu	UniProtKB: Q9UK79	1889	1890	1891, 1892, 1893, 1894, 1895
HLA-A2/m	UniProtKB: Q95387	1896	1897	1898, 1899, 1900, 1901, 1902
HLA-A2/m	UniProtKB: Q9MYF8	1903	1904	1905, 1906, 1907, 1908, 1909
homeobox_NKX3.1	UniProtKB: Q99801	1910	1911	1912, 1913, 1914, 1915, 1916
HOM-TES-85	UniProtKB: B2RBQ6	1917	1918	1919, 1920, 1921, 1922, 1923
HOM-TES-85	UniProtKB: Q9P127	1924	1925	1926, 1927, 1928, 1929, 1930
HPG1	Pubmed: 12543784	1931	1932	1933, 1934, 1935, 1936, 1937
HS71A	UniProtKB: P0DMV8	1938	1939	1940, 1941, 1942, 1943, 1944
HS71B	UniProtKB: P0DMV9	1945	1946	1947, 1948, 1949, 1950, 1951
HST-2	UniProtKB: P10767	1952	1953	1954, 1955, 1956, 1957, 1958
hTERT	UniProtKB: O94807	1959	1960	1961, 1962, 1963, 1964, 1965
iCE	UniProtKB: O00748	1966	1967	1968, 1969, 1970, 1971, 1972
IF2B3	UniProtKB: O00425	1973	1974	1975, 1976, 1977, 1978, 1979
IL-13Ra2	UniProtKB: Q14627	1980	1981	1982, 1983, 1984, 1985, 1986
IL2-RA	UniProtKB: P01589	1987	1988	1989, 1990, 1991, 1992, 1993
IL2-RB	UniProtKB: P14784	1994	1995	1996, 1997, 1998, 1999, 2000

ES 2 753 259 T3

IL2-RG	UniProtKB: P31785	2001	2002	2003, 2004, 2005, 2006, 2007
IMP3	UniProtKB: Q9NV31	2008	2009	2010, 2011, 2012, 2013, 2014
ITA5	UniProtKB: P08648	2015	2016	2017, 2018, 2019, 2020, 2021
ITB1	UniProtKB: P05556	2022	2023	2024, 2025, 2026, 2027, 2028
ITB6	UniProtKB: P18564	2029	2030	2031, 2032, 2033, 2034, 2035
calicreína-2	UniProtKB: A0A024R4J4	2036	2037	2038, 2039, 2040, 2041, 2042
calicreína-2	UniProtKB: A0A024R4N3	2043	2044	2045, 2046, 2047, 2048, 2049
calicreína-2	UniProtKB: B0AZU9	2050	2051	2052, 2053, 2054, 2055, 2056
calicreína-2	UniProtKB: B4DU77	2057	2058	2059, 2060, 2061, 2062, 2063
calicreína-2	UniProtKB: P20151	2064	2065	2066, 2067, 2068, 2069, 2070
calicreína-2	UniProtKB: Q6T774	2071	2072	2073, 2074, 2075, 2076, 2077
calicreína-2	UniProtKB: Q6T775	2078	2079	2080, 2081, 2082, 2083, 2084
calicreína-4	UniProtKB: A0A0C4DFQ5	2085	2086	2087, 2088, 2089, 2090, 2091
calicreína-4	UniProtKB: Q5BQA0	2092	2093	2094, 2095, 2096, 2097, 2098
calicreína-4	UniProtKB: Q96PT0	2099	2100	2101, 2102, 2103, 2104, 2105
calicreína-4	UniProtKB: Q96PT1	2106	2107	2108, 2109, 2110, 2111, 2112
calicreína-4	UniProtKB: Q9Y5K2	2113	2114	2115, 2116, 2117, 2118, 2119
KI20A	UniProtKB: O95235	2120	2121	2122, 2123, 2124, 2125, 2126
KIAA0205	UniProtKB: Q92604	2127	2128	2129, 2130, 2131, 2132, 2133
KIF2C	UniProtKB: Q99661	2134	2135	2136, 2137, 2138, 2139, 2140
KK-LC-1	UniProtKB: Q5H943	2141	2142	2143, 2144, 2145, 2146, 2147
LDLR	UniProtKB: P01130	2148	2149	2150, 2151, 2152, 2153, 2154
LGMN	UniProtKB: Q99538	2155	2156	2157, 2158, 2159, 2160, 2161
LIRB2	UniProtKB: Q8N423	2162	2163	2164, 2165, 2166, 2167, 2168
LY6K	UniProtKB: Q17RY6	2169	2170	2171, 2172, 2173, 2174, 2175
MAGA5	UniProtKB: P43359	2176	2177	2178, 2179, 2180, 2181, 2182
MAGA8	UniProtKB: P43361	2183	2184	2185, 2186, 2187, 2188, 2189
MAGAB	UniProtKB: P43364	2190	2191	2192, 2193, 2194, 2195, 2196
MAGE-A10	UniProtKB: A0A024RC14	2197	2198	2199, 2200, 2201, 2202, 2203
MAGE-A12	UniProtKB: P43365	2204	2205	2206, 2207, 2208, 2209, 2210
MAGE-A1	UniProtKB: P43355	2211	2212	2213, 2214, 2215, 2216, 2217
MAGE-A2	UniProtKB: P43356	2218	2219	2220, 2221, 2222, 2223, 2224

ES 2 753 259 T3

MAGE-A3	UniProtKB: P43357	2225	2226	2227, 2228, 2229, 2230, 2231
MAGE-A4	UniProtKB: A0A024RC12	2232	2233	2234, 2235, 2236, 2237, 2238
MAGE-A4	UniProtKB: P43358	2239	2240	2241, 2242, 2243, 2244, 2245
MAGE-A4	UniProtKB: Q1RN33	2246	2247	2248, 2249, 2250, 2251, 2252
MAGE-A6	UniProtKB: A8K072	2253	2254	2255, 2256, 2257, 2258, 2259
MAGE-A6	UniProtKB: P43360	2260	2261	2262, 2263, 2264, 2265, 2266
MAGE-A6	UniProtKB: Q6FHI5	2267	2268	2269, 2270, 2271, 2272, 2273
MAGE-A9	UniProtKB: P43362	2274	2275	2276, 2277, 2278, 2279, 2280
MAGE-B10	UniProtKB: Q96LZ2	2281	2282	2283, 2284, 2285, 2286, 2287
MAGE-B16	UniProtKB: A2A368	2288	2289	2290, 2291, 2292, 2293, 2294
MAGE-B17	UniProtKB: A8MXT2	2295	2296	2297, 2298, 2299, 2300, 2301
MAGE-_B1	UniProtKB: Q96TG1	2302	2303	2304, 2305, 2306, 2307, 2308
MAGE-B2	UniProtKB: O15479	2309	2310	2311, 2312, 2313, 2314, 2315
MAGE-B3	UniProtKB: O15480	2316	2317	2318, 2319, 2320, 2321, 2322
MAGE-B4	UniProtKB: O15481	2323	2324	2325, 2326, 2327, 2328, 2329
MAGE-B5	UniProtKB: Q9BZ81	2330	2331	2332, 2333, 2334, 2335, 2336
MAGE-B6	UniProtKB: Q8N7X4	2337	2338	2339, 2340, 2341, 2342, 2343
MAGE-C1	UniProtKB: O60732	2344	2345	2346, 2347, 2348, 2349, 2350
MAGE-C2	UniProtKB: Q9UBF1	2351	2352	2353, 2354, 2355, 2356, 2357
MAGE-C3	UniProtKB: Q8TD91	2358	2359	2360, 2361, 2362, 2363, 2364
MAGE-D1	UniProtKB: Q9Y5V3	2365	2366	2367, 2368, 2369, 2370, 2371
MAGE-D2	UniProtKB: Q9UNF1	2372	2373	2374, 2375, 2376, 2377, 2378
MAGE-D4	UniProtKB: Q96JG8	2379	2380	2381, 2382, 2383, 2384, 2385
MAGE-_E1	UniProtKB: Q6IAI7	2386	2387	2388, 2389, 2390, 2391, 2392
MAGE-E1_(MAGE1)	UniProtKB: Q9HCI5	2393	2394	2395, 2396, 2397, 2398, 2399
MAGE-E2	UniProtKB: Q8TD90	2400	2401	2402, 2403, 2404, 2405, 2406
MAGE-F1	UniProtKB: Q9HAY2	2407	2408	2409, 2410, 2411, 2412, 2413
MAGE-H1	UniProtKB: Q9H213	2414	2415	2416, 2417, 2418, 2419, 2420
MAGEL2	UniProtKB: Q9UJ55	2421	2422	2423, 2424, 2425, 2426, 2427
mamaglobina_A	UniProtKB: Q13296	2428	2429	2430, 2431, 2432, 2433, 2434
mamaglobina_A	UniProtKB: Q6NX70	2435	2436	2437, 2438, 2439, 2440, 2441
MART-1/melan-A	UniProtKB: Q16655	2442	2443	2444, 2445, 2446, 2447, 2448

ES 2 753 259 T3

MART-2	UniProtKB: Q5VTY9	2449	2450	2451, 2452, 2453, 2454, 2455
MC1_R	UniProtKB: Q01726	2456	2457	2458, 2459, 2460, 2461, 2462
MC1_R	UniProtKB: Q1JUL4	2463	2464	2465, 2466, 2467, 2468, 2469
MC1_R	UniProtKB: Q1JUL6	2470	2471	2472, 2473, 2474, 2475, 2476
MC1_R	UniProtKB: Q1JUL8	2477	2478	2479, 2480, 2481, 2482, 2483
MC1_R	UniProtKB: Q1JUL9	2484	2485	2486, 2487, 2488, 2489, 2490
MC1_R	UniProtKB: Q1JUM0	2491	2492	2493, 2494, 2495, 2496, 2497
MC1_R	UniProtKB: Q1JUM2	2498	2499	2500, 2501, 2502, 2503, 2504
MC1_R	UniProtKB: Q1JUM3	2505	2506	2507, 2508, 2509, 2510, 2511
MC1_R	UniProtKB: Q1JUM4	2512	2513	2514, 2515, 2516, 2517, 2518
MC1_R	UniProtKB: Q1JUM5	2519	2520	2521, 2522, 2523, 2524, 2525
MC1_R	UniProtKB: Q6UR92	2526	2527	2528, 2529, 2530, 2531, 2532
MC1_R	UniProtKB: Q6UR94	2533	2534	2535, 2536, 2537, 2538, 2539
MC1_R	UniProtKB: Q6UR95	2540	2541	2542, 2543, 2544, 2545, 2546
MC1_R	UniProtKB: Q6UR96	2547	2548	2549, 2550, 2551, 2552, 2553
MC1_R	UniProtKB: Q6UR97	2554	2555	2556, 2557, 2558, 2559, 2560
MC1_R	UniProtKB: Q6UR98	2561	2562	2563, 2564, 2565, 2566, 2567
MC1_R	UniProtKB: Q6UR99	2568	2569	2570, 2571, 2572, 2573, 2574
MC1_R	UniProtKB: Q6URA0	2575	2576	2577, 2578, 2579, 2580, 2581
MC1_R	UniProtKB: Q86YW1	2582	2583	2584, 2585, 2586, 2587, 2588
MC1_R	UniProtKB: V9Q5S2	2589	2590	2591, 2592, 2593, 2594, 2595
MC1_R	UniProtKB: V9Q671	2596	2597	2598, 2599, 2600, 2601, 2602
MC1_R	UniProtKB: V9Q783	2603	2604	2605, 2606, 2607, 2608, 2609
MC1_R	UniProtKB: V9Q7F1	2610	2611	2612, 2613, 2614, 2615, 2616
MC1_R	UniProtKB: V9Q8N1	2617	2618	2619, 2620, 2621, 2622, 2623
MC1_R	UniProtKB: V9Q977	2624	2625	2626, 2627, 2628, 2629, 2630
MC1_R	UniProtKB: V9Q9P5	2631	2632	2633, 2634, 2635, 2636, 2637
MC1_R	UniProtKB: V9Q9R8	2638	2639	2640, 2641, 2642, 2643, 2644
MC1_R	UniProtKB: V9QAE0	2645	2646	2647, 2648, 2649, 2650, 2651
MC1_R	UniProtKB: V9QAR2	2652	2653	2654, 2655, 2656, 2657, 2658
MC1_R	UniProtKB: V9QAW3	2659	2660	2661, 2662, 2663, 2664, 2665
MC1_R	UniProtKB: V9QB02	2666	2667	2668, 2669, 2670, 2671, 2672

ES 2 753 259 T3

MC1_R	UniProtKB: V9QB58	2673	2674	2675, 2676, 2677, 2678, 2679
MC1_R	UniProtKB: V9QBY6	2680	2681	2682, 2683, 2684, 2685, 2686
MC1_R	UniProtKB: V9QC17	2687	2688	2689, 2690, 2691, 2692, 2693
MC1_R	UniProtKB: V9QC66	2694	2695	2696, 2697, 2698, 2699, 2700
MC1_R	UniProtKB: V9QCQ4	2701	2702	2703, 2704, 2705, 2706, 2707
MC1_R	UniProtKB: V9QDF4	2708	2709	2710, 2711, 2712, 2713, 2714
MC1_R	UniProtKB: V9QDN7	2715	2716	2717, 2718, 2719, 2720, 2721
MC1_R	UniProtKB: V9QDQ6	2722	2723	2724, 2725, 2726, 2727, 2728
mesotelina	UniProtKB: Q13421	2729	2730	2731, 2732, 2733, 2734, 2735
MITF	UniProtKB: O75030-8	2736	2737	2738, 2739, 2740, 2741, 2742
MITF	UniProtKB: O75030-9	2743	2744	2745, 2746, 2747, 2748, 2749
MITF	UniProtKB: O75030	2750	2751	2752, 2753, 2754, 2755, 2756
MMP1_1	UniProtKB: B3KQS8	2757	2758	2759, 2760, 2761, 2762, 2763
MMP7	UniProtKB: P09237	2764	2765	2766, 2767, 2768, 2769, 2770
MUC-1	Genbank: AAA60019	2771	2772	2773, 2774, 2775, 2776, 2777
MUM-1/m	RefSeq: NP_116242	2778	2779	2780, 2781, 2782, 2783, 2784
MUM-2/m	UniProtKB: Q9Y5R8	2785	2786	2787, 2788, 2789, 2790, 2791
MYO1A	UniProtKB: Q9UBC5	2792	2793	2794, 2795, 2796, 2797, 2798
MYO1B	UniProtKB: O43795	2799	2800	2801, 2802, 2803, 2804, 2805
MYO1C	UniProtKB: O00159	2806	2807	2808, 2809, 2810, 2811, 2812
MYO1D	UniProtKB: O94832	2813	2814	2815, 2816, 2817, 2818, 2819
MYO1E	UniProtKB: Q12965	2820	2821	2822, 2823, 2824, 2825, 2826
MYO1F	UniProtKB: O00160	2827	2828	2829, 2830, 2831, 2832, 2833
MYO1G	UniProtKB: B011T2	2834	2835	2836, 2837, 2838, 2839, 2840
MYO1H	RefSeq: NP_001094891	2841	2842	2843, 2844, 2845, 2846, 2847
NA17	UniProtKB: Q3V5L5	2848	2849	2850, 2851, 2852, 2853, 2854
NA88-A	Pubmed: 10790436	2855	2856	2857, 2858, 2859, 2860, 2861
Neo-PAP	UniProtKB: Q9BWT3	2862	2863	2864, 2865, 2866, 2867, 2868
NFYC/m	UniProtKB: Q13952	2869	2870	2871, 2872, 2873, 2874, 2875
NGEP	UniProtKB: Q6IWH7	2876	2877	2878, 2879, 2880, 2881, 2882
NPM	UniProtKB: P06748	2883	2884	2885, 2886, 2887, 2888, 2889
NRCAM	UniProtKB: Q92823	2890	2891	2892, 2893, 2894, 2895, 2896

ES 2 753 259 T3

NSE	UniProtKB: P09104	2897	2898	2899, 2900, 2901, 2902, 2903
NUF2	UniProtKB: Q9BZD4	2904	2905	2906, 2907, 2908, 2909, 2910
NY-ESO-1	UniProtKB: P78358	2911	2912	2913, 2914, 2915, 2916, 2917
OA1	UniProtKB: P51810	2918	2919	2920, 2921, 2922, 2923, 2924
OGT	UniProtKB: O15294	2925	2926	2927, 2928, 2929, 2930, 2931
OS-9	UniProtKB: B4DH11	2932	2933	2934, 2935, 2936, 2937, 2938
OS-9	UniProtKB: B4E321	2939	2940	2941, 2942, 2943, 2944, 2945
OS-9	UniProtKB: B7Z8E7	2946	2947	2948, 2949, 2950, 2951, 2952
OS-9	UniProtKB: Q13438	2953	2954	2955, 2956, 2957, 2958, 2959
osteocalcina	UniProtKB: P02818	2960	2961	2962, 2963, 2964, 2965, 2966
osteopontina	UniProtKB: AOA024RDE2	2967	2968	2969, 2970, 2971, 2972, 2973
osteopontina	UniProtKB: AOA024RDE6	2974	2975	2976, 2977, 2978, 2979, 2980
osteopontina	UniProtKB: A0A024RDJ0	2981	2982	2983, 2984, 2985, 2986, 2987
osteopontina	UniProtKB: B7Z351	2988	2989	2990, 2991, 2992, 2993, 2994
osteopontina	UniProtKB: F2YQ21	2995	2996	2997, 2998, 2999, 3000, 3001
osteopontina	UniProtKB: P10451	3002	3003	3004, 3005, 3006, 3007, 3008
p53	UniProtKB: P04637	3009	3010	3011, 3012, 3013, 3014, 3015
PAGE-4	UniProtKB: O60829	3016	3017	3018, 3019, 3020, 3021, 3022
PAI-1	UniProtKB: P05121	3023	3024	3025, 3026, 3027, 3028, 3029
PAI-2	UniProtKB: P05120	3030	3031	3032, 3033, 3034, 3035, 3036
PAP	UniProtKB: Q06141	3037	3038	3039, 3040, 3041, 3042, 3043
PAP	UniProtKB: Q53S56	3044	3045	3046, 3047, 3048, 3049, 3050
PATE	UniProtKB: Q8WXA2	3051	3052	3053, 3054, 3055, 3056, 3057
PAX3	UniProtKB: P23760	3058	3059	3060, 3061, 3062, 3063, 3064
PAX5	UniProtKB: Q02548	3065	3066	3067, 3068, 3069, 3070, 3071
PD1L1	UniProtKB: Q9NZQ7	3072	3073	3074, 3075, 3076, 3077, 3078
PDCD1	UniProtKB: Q15116	3079	3080	3081, 3082, 3083, 3084, 3085
PDEF	UniProtKB: O95238	3086	3087	3088, 3089, 3090, 3091, 3092
PECA1	UniProtKB: P16284	3093	3094	3095, 3096, 3097, 3098, 3099
PGCB	UniProtKB: Q96GW7	3100	3101	3102, 3103, 3104, 3105, 3106
PGFRB	UniProtKB: P09619	3107	3108	3109, 3110, 3111, 3112, 3113
Pim-1_quinasa	UniProtKB: A0A024RD25	3114	3115	3116, 3117, 3118, 3119, 3120

ES 2 753 259 T3

Pin-1	UniProtKB: 015428	3121	3122	3123, 3124, 3125, 3126, 3127
Pin-1	UniProtKB: Q13526	3128	3129	3130, 3131, 3132, 3133, 3134
Pin-1	UniProtKB: Q49AR7	3135	3136	3137, 3138, 3139, 3140, 3141
PLAC1	UniProtKB: Q9HBJ0	3142	3143	3144, 3145, 3146, 3147, 3148
PMEL	UniProtKB: P40967	3149	3150	3151, 3152, 3153, 3154, 3155
PML	UniProtKB: P29590	3156	3157	3158, 3159, 3160, 3161, 3162
POTEF	UniProtKB: A5A3EO	3163	3164	3165, 3166, 3167, 3168, 3169
POTE	UniProtKB: Q86YR6	3170	3171	3172, 3173, 3174, 3175, 3176
PRAME	UniProtKB: A0A024R1E6	3177	3178	3179, 3180, 3181, 3182, 3183
PRAME	UniProtKB: P78395	3184	3185	3186, 3187, 3188, 3189, 3190
PRDX5/m	UniProtKB: P30044	3191	3192	3193, 3194, 3195, 3196, 3197
PRM2	UniProtKB: P04554	3198	3199	3200, 3201, 3202, 3203, 3204
prostein	UniProtKB: Q96JT2	3205	3206	3207, 3208, 3209, 3210, 3211
proteinasa-3	UniProtKB: D6CHE9	3212	3213	3214, 3215, 3216, 3217, 3218
proteinasa-3	UniProtKB: P24158	3219	3220	3221, 3222, 3223, 3224, 3225
PSA	UniProtKB: P55786	3226	3227	3228, 3229, 3230, 3231, 3232
PSB9	UniProtKB: P28065	3233	3234	3235, 3236, 3237, 3238, 3239
PSCA	UniProtKB: D3DWI6	3240	3241	3242, 3243, 3244, 3245, 3246
PSCA	UniProtKB: O43653	3247	3248	3249, 3250, 3251, 3252, 3253
PSGR	UniProtKB: Q9H255	3254	3255	3256, 3257, 3258, 3259, 3260
PSM	UniProtKB: Q04609	3261	3262	3263, 3264, 3265, 3266, 3267
PTPRC	RefSeq: NP_002829	3268	3269	3270, 3271, 3272, 3273, 3274
RAB8A	UniProtKB: P61006	3275	3276	3277, 3278, 3279, 3280, 3281
RAGE-1	UniProtKB: Q9UQ07	3282	3283	3284, 3285, 3286, 3287, 3288
RARA	UniProtKB: P10276	3289	3290	3291, 3292, 3293, 3294, 3295
RASH	UniProtKB: P01112	3296	3297	3298, 3299, 3300, 3301, 3302
RASK	UniProtKB: P01116	3303	3304	3305, 3306, 3307, 3308, 3309
RASN	UniProtKB: P01111	3310	3311	3312, 3313, 3314, 3315, 3316
RGS5	UniProtKB: 015539	3317	3318	3319, 3320, 3321, 3322, 3323
RHAMM/CD168	UniProtKB: O75330	3324	3325	3326, 3327, 3328, 3329, 3330
RHOC	UniProtKB: P08134	3331	3332	3333, 3334, 3335, 3336, 3337
RSSA	UniProtKB: P08865	3338	3339	3340, 3341, 3342, 3343, 3344

ES 2 753 259 T3

RU1	UniProtKB: Q9UHH3	3345	3346	3347, 3348, 3349, 3350, 3351
RU2	UniProtKB: Q9UHG0	3352	3353	3354, 3355, 3356, 3357, 3358
RUNX1	UniProtKB: Q01196	3359	3360	3361, 3362, 3363, 3364, 3365
S-100	UniProtKB: V9HW39	3366	3367	3368, 3369, 3370, 3371, 3372
SAGE	UniProtKB: Q9NXZ1	3373	3374	3375, 3376, 3377, 3378, 3379
SART-_1	UniProtKB: O43290	3380	3381	3382, 3383, 3384, 3385, 3386
SART-2	UniProtKB: Q9UL01	3387	3388	3389, 3390, 3391, 3392, 3393
SART-3	UniProtKB: Q15020	3394	3395	3396, 3397, 3398, 3399, 3400
SEPR	UniProtKB: Q12884	3401	3402	3403, 3404, 3405, 3406, 3407
SIA7F	UniProtKB: Q969X2	3408	3409	3410, 3411, 3412, 3413, 3414
SIA8A	UniProtKB: Q92185	3415	3416	3417, 3418, 3419, 3420, 3421
SIAT9	UniProtKB: Q9UNP4	3422	3423	3424, 3425, 3426, 3427, 3428
SIRT2/m	UniProtKB: AOA024R0G8	3429	3430	3431, 3432, 3433, 3434, 3435
SIRT2/m	UniProtKB: Q8IXJ6	3436	3437	3438, 3439, 3440, 3441, 3442
SOX10	UniProtKB: P56693	3443	3444	3445, 3446, 3447, 3448, 3449
SP17	UniProtKB: Q15506	3450	3451	3452, 3453, 3454, 3455, 3456
SPNXA	UniProtKB: Q9NS26	3457	3458	3459, 3460, 3461, 3462, 3463
SPXN3	UniProtKB: Q5MJ09	3464	3465	3466, 3467, 3468, 3469, 3470
SSX-1	UniProtKB: Q16384	3471	3472	3473, 3474, 3475, 3476, 3477
SSX-2	UniProtKB: Q16385	3478	3479	3480, 3481, 3482, 3483, 3484
SSX3	UniProtKB: Q99909	3485	3486	3487, 3488, 3489, 3490, 3491
SSX-4	UniProtKB: O60224	3492	3493	3494, 3495, 3496, 3497, 3498
ST1A1	UniProtKB: P50225	3499	3500	3501, 3502, 3503, 3504, 3505
STAG 2	UniProtKB: Q8N3U4-2	3506	3507	3508, 3509, 3510, 3511, 3512
STAMP-1	UniProtKB: Q8NFT2	3513	3514	3515, 3516, 3517, 3518, 3519
STEAP-1	UniProtKB: A0A024RA63	3520	3521	3522, 3523, 3524, 3525, 3526
STEAP-1	UniProtKB: Q9UHE8	3527	3528	3529, 3530, 3531, 3532, 3533
Survivin-2B	UniProtKB: 015392-2	3534	3535	3536, 3537, 3538, 3539, 3540
survivin	UniProtKB: 015392	3541	3542	3543, 3544, 3545, 3546, 3547
SYCP1	UniProtKB: A0A024R0I2	3548	3549	3550, 3551, 3552, 3553, 3554
SYCP1	UniProtKB: B7ZLS9	3555	3556	3557, 3558, 3559, 3560, 3561
SYCP1	UniProtKB: Q15431	3562	3563	3564, 3565, 3566, 3567, 3568

ES 2 753 259 T3

SYCP1	UniProtKB: Q3MHC4	3569	3570	3571, 3572, 3573, 3574, 3575
SYT-SSX-1	UniProtKB: A4PIV7	3576	3577	3578, 3579, 3580, 3581, 3582
SYT-SSX-1	UniProtKB: A4PIV8	3583	3584	3585, 3586, 3587, 3588, 3589
SYT-SSX-2	UniProtKB: A4PIV9	3590	3591	3592, 3593, 3594, 3595, 3596
SYT-SSX-2	UniProtKB: A4PIW0	3597	3598	3599, 3600, 3601, 3602, 3603
TARP	UniProtKB: Q0VGM3	3604	3605	3606, 3607, 3608, 3609, 3610
TCRg	UniProtKB: A2JGV3	3611	3612	3613, 3614, 3615, 3616, 3617
TF2AA	UniProtKB: P52655	3618	3619	3620, 3621, 3622, 3623, 3624
TGFR2	UniProtKB: P37173	3625	3626	3627, 3628, 3629, 3630, 3631
TGM-4	UniProtKB: B2R7D1	3632	3633	3634, 3635, 3636, 3637, 3638
TIE2	UniProtKB: Q02763	3639	3640	3641, 3642, 3643, 3644, 3645
TKTL1	UniProtKB: P51854	3646	3647	3648, 3649, 3650, 3651, 3652
TPI/m	UniProtKB: P60174	3653	3654	3655, 3656, 3657, 3658, 3659
TRGV11	UniProtKB: Q99601	3660	3661	3662, 3663, 3664, 3665, 3666
TRGV9	UniProtKB: A4D1X2	3667	3668	3669, 3670, 3671, 3672, 3673
TRGV9	UniProtKB: Q99603	3674	3675	3676, 3677, 3678, 3679, 3680
TRGV9	UniProtKB: Q99604	3681	3682	3683, 3684, 3685, 3686, 3687
TRPC1	UniProtKB: P48995	3688	3689	3690, 3691, 3692, 3693, 3694
TRP-p8	UniProtKB: Q7Z2W7	3695	3696	3697, 3698, 3699, 3700, 3701
TSG10	UniProtKB: Q9BZW7	3702	3703	3704, 3705, 3706, 3707, 3708
TSPY1	UniProtKB: Q01534	3709	3710	3711, 3712, 3713, 3714, 3715
TVC_(TRGV3)	Genbank: M13231.1	3716	3717	3718, 3719, 3720, 3721, 3722
TX101	UniProtKB: Q9BY14-2	3723	3724	3725, 3726, 3727, 3728, 3729
tirosinasa	UniProtKB: A0A024DBG7	3730	3731	3732, 3733, 3734, 3735, 3736
tirosinasa	UniProtKB: L8B082	3737	3738	3739, 3740, 3741, 3742, 3743
tirosinasa	UniProtKB: L8B086	3744	3745	3746, 3747, 3748, 3749, 3750
tirosinasa	UniProtKB: L8B0B9	3751	3752	3753, 3754, 3755, 3756, 3757
tirosinasa	UniProtKB: O75767	3758	3759	3760, 3761, 3762, 3763, 3764
tirosinasa	UniProtKB: P14679	3765	3766	3767, 3768, 3769, 3770, 3771
tirosinasa	UniProtKB: U3M8N0	3772	3773	3774, 3775, 3776, 3777, 3778
tirosinasa	UniProtKB: U3M9D5	3779	3780	3781, 3782, 3783, 3784, 3785
tirosinasa	UniProtKB: U3M9J2	3786	3787	3788, 3789, 3790, 3791, 3792

TYRP1	UniProtKB: P17643	3793	3794	3795, 3796, 3797, 3798, 3799
TYRP2	UniProtKB: P40126	3800	3801	3802, 3803, 3804, 3805, 3806
UPA	UniProtKB: Q96NZ9	3807	3808	3809, 3810, 3811, 3812, 3813
VEGFR1	UniProtKB: B5A924	3814	3815	3816, 3817, 3818, 3819, 3820
WT1	UniProtKB: A0A0H5AUY0	3821	3822	3823, 3824, 3825, 3826, 3827
WT1	UniProtKB: P19544	3828	3829	3830, 3831, 3832, 3833, 3834
WT1	UniProtKB: Q06250	3835	3836	3837, 3838, 3839, 3840, 3841
XAGE1	UniProtKB: Q9HD64	3842	3843	3844, 3845, 3846, 3847, 3848
IL-10	UniProtKB: P22301	4169	4170	4171, 4172, 4173, 4174, 4175, 4176
IL-5	UniProtKB: P05113	4585	4586	4587, 4588, 4589, 4590, 4591, 4592
M-CSF	UniProtKB: P09603	4705	4706	4707, 4708, 4709, 4710, 4711, 4712
TGFbeta1	UniProtKB: P01137	4785	4786	4787, 4788, 4789, 4790, 4791, 4792
Caspasa_8	UniProtKB: Q14790	7113	7114	7115, 7116, 7117, 7118, 7119, 7120
SERPINB5	UniProtKB: P36952	7465	7466	7467, 7468, 7469, 7470, 7471, 7472
calreticulina	UniProtKB: B4DHR1	7569	7570	7571, 7572, 7573, 7574, 7575, 7576
calreticulina	UniProtKB: B4E2Y9	7577	7578	7579, 7580, 7581, 7582, 7583, 7584
calreticulina	UniProtKB: P27797	7585	7586	7587, 7588, 7589, 7590, 7591, 7592
calreticulina	UniProtKB: Q96L12	7593	7594	7595, 7596, 7597, 7598, 7599, 7600
N-myc	UniProtKB: P04198	9987	9988	9989, 9990, 9991, 9992, 9993, 9994

- 5 En una realización más preferente, la composición aquí descrita comprende al menos un ARN, preferiblemente un ARNm, que comprende al menos una región codificante que codifica al menos un antígeno tumoral o un fragmento o variante del mismo, donde la al menos una región codificante comprende una secuencia de ARN que es idéntica o al menos un 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% idéntica a las secuencias de ARN de acuerdo con las SEQ ID NO descritas en la Tabla 9.

- 10 Además, los antígenos tumorales también pueden abarcar antígenos idiotípicos asociados con un cáncer o una enfermedad tumoral, particularmente linfoma o una enfermedad asociada con linfoma, donde dicho antígeno idiotípico es un idiotipo de inmunoglobulina de una célula sanguínea linfoide o un idiotipo receptor de células T de una célula sanguínea linfoide.

En una realización particularmente preferente, la composición de ARN aquí descrita comprende al menos un ARN, donde el al menos un ARN codifica los siguientes antígenos:

- 15
- STEAP (seis antígenos epiteliales transmembrana de la próstata);
 - PSA (antígeno prostático específico);
 - PSMA (antígeno de membrana específico de próstata);
 - PSCA (antígeno de células madre de próstata);
 - PAP (fosfatasa ácida prostática) y
 - MUC1 (Mucina 1).

- 20 En otra realización particularmente preferente, la composición de ARN aquí descrita comprende al menos un ARN, donde el al menos un ARN codifica los siguientes antígenos:

- 5T4 (glucoproteína trofoblasto, TPBG);
- Survivina (proteína 5 que contiene replicación Baculoviral IAP; BIRC5);
- NY-ESO-1 (carcinoma de células escamosas esofágicas de Nueva York 1; CTAG1B);
- MAGE-C1 (familia de antígenos de melanoma C1);
- 5 • MAGE-C2 (familia de antígenos de melanoma C2) y
- MUC1 (Mucina 1).

9. Inhibidores de β -catenina

10 En otra realización preferente de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN, preferiblemente, ARNm, codifica para al menos un inhibidor de β -catenina o un fragmento o variante del mismo. Preferiblemente, el ARN que codifica al menos un inhibidor de β -catenina codifica una proteína inhibidora o una proteína mutante de negativa dominante de la ruta de β -catenina. Inhibidores de β -catenina particularmente preferentes de acuerdo con la presente descripción comprenden derivados de TAT-NLS-BLBD-6, axin-1, TCF-4, GSK-3 β , DKK-1, derivados Dvl-1 o fragmentos de los mismos.

15 Según lo revisado por Thakur y Mishra (Thakur R, Mishra DP. Pharmacological modulation of beta-catenin and its applications in cancer therapy. J Cell Mol Med. 2013 Apr;17(4):449-56. doi: 10.1111/jcmm.12033), la beta-catenina (β -catenina) es una proteína multifuncional que juega un papel importante en la homeostasis fisiológica. Actúa como regulador transcripcional y como proteína adaptadora para la adhesión intracelular. La β -catenina es necesaria para el establecimiento y mantenimiento de las capas epiteliales y proporciona un enlace entre las uniones intracelulares y las proteínas del citoesqueleto. La β -catenina está regulada por la señalización Wnt. En ausencia de Wnt, la señal aguas abajo de la β -catenina se fosforila, lo que lleva a su ubiquitinación y, finalmente, a la degradación proteica. Diversos informes en la literatura han relacionado la β -catenina con la transformación maligna de las células normales. Por ejemplo, la señalización Wnt y la localización nuclear de β -catenina se asociaron con la diferenciación de hepatocitos en un fenotipo tumoral. De manera similar, en células pulmonares epiteliales y pancreáticas, la activación de β -catenina fue suficiente para la inducción de la transformación oncogénica. Además de ser una fuerza impulsora de la transformación maligna, la expresión y localización anormal de β -catenina se ha asociado con un mayor potencial metastásico. Recientemente se ha demostrado que la señalización de β -catenina previene la infiltración de células T y la inmunidad antitumoral, limitando fuertemente los efectos potenciales de la inmunoterapia. Dado que la β -catenina desempeña un papel importante y perjudicial en el origen tumoral, se ha propuesto como una supuesta diana farmacológica.

10. Activadores de la vía STING

35 En una realización preferente adicional de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN, preferiblemente ARNm, codifica para al menos un activador de la ruta STING (estimulador de genes interferón) o un fragmento o variante de la misma. Preferiblemente, el ARN que codifica al menos un activador (estimulador) de la ruta STING codifica una proteína activadora o una proteína constitutivamente activa de la ruta STING, preferiblemente DDX41, STING, cGAS, IRF3, TBK1 o STAT6 o un fragmento o variante de la misma.

40 Según lo revisado por Woo et al. (Woo SR, Corrales L, Gajewski TF. The STING pathway and the T cell-inflamed tumor microenvironment. Trends Immunol. 2015 Mar 7. pii: S1471-4906(15)00019-8. doi: 10.1016/j.it.2015.02.003) y Dubensky et al. Dubensky TW Jr, Kanne DB, Leong ML. Rationale, progress and development of vaccines utilizing STING-activating cyclic dinucleotide adjuvants. Ther Adv Vaccines. 2013 Nov;1(4):131-43. doi: 10.1177/2051013613501988), la llamada vía STING (STING - estimulador de genes de interferón) es responsable de detectar el ADN citoplasmático e inducir mediadores proinflamatorios. Después de la unión del ADN en el citoplasma, la STING activa la señalización a través del eje de la quinasa 1 de unión a TANK-(TBK-1)/IRF-3, lo que resulta en la producción de IFN- β . Se ha demostrado que esta vía desempeña un papel importante en la detección ADN-virus, así como en algunos trastornos autoinmunes. Datos recientes han identificado la vía STING como absolutamente necesaria para inducir el cebado espontáneo de células T frente a antígenos tumorales *in vivo*. Se detectó ADN tumoral dentro de DC infiltrantes de tumor, lo que condujo a la producción de IFN- β y a la activación de células T. Por tanto, la aplicación intratumoral de agonistas de moléculas pequeñas de la vía STING ha demostrado su eficacia en animales portadores de tumores. Los agonistas de la vía STING también se han evaluado como adyuvantes de vacunas, con potencia para inducir inmunidad celular y humoral en los huéspedes vacunados.

11. Moduladores de punto de control (check-point)

55 En una realización preferente adicional de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN, preferiblemente ARNm, comprende al menos una región de codificación que codifica para al menos un modulador de punto de control o un fragmento o variante del mismo.

Se han descubierto moléculas reguladoras negativas de superficie de células T que están sobre-reguladas en las células T activadas para amortiguar su actividad, lo que resulta en una destrucción menos efectiva de las células tumorales. Estas moléculas inhibitoras se denominaron moléculas coestimuladoras negativas debido a su homología con la molécula coestimuladora de células T CD28. Estas proteínas, también denominadas

5

presentadoras de antígeno (Bour-Jordan et al., 2011. Immunol Rev. 241 (1): 180-205).

En realizaciones preferentes aquí descritas, el modulador de punto de control es un modulador de B7-1/CD80, B7-2/CD86, B7-H1/PD-L1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, B7-H7/HHLA2, BTLA, CD28, CD28H/IGPR-1, CTLA-4, ICOS, PD-1, PDL2/B7-DC, PDCD6, VISTA/B7-H5/PD-1H, BTN1A1/butirolina, BTN2A1, BTN2A2/butirolina 2A2, BTN3A1/2, BTN3A2, BTN3A3, BTLN2/butirolinil tipo 2, BTLN3, BTLN4, BTLN6, BTLN8, BTLN9, BTLN10, CD277/BTN3A1, LAIR1, LAIR2, CD96, CD155/PVR, CRTAM, DNAM-1/CD226, Nectina-2/CD112, Nectina-3, TIGIT, LILRA3/CD85e, LILRA4/CD85g/ILT7, LILRB1/CD85j/ILT2, LILRB2/CD85d/ILT4, LILRB3/CD85a/ILT5, LILRB4/CD85k/ILT3, 4-1BB/TNFRSF9/CD137, ligando 4-1BB/TNFSF9, BAFF/BLyS/TNFSF13B, BAFF R/TNFRSF13C, CD27/TNFRSF7, ligando CD27/TNFSF7, CD30/TNFRSF8, ligando CD30/TNFSF8, CD40/TNFRSF5, ligando CD40/TNFSF5, DR3/TNFRSF25, GITR/TNFRSF18, ligando GITR/TNFSF18, HVEM/TNFRSF14, LIGHT/TNFSF14, Linfotóxina-alfa/TNF-beta, OX40/TNFRSF4, ligando OX40/TNFSF4, RELT/TNFRSF19L, TACI/TNFRSF13B, TL1A/TNFSF15, TNFalfa, TNF RII/TNFRSF1B, 2B4/CD244/SLAMF4, BLAME/SLAMF8, CD2, CD2F-10/SLAMF9, CD48/SLAMF2, CD58/LFA-3, CD84/SLAMF5, CD229/SLAMF3, CRACC/SLAMF7, NTB-A/SLAMF6, SLAM/CD150, TIM-1/KIM1/HAVCR, TIM-3, TIM-4, CD7, CD96, CD160, CD200, CD300a/LMIR1, CRTAM, DAP12, Dectina-1/CLEC7A, DPPIV/CD26, EphB6, integrina alfa 4 beta 1, integrina alfa 4 beta 7/LPAM-1, LAG-3, TIM-1/KIM-1/HAVCR, TIM-4, TSLP R, o cualquier combinación de los mismos.

10

15

20

En el contexto de la presente descripción, un modulador de punto de control se define aquí como una molécula, preferiblemente una proteína, por ejemplo un anticuerpo, un receptor negativo dominante, un receptor señuelo, o un ligando o un fragmento o variante del mismo, que modula la función de una proteína de punto de control inmune, por ejemplo que inhibe o reduce la actividad de los inhibidores del punto de control (o moléculas inhibitoras del punto de control) o estimula la actividad de los estimuladores del punto de control (o moléculas estimuladoras del punto de control). Por tanto, los moduladores de punto de control como se definen aquí influyen en la actividad de las moléculas de punto de control.

25

30

En este contexto, las moléculas inhibitoras de punto de control se definen como inhibidores de punto de control y pueden usarse como sinónimos. Además, las moléculas de punto de control estimuladoras se definen como estimuladores de punto de control y pueden usarse como sinónimos.

Moléculas de punto de control inhibitoras preferentes que pueden ser inhibidas por un modulador de punto de control en el contexto de la descripción son PD-1, PD-L1, CTLA-4, PD-L2, LAG3, TIM3/HAVCR2, 2B4, A2aR, B7H3, B7H4, BTLA, CD30, CD160, GAL9, HVEM, IDO1, IDO2, KIR, LAIR1 y VISTA.

35

Moléculas de punto de control estimulante preferentes que pueden ser estimuladas por un modulador de punto de control en el contexto de la presente descripción son CD2, CD27, CD28, CD40, CD137, CD226, CD276, GITR, ICOS, OX-40 y CD70.

40

Preferiblemente, el modulador de punto de control se selecciona de anticuerpos agonistas, anticuerpos antagonistas, ligandos, receptores negativos dominantes y receptores señuelo o combinaciones de los mismos.

Los métodos para generar y usar anticuerpos codificados con ARNm son conocidos en la técnica (por ejemplo WO2008/083949).

45

Preferiblemente, el anticuerpo agonista se selecciona de la siguiente lista: anti-4-1BB, anti-OX40, anti-GITR, anti-CD28, anti-CD27, anti-CD-40, anti-ICOS, anti-TNFRSF25 y anti-LIGHT .

OX40 es miembro de la superfamilia de receptores TNFR y se expresa en la superficie de los linfocitos T CD4+ y CD8+ de mamíferos activados por antígeno. El ligando OX40 (OX40L, también conocido como gp34, ACT-4-L y CD252) es una proteína que interactúa específicamente con el receptor OX40. El término OX40L incluye el ligando OX40 completo, el ligando OX40 soluble y proteínas de fusión que comprenden una parte funcionalmente activa del ligando OX40 unido covalentemente a un segundo resto, por ejemplo a un dominio proteico. También se incluyen dentro de la definición de OX40L variantes que se diferencian en la secuencia de aminoácidos del OX40L natural, pero que conservan la capacidad de unirse específicamente al receptor OX40. Además, se incluyen dentro de la definición de OX40L variantes que mejoran la actividad biológica de OX40. Un agonista de OX40 es una molécula que induce o mejora la actividad biológica de OX40, por ejemplo la transducción de señal mediada por OX40. Un agonista de OX40 se define preferiblemente aquí como una molécula de unión capaz de unirse específicamente a OX40. Por tanto, el agonista de OX40 puede ser cualquier

50

55

agonista que se una a OX40 y que sea capaz de estimular la señalización de OX40. En este contexto, el agonista OX40 puede ser un anticuerpo agonista que se une a OX40.

5 Agonistas de OX40 y anticuerpos monoclonales anti-OX40 se describen en las WO1995/021251, WO1995/012673 y WO1995/21915. Es particularmente preferente el anticuerpo anti-OX40 9B12, un anticuerpo monoclonal anti-OX40 murino dirigido contra el dominio extracelular de OX40 humano (Weinberg et al., 2006.

J. Immunother. 29(6):575-585).

Preferiblemente, el anticuerpo antagonista se selecciona de la lista de anti-CTLA4, anti-PD1, anti-PD-L1, anti-Vista, anti-Tim-3, anti-LAG-3 y anti-BTLA.

10 El antígeno 4 de linfocitos T citotóxicos (CTLA-4) se expresa principalmente dentro del compartimento intracelular de las células T. Después de un estímulo potente o duradero a una célula T naive a través del receptor de células T (TCR), el CTLA-4 se transporta a la superficie celular y se concentra en la sinapsis inmunológica. El CTLA-4 luego compite con CD28 por CD80/CD86 y sub-modula la señalización de TCR vía los efectos sobre la señalización de Akt. Así, CTLA-4 funciona fisiológicamente como un amortiguador de señal (Weber, J. 2010. Semin. Oncol 37(5):430-9).

15 Son particularmente preferentes los anticuerpos anti-CTLA-4 ipilimumab (Yervoy®), tremelimumab y AGEN-1884.

20 Los miembros de la ruta PD-1 son todas aquellas proteínas asociadas a la señalización PD-1. Por un lado, podrían ser proteínas que inducen la señalización de PD-1 aguas arriba de PD-1, por ejemplo los ligandos de PD-1 PD-L1 y PD-L2 y el receptor de transducción de señales PD-1. Por otro lado, podrían ser proteínas de transducción de señales aguas abajo del receptor PD-1. Son particularmente preferentes como miembros de la ruta PD-1 en el contexto de la presente descripción PD-1, PD-L1 y PD-L2.

25 En el contexto de la presente descripción, un antagonista de la ruta PD-1 se define preferiblemente aquí como un compuesto capaz de perjudicar la ruta de señalización de PD-1, preferiblemente la señalización mediada por el receptor PD-1. Por tanto, el antagonista de la ruta PD-1 puede ser cualquier antagonista dirigido contra cualquier miembro de la ruta PD-1 capaz de antagonizar la señalización de la ruta PD-1. En este contexto, el antagonista puede ser un anticuerpo antagonista como se define aquí dirigido a cualquier miembro de la ruta PD-1, preferiblemente dirigido contra el receptor PD-1, PD-L1 o PD-L2. Este anticuerpo antagonista también puede estar codificado por un ácido nucleico. Además, el antagonista de la ruta PD-1 puede ser un fragmento del receptor PD-1 que bloquea la actividad de los ligandos PD1. B7-1 o sus fragmentos también pueden actuar como ligandos antagonistas de PD1. Además, un antagonista de la ruta PD-1 puede ser una proteína que comprende (o un ácido nucleico que codifica) una secuencia de aminoácidos capaz de unirse a PD-1, pero que evita la señalización de PD-1, por ejemplo inhibiendo la interacción PD-1 y B7-H1 o B7-DL (WO2014127917).

35 Son particularmente preferentes los anticuerpos anti-PD1 Nivolumab (MDX-1106/BMS-936558/ONO-4538), (Brahmer et al., 2010. J Clin Oncol. 28(19):3167-75; PMID: 20516446); Pidilizumab (CT-011), (Berger et al., 2008. Clin Cancer Res. 14(10):3044-51; PMID: 18483370); Pembrolizumab (MK-3475, SCH 900475); AMP-224 y MEDI0680 (AMP-514)

Son particularmente preferentes los anticuerpos anti-PD-L1 MDX-1105/BMS-936559 (Brahmer et al. 2012. N Engl J Med. 366(26):2455-65; PMID: 22658128); atezolizumab (MPDL3280A/RG7446); durvalumab (MEDI4736) y avelumab (MSB0010718).

40 De acuerdo con la presente descripción, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN aquí descrita codifica para el al menos un anticuerpo o fragmentos o variantes del mismo de la Tabla 10. Es particularmente preferente que la composición que contiene ARN comprenda al menos un ARN que codifica la cadena pesada de un anticuerpo particular o fragmentos o variantes de la misma y al menos otro ARN que codifique la cadena ligera del mismo anticuerpo particular o fragmentos o variantes de la misma.

45 Tabla 10: Anticuerpos dirigidos contra moléculas de punto de control

Nombre	Diana
Urelumab	4-1BB/CD137
PF-05082566	4-1BB/CD137
8H9	B7-H3
Enoblituzumab	B7-H3
Ipilimumab	CD152/CTLA-4
Ticilimumab (= tremelimumab)	CD152/CTLA-4
Tremelimumab	CD152/CTLA-4

Varlilumab	CD27
Teneliximab	CD40
Vorsetuzumab mafodotin	CD70
Lirilumab	KIR2D
GSK-3174998	OX40
MEDI-6469	OX40
MEDI-6383	OX40
MEDI-0562	OX40
PF-04518600	OX40
RG-7888	OX40
PF-06801591	PD-1
BGBA-317	PD-1
MEDI-0680	PD-1
MK-3475	PD-1
Nivolumab	PD-1
PDR-001	PD-1
Pembrolizumab	PD-1
Pidilizumab	PD-1
REGN-2810	PD-1
SHR-1210	PD-1
TSR-042	PD-1
MDX-1106	PD-1
Merck 3745	PD-1
CT-011	PD-1
MEDI-0680	PD-1
PDR001	PD-1
REGN2810	PD-1
BGB-108	PD-1
BGB-A317	PD-1
AMP-224	PD-1
Atezolizumab	PD-L1 (CD274)
Avelumab	PD-L1 (CD274)
BMS-936559	PD-L1 (CD274)
Durvalumab	PD-L1 (CD274)
MEDI-4736	PD-L1 (CD274)
MPDL33280A	PD-L1 (CD274)
YW243.55.S70	PD-L1 (CD274)
MDX-1105	PD-L1 (CD274)
MSB0010718C	PD-L1 (CD274)

5 En una realización preferente adicional, el modulador del punto de control es un receptor señuelo (por ejemplo un receptor soluble). Preferiblemente, el receptor señuelo es un receptor PD1 soluble. En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN aquí descrita comprende una secuencia de ARN que es idéntica o al menos un 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84 %, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% idéntica a la secuencia de ARN de acuerdo con la SEQ ID NO: 389, que codifica un receptor PD-1 soluble.

10 En otra realización preferente de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN, preferiblemente un ARNm, codifica para al menos un ligando que funciona como modulador de punto de control. Preferiblemente, el ligando es el ligando CD40 (CD40L). En una realización preferente adicional de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN, preferiblemente un ARNm, codifica para al menos un ligando que funciona como un modulador de punto de control. Preferiblemente, el ligando es el ligando CD40 (CD40L). Con mayor preferencia, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN aquí descrita comprende una secuencia de ARN que es idéntica o al menos un 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85 %, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% idéntica a la secuencia de ARN según la SEQ ID NO: 10073 que codifica CD40L.

12. Activadores inmunes innatos

20 En este contexto, los activadores inmunes innatos pueden seleccionarse de mamíferos, en particular proteínas adyuvantes humanas, que típicamente comprenden cualquier proteína o péptido humano capaz de provocar una respuesta inmune innata (en un mamífero), por ejemplo como una reacción de la unión de un ligando TLR

exógeno a un TLR. Más preferiblemente, las proteínas adyuvantes humanas se seleccionan del grupo consistente en proteínas que son componentes y ligandos de las redes de señalización de los receptores de reconocimiento de patrones que incluyen TLR, NLR y RLH, incluyendo TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11; NOD1, NOD2, NOD3, NOD4, NOD5, NALP1, NALP2, NALP3, NALP4, NALP5, NALP6, NALP6, NALP7, NALP7, NALP8, NALP9, NALP10, NALP11, NALP12, NALP13, NALP14, I
 5 IPAF, NAIP, CIITA, RIG-I, MDA5 y LGP2, los transductores de señal de señalización TLR que incluyen proteínas adaptadoras, incluyendo, por ejemplo, Trif y Cardif; componentes de la señalización de GTPasas - pequeñas (RhoA, Ras, Rac1, Cdc42, Rab, etc.), componentes de la señalización PIP (PI3K, Src-quinasas, etc.), componentes de la señalización dependiente de MyD88 (MyD88, IRAK1, IRAK2, IRAK4, TIRAP, TRAF6, etc.),
 10 componentes de la señalización independiente de MyD88 (TICAM1, TICAM2, TRAF6, TBK1, IRF3, TAK1, IRAK1, etc.); quinasas activadas, incluyendo, por ejemplo, Akt, MEKK1, MKK1, MKK3, MKK4, MKK6, MKK7, ERK1, ERK2, GSK3, PKC quinasas, PKD quinasas, GSK3 quinasas, JNK, p38MAPK, TAK1, IKK y TAK1; factores de transcripción activados, incluyendo, por ejemplo, NF- κ B, c-FOS, c-Jun, c-Myc, CREB, AP-1, Elk-1, ATF2, IRF-3, IRF-7.

15 Pueden seleccionarse además proteínas adyuvantes de mamíferos, en particular humanas, del grupo consistente en proteínas de choque térmico, como HSP10, HSP60, HSP65, HSP70, HSP75 y HSP90, gp96, fibrinógeno, dominio extra de repetición TyplII A de fibronectina; o componentes del sistema de complemento, incluyendo C1q, MBL, C1r, C1s, C2b, Bb, D, MASP1, MASP-2, C4b, C3b, C5a, C3a, C4a, C5b, C6, C7, C8, C9, CR1, CR2, CR3, CR4, C1qR, C1INH, C4bp, MCP, DAF, H, I, P y CD59, o genes diana inducidos que
 20 incluyen, por ejemplo, beta-defensina, proteínas de superficie celular; o proteínas adyuvantes humanas, incluyendo trif, ligando flt-3, Gp96 o fibronectina, etc., o cualquier homólogo de especie de cualquiera de las proteínas adyuvantes humanas anteriores. Además, puede emplearse HGMB1 como proteína adyuvante.

Además, las proteínas adyuvantes de mamíferos, en particular humanas, pueden comprender citoquinas que inducen o potencian una respuesta inmune innata, incluyendo IL-1 alfa, IL1 beta, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL -
 25 12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, TNFalfa, IFNalfa, IFNbeta, IFNgamma, GM-CSF, G-CSF, M-CSF; quimioquinas, incluyendo IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1alfa, RANTES, Eotaxin, CCL21; citoquinas que son liberadas de macrófagos, incluyendo IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 y TNF-alfa; así como IL-1R1 e IL-1 alfa.

Por tanto, en este contexto, es particularmente preferente que el al menos un ARN codifique para al menos un activador inmune innato, preferiblemente una proteína adyuvante, más preferiblemente una proteína adyuvante
 30 humana, o un fragmento o variante de la misma.

En este contexto, es particularmente preferente que la variante activa constitutiva I de una proteína adyuvante esté codificada por al menos un ARN, preferiblemente una variante activa constitutiva de RIG-1 (Δ RIGI).

En otra realización preferente, el al menos un ARN codifica HGMB1 como activador inmune innato, o un fragmento o variante del mismo.

35 De acuerdo con realizaciones preferentes en el contexto de la presente descripción, pueden seleccionarse los activadores inmunes innatos de cualquier activador inmunitario innato seleccionado del grupo consistente en CD55; Akt; ATF2; C1QBP; C1QC; Cardif; CCL11; CCL2; CCL21; CCL3; CCL5; CD59, beta-defensina; Cdc42; CFAD; componente-sistema-complemento-C1INH; componente-sistema-complemento-C1qR, componente-sistema-complemento-C1s; componente-sistema-complemento-C4bp; componente-sistema-complemento-C6; componente-sistema-complemento-C7; componente-sistema-complemento-C8; componente-sistema-complemento-C9; componente-sistema-complemento-CR2; componente-sistema-complemento-CR3
 40 componente-sistema-complemento-MASP-1; componente-sistema-complemento-MASP-2; componente-sistema-complemento-MBL; componente-sistema-complemento-MCP; CREB3; CREB3L1; CREB3L3; CREB3L4; CREB5; CRTC2; CXCL10; CXCL8; DJB11; DJB13; DJB14; DJC10; DJC12; DJC14; DJC15; DJC16; DJC17; DJC18; DJC22; DJC24; DJC25; DJC27; DJC28; DJC30; DNAJB12; DNAJC11; DNAJC21; DNJA1; DNJA2; DNJA3; DNJA4; DNJB1; DNJB2; DNJB3; DNJB4; DNJB5; DNJB6; DNJB7; DNJB8; DNJB9; DNJC1; DNJC2; DNJC3; DNJC4; DNJC5; DNJC7; DNJC8; DNJC9; Elk-1; ERK1; ERK2; fibrinógeno; fibronectina; FLT3_ligand; FOS; G-CSF; GM-CSF; GRP94 (gp96); GSK3A; GSK3B; HS71A; HS71B; HSC70; HSP10; HSP60; HSP70; HSP75; HSP90; HSP90B1; IFNalfa; IFNB; IFNG; IKK; IL-1; IL-1_alfa; IL-1_beta; IL-12; IL13; IL-15; IL-16; IL-17A; IL-18; IL-1R1; IL-2; IL-21; IL-23; IL-6; IL-7; IL-9; IRAK1; IRAK2; IRF3; IRF-7; JNK; KPCB; KPCD; KPCD1; KPCD3; KPCE; KPCG; KPCI; KPCL; KPCT; KPCZ; I IPAF; LGP2; M-CSF; MDA5; MK11; MK12; MK13; MK14; MKK1; MKK3; MKK4; MKK6; MKK7; MSTP104; MyD88; NALP10; NALP11; NALP12; NALP13; NALP2; NALP3; NALP4; NALP5; NALP6; NALP7; NALP8; NALP9; NF-kappaB; NLRP14; NOD1; NOD2; NOD3; PI3K; PKD2; PKN1; PKN2; PKN3; PRKCA; PRKD2; Rab; Rac1; RASH; RASK; RASN; RhoA; RIG-I; Src-quinasas; proteína surfactante A; proteína surfactante D; TAK1; TBK1; TICAM1; TICAM2; TIRAP; TLR1; TLR10; TLR2; TLR3; TLR4; TLR5; TLR6; TLR7; TLR8; TLR9; TNF; TRAF6, preferiblemente como se describe en la Tabla 11. Son particularmente preferentes en este contexto las secuencias de ARN que
 55 codifican un activador inmune innato de acuerdo con la Tabla 11.

Tabla 11: Activadores inmunes innatos (proteínas adyuvantes humanas)

Nombre Gen	Proteína Nº acceso	Secuencia proteína SEQ ID NO	Secuencia ARN tipo salvaje SEQ ID NO	Secuencia ARN optimizada SEQ ID NO
CD55	UniProtKB: B1AP15	909	910	911, 912, 913, 914, 915
CD55	UniProtKB: D3DT85	916	917	918, 919, 920, 921, 922
CD55	UniProtKB: D3DT86	923	924	925, 926, 927, 928, 929
CD55	UniProtKB: P08174	930	931	932, 933, 934, 935, 936
fibronectina	UniProtKB: A0A024R5I6	1567	1568	1569, 1570, 1571, 1572, 1573
fibronectina	UniProtKB: A0A024RB01	1574	1575	1576, 1577, 1578, 1579, 1580
fibronectina	UniProtKB: A0A024RDT9	1581	1582	1583, 1584, 1585, 1586, 1587
fibronectina	UniProtKB: A0A024RDV5	1588	1589	1590, 1591, 1592, 1593, 1594
fibronectina	UniProtKB: A6NH44	1595	1596	1597, 1598, 1599, 1600, 1601
fibronectina	UniProtKB: A8K6A5	1602	1603	1604, 1605, 1606, 1607, 1608
fibronectina	UniProtKB: B2R627	1609	1610	1611, 1612, 1613, 1614, 1615
fibronectina	UniProtKB: B3KXM5	1616	1617	1618, 1619, 1620, 1621, 1622
fibronectina	UniProtKB: B4DIC5	1623	1624	1625, 1626, 1627, 1628, 1629
fibronectina	UniProtKB: B4DN21	1630	1631	1632, 1633, 1634, 1635, 1636
fibronectina	UniProtKB: B4DS98	1637	1638	1639, 1640, 1641, 1642, 1643
fibronectina	UniProtKB: B4DTH2	1644	1645	1646, 1647, 1648, 1649, 1650
fibronectina	UniProtKB: B4DTK1	1651	1652	1653, 1654, 1655, 1656, 1657
fibronectina	UniProtKB: B4DU16	1658	1659	1660, 1661, 1662, 1663, 1664
fibronectina	UniProtKB: B7Z3W5	1665	1666	1667, 1668, 1669, 1670, 1671
fibronectina	UniProtKB: B7Z939	1672	1673	1674, 1675, 1676, 1677, 1678
fibronectina	UniProtKB: G5E9X3	1679	1680	1681, 1682, 1683, 1684, 1685
fibronectina	UniProtKB: Q9H382	1686	1687	1688, 1689, 1690, 1691, 1692
FOS	UniProtKB: P01100	1693	1694	1695, 1696, 1697, 1698, 1699
HS71A	UniProtKB: P0DMV8	1938	1939	1940, 1941, 1942, 1943, 1944
HS71B	UniProtKB: P0DMV9	1945	1946	1947, 1948, 1949, 1950, 1951
RASH	UniProtKB: P01112	3296	3297	3298, 3299, 3300, 3301, 3302
RASK	UniProtKB: P01116	3303	3304	3305, 3306, 3307, 3308, 3309
RASN	UniProtKB: P01111	3310	3311	3312, 3313, 3314, 3315, 3316
FLT3_ligando	Genbank: AAA90950.1	3913	3914	3915, 3916, 3917, 3918, 3919, 3920

ES 2 753 259 T3

FLT3_ligando	UniProtKB: P49771	3921	3922	3923, 3924, 3925, 3926, 3927, 3928
G-CSF	UniProtKB: P09919	3929	3930	3931, 3932, 3933, 3934, 3935, 3936
GM-CSF	UniProtKB: P04141	3945	3946	3947, 3948, 3949, 3950, 3951, 3952
IFNalfa	UniProtKB: G9JKF1	3953	3954	3955, 3956, 3957, 3958, 3959, 3960
IFNalfa	UniProtKB: P01562	3961	3962	3963, 3964, 3965, 3966, 3967, 3968
IFNalfa	UniProtKB: P01563	3969	3970	3971, 3972, 3973, 3974, 3975, 3976
IFNalfa	UniProtKB: P01566	3977	3978	3979, 3980, 3981, 3982, 3983, 3984
IFNalfa	UniProtKB: P01567	3985	3986	3987, 3988, 3989, 3990, 3991, 3992
IFNalfa	UniProtKB: P01568	3993	3994	3995, 3996, 3997, 3998, 3999, 4000
IFNalfa	UniProtKB: P01569	4001	4002	4003, 4004, 4005, 4006, 4007, 4008
IFNalfa	UniProtKB: P01570	4009	4010	4011, 4012, 4013, 4014, 4015, 4016
IFNalfa	UniProtKB: P01571	4017	4018	4019, 4020, 4021, 4022, 4023, 4024
IFNalfa	UniProtKB: P05013	4025	4026	4027, 4028, 4029, 4030, 4031, 4032
IFNalfa	UniProtKB: P05014	4033	4034	4035, 4036, 4037, 4038, 4039, 4040
IFNalfa	UniProtKB: P05015	4041	4042	4043, 4044, 4045, 4046, 4047, 4048
IFNalfa	UniProtKB: P32881	4049	4050	4051, 4052, 4053, 4054, 4055, 4056
IFNalfa	UniProtKB: Q14618	4057	4058	4059, 4060, 4061, 4062, 4063, 4064
IFNalfa	UniProtKB: Q86UP4	4065	4066	4067, 4068, 4069, 4070, 4071, 4072
IFNB	UniProtKB: P01574	4073	4074	4075, 4076, 4077, 4078, 4079, 4080
IFNB	UniProtKB: Q15943	4081	4082	4083, 4084, 4085, 4086, 4087, 4088
IFNG	UniProtKB: P01579	4089	4090	4091, 4092, 4093, 4094, 4095, 4096
IFNG	UniProtKB: Q14609	4097	4098	4099, 4100, 4101, 4102, 4103, 4104
IFNG	UniProtKB: Q14610	4105	4106	4107, 4108, 4109, 4110, 4111, 4112
IFNG	UniProtKB: Q14611	4113	4114	4115, 4116, 4117, 4118, 4119, 4120
IFNG	UniProtKB: Q14612	4121	4122	4123, 4124, 4125, 4126, 4127, 4128
IFNG	UniProtKB: Q14613	4129	4130	4131, 4132, 4133, 4134, 4135, 4136
IFNG	UniProtKB: Q14614	4137	4138	4139, 4140, 4141, 4142, 4143, 4144
IFNG	UniProtKB: Q14615	4145	4146	4147, 4148, 4149, 4150, 4151, 4152
IFNG	UniProtKB: Q8NH9	4153	4154	4155, 4156, 4157, 4158, 4159, 4160
IL-12	UniProtKB: P29460	4193	4194	4195, 4196, 4197, 4198, 4199, 4200
IL-13	UniProtKB: P35225	4201	4202	4203, 4204, 4205, 4206, 4207, 4208
IL-15	UniProtKB: P40933	4217	4218	4219, 4220, 4221, 4222, 4223, 4224

ES 2 753 259 T3

IL-16	UniProtKB: Q14005	4225	4226	4227, 4228, 4229, 4230, 4231, 4232
IL-17A	UniProtKB: Q16552	4233	4234	4235, 4236, 4237, 4238, 4239, 4240
IL-18	UniProtKB: A0A024R3E0	4281	4282	4283, 4284, 4285, 4286, 4287, 4288
IL-18	UniProtKB: B0YJ28	4289	4290	4291, 4292, 4293, 4294, 4295, 4296
IL-18	UniProtKB: Q14116	4297	4298	4299, 4300, 4301, 4302, 4303, 4304
IL-1_alfa	UniProtKB: P01583	4313	4314	4315, 4316, 4317, 4318, 4319, 4320
IL-1_beta	UniProtKB: P01584	4321	4322	4323, 4324, 4325, 4326, 4327, 4328
IL-21	RefSeq: NP_001193935.1	4361	4362	4363, 4364, 4365, 4366, 4367, 4368
IL-21	RefSeq: NP_068575.1	4369	4370	4371, 4372, 4373, 4374, 4375, 4376
IL-23	UniProtKB: Q9NPF7	4385	4386	4387, 4388, 4389, 4390, 4391, 4392
IL-2	UniProtKB: P60568	4473	4474	4475, 4476, 4477, 4478, 4479, 4480
IL-2	UniProtKB: Q0GK43	4481	4482	4483, 4484, 4485, 4486, 4487, 4488
IL-2	UniProtKB: Q13169	4489	4490	4491, 4492, 4493, 4494, 4495, 4496
IL-2	UniProtKB: Q6NZ91	4497	4498	4499, 4500, 4501, 4502, 4503, 4504
IL-2	UniProtKB: Q6NZ93	4505	4506	4507, 4508, 4509, 4510, 4511, 4512
IL-6	UniProtKB: P05231	4593	4594	4595, 4596, 4597, 4598, 4599, 4600
IL-7	UniProtKB: A8K673	4601	4602	4603, 4604, 4605, 4606, 4607, 4608
IL-7	UniProtKB: P13232	4609	4610	4611, 4612, 4613, 4614, 4615, 4616
IL-9	UniProtKB: P15248	4617	4618	4619, 4620, 4621, 4622, 4623, 4624
M-CSF	UniProtKB: P09603	4705	4706	4707, 4708, 4709, 4710, 4711, 4712
CCL11	UniProtKB: P51671	4833	4834	4835, 4836, 4837, 4838, 4839, 4840
CCL11	UniProtKB: Q6I9T4	4841	4842	4843, 4844, 4845, 4846, 4847, 4848
CCL21	UniProtKB: O00585	4937	4938	4939, 4940, 4941, 4942, 4943, 4944
CCL2	UniProtKB: P13500	5001	5002	5003, 5004, 5005, 5006, 5007, 5008
CCL3	UniProtKB: A0N0R1	5009	5010	5011, 5012, 5013, 5014, 5015, 5016
CCL3	UniProtKB: P10147	5017	5018	5019, 5020, 5021, 5022, 5023, 5024
CCL5	UniProtKB: D0E167	5041	5042	5043, 5044, 5045, 5046, 5047, 5048
CCL5	UniProtKB: P13501	5049	5050	5051, 5052, 5053, 5054, 5055, 5056
CXCL10	UniProtKB: A0A024RDA4	5129	5130	5131, 5132, 5133, 5134, 5135, 5136
CXCL10	UniProtKB: P02778	5137	5138	5139, 5140, 5141, 5142, 5143, 5144
CXCL8	UniProtKB: P10145	5265	5266	5267, 5268, 5269, 5270, 5271, 5272
TNF	UniProtKB: P01375	7369	7370	7371, 7372, 7373, 7374, 7375, 7376

ES 2 753 259 T3

TNF	UniProtKB: Q5STB3	7377	7378	7379, 7380, 7381, 7382, 7383, 7384
GRP94_(gp96)	UniProtKB: P14625	7617	7618	7619, 7620, 7621, 7622, 7623, 7624
HSC70	UniProtKB: P11142	7625	7626	7627, 7628, 7629, 7630, 7631, 7632
HSP60	UniProtKB: A0A024R3X4	7657	7658	7659, 7660, 7661, 7662, 7663, 7664
HSP60	UniProtKB: B3GQS7	7665	7666	7667, 7668, 7669, 7670, 7671, 7672
HSP60	UniProtKB: P10809	7673	7674	7675, 7676, 7677, 7678, 7679, 7680
HSP60	UniProtKB: Q0VDF9	7681	7682	7683, 7684, 7685, 7686, 7687, 7688
HSP70	UniProtKB: P38646	7689	7690	7691, 7692, 7693, 7694, 7695, 7696
HSP90	UniProtKB: P07900	7697	7698	7699, 7700, 7701, 7702, 7703, 7704
HSP90	UniProtKB: P08238	7705	7706	7707, 7708, 7709, 7710, 7711, 7712
Akt	UniProtKB: B0LPE5	7737	7738	7739, 7740, 7741, 7742, 7743
Akt	UniProtKB: P31749	7744	7745	7746, 7747, 7748, 7749, 7750
Akt	UniProtKB: P31751	7751	7752	7753, 7754, 7755, 7756, 7757
Akt	UniProtKB: Q9Y243	7758	7759	7760, 7761, 7762, 7763, 7764
ATF2	UniProtKB: P15336	7765	7766	7767, 7768, 7769, 7770, 7771
C1QBP	UniProtKB: Q07021	7772	7773	7774, 7775, 7776, 7777, 7778
C1QC	UniProtKB: P02747	7779	7780	7781, 7782, 7783, 7784, 7785
Cardif	UniProtKB: Q7Z434	7786	7787	7788, 7789, 7790, 7791, 7792
CD59,beta-defensina	UniProtKB: P13987	7793	7794	7795, 7796, 7797, 7798, 7799
CD59,beta-defensina	UniProtKB: Q6FHM9	7800	7801	7802, 7803, 7804, 7805, 7806
Cdc42	UniProtKB: A0A024RAE4	7807	7808	7809, 7810, 7811, 7812, 7813
Cdc42	UniProtKB: A0A024RAE6	7814	7815	7816, 7817, 7818, 7819, 7820
Cdc42	UniProtKB: P60953	7821	7822	7823, 7824, 7825, 7826, 7827
CFAD	UniProtKB: P00746	7828	7829	7830, 7831, 7832, 7833, 7834
CFAH	UniProtKB: P08603	7835	7836	7837, 7838, 7839, 7840, 7841
CFAI	UniProtKB: P05156	7842	7843	7844, 7845, 7846, 7847, 7848
CH60	RefSeq: NP_002147.2	7849	7850	7851, 7852, 7853, 7854, 7855
CIITA	UniProtKB: Q29704	7856	7857	7858, 7859, 7860, 7861, 7862
c-Jun	UniProtKB: B3KN68	7863	7864	7865, 7866, 7867, 7868, 7869
c-Jun	UniProtKB: B3KNW1	7870	7871	7872, 7873, 7874, 7875, 7876
c-Jun	UniProtKB: B3KXW5	7877	7878	7879, 7880, 7881, 7882, 7883
c-Jun	UniProtKB: B4DED9	7884	7885	7886, 7887, 7888, 7889, 7890

ES 2 753 259 T3

c-Jun	UniProtKB: B4DFU7	7891	7892	7893, 7894, 7895, 7896, 7897
c-Jun	UniProtKB: B4DGE1	7898	7899	7900, 7901, 7902, 7903, 7904
c-Jun	UniProtKB: B4DJ64	7905	7906	7907, 7908, 7909, 7910, 7911
c-Jun	UniProtKB: B4DS36	7912	7913	7914, 7915, 7916, 7917, 7918
c-Jun	UniProtKB: B7Z1L7	7919	7920	7921, 7922, 7923, 7924, 7925
c-Jun	UniProtKB: G1UI24	7926	7927	7928, 7929, 7930, 7931, 7932
c-Jun	UniProtKB: G5E966	7933	7934	7935, 7936, 7937, 7938, 7939
c-Jun	UniProtKB: O75843	7940	7941	7942, 7943, 7944, 7945, 7946
c-Jun	UniProtKB: P05412	7947	7948	7949, 7950, 7951, 7952, 7953
c-Jun	UniProtKB: P53677	7954	7955	7956, 7957, 7958, 7959, 7960
c-Jun	UniProtKB: P61966	7961	7962	7963, 7964, 7965, 7966, 7967
c-Jun	UniProtKB: Q63HQ0	7968	7969	7970, 7971, 7972, 7973, 7974
c-Jun	UniProtKB: Q7Z5Q8	7975	7976	7977, 7978, 7979, 7980, 7981
c-Jun	UniProtKB: Q96PC3	7982	7983	7984, 7985, 7986, 7987, 7988
c-Jun	UniProtKB: Q9BXS5	7989	7990	7991, 7992, 7993, 7994, 7995
c-Jun	UniProtKB: Q9Y6Q5	7996	7997	7998, 7999, 8000, 8001, 8002
CO8A	UniProtKB: P07357	8003	8004	8005, 8006, 8007, 8008, 8009
CO8B	UniProtKB: P07358	8010	8011	8012, 8013, 8014, 8015, 8016
CO8G	UniProtKB: P07360	8017	8018	8019, 8020, 8021, 8022, 8023
componente-sistema-complemento-C1INH	UniProtKB: P05155	8024	8025	8026, 8027, 8028, 8029, 8030
componente-sistema-complemento-C1qR	UniProtKB: Q8IXK1	8031	8032	8033, 8034, 8035, 8036, 8037
componente-sistema-complemento-C1s	UniProtKB: P09871	8038	8039	8040, 8041, 8042, 8043, 8044
componente-sistema-complemento-C4bp	UniProtKB: P04003	8045	8046	8047, 8048, 8049, 8050, 8051
componente-sistema-complemento-C6	UniProtKB: P13671	8052	8053	8054, 8055, 8056, 8057, 8058
componente-sistema-complemento-C7	UniProtKB: P10643	8059	8060	8061, 8062, 8063, 8064, 8065
componente-sistema-complemento-C8	UniProtKB: Q99618	8066	8067	8068, 8069, 8070, 8071, 8072
componente-sistema-complemento-C9	UniProtKB: A0A024R035	8073	8074	8075, 8076, 8077, 8078, 8079
componente-sistema-complemento-C9	UniProtKB: P02748	8080	8081	8082, 8083, 8084, 8085, 8086
componente-sistema-complemento-CR2	UniProtKB: P20023	8087	8088	8089, 8090, 8091, 8092, 8093
componente-sistema-complemento-CR3	UniProtKB: D3DSM0	8094	8095	8096, 8097, 8098, 8099, 8100
componente-sistema-complemento-CR3	UniProtKB: P05107	8101	8102	8103, 8104, 8105, 8106, 8107
componente-sistema-complemento-MASP-1	UniProtKB: P48740	8108	8109	8110, 8111, 8112, 8113, 8114

ES 2 753 259 T3

componente-sistema-complemento-MASP-2	UniProtKB: O00187	8115	8116	8117, 8118, 8119, 8120, 8121
componente-sistema-complemento-MBL	UniProtKB: P11226	8122	8123	8124, 8125, 8126, 8127, 8128
componente-sistema-complemento-MCP	UniProtKB: P15529	8129	8130	8131, 8132, 8133, 8134, 8135
componente-sistema-complemento-MCP	UniProtKB: P40121	8136	8137	8138, 8139, 8140, 8141, 8142
CREB3	CCDS: CCDS6588.1	8143	8144	8145, 8146, 8147, 8148, 8149
CREB3L1	UniProtKB: Q96BA8	8150	8151	8152, 8153, 8154, 8155, 8156
CREB3L3	UniProtKB: Q68CJ9	8157	8158	8159, 8160, 8161, 8162, 8163
CREB3L4	UniProtKB: Q8TEY5	8164	8165	8166, 8167, 8168, 8169, 8170
CREB5	UniProtKB: Q02930	8171	8172	8173, 8174, 8175, 8176, 8177
CRTC2	UniProtKB: Q53ET0	8178	8179	8180, 8181, 8182, 8183, 8184
DJB11	UniProtKB: Q9UBS4	8185	8186	8187, 8188, 8189, 8190, 8191
DJB13	UniProtKB: P59910	8192	8193	8194, 8195, 8196, 8197, 8198
DJB14	UniProtKB: Q8TBM8	8199	8200	8201, 8202, 8203, 8204, 8205
DJC10	UniProtKB: Q8IXB1	8206	8207	8208, 8209, 8210, 8211, 8212
DJC12	UniProtKB: Q9UKB3	8213	8214	8215, 8216, 8217, 8218, 8219
DJC14	UniProtKB: Q6Y2X3	8220	8221	8222, 8223, 8224, 8225, 8226
DJC15	UniProtKB: Q9Y5T4	8227	8228	8229, 8230, 8231, 8232, 8233
DJC16	UniProtKB: Q9Y2G8	8234	8235	8236, 8237, 8238, 8239, 8240
DJC17	UniProtKB: Q9NVM6	8241	8242	8243, 8244, 8245, 8246, 8247
DJC18	UniProtKB: Q9H819	8248	8249	8250, 8251, 8252, 8253, 8254
DJC22	UniProtKB: Q8N4W6	8255	8256	8257, 8258, 8259, 8260, 8261
DJC24	UniProtKB: Q6P3W2	8262	8263	8264, 8265, 8266, 8267, 8268
DJC25	UniProtKB: Q9H1X3	8269	8270	8271, 8272, 8273, 8274, 8275
DJC27	UniProtKB: Q9NZQ0	8276	8277	8278, 8279, 8280, 8281, 8282
DJC28	UniProtKB: Q9NX36	8283	8284	8285, 8286, 8287, 8288, 8289
DJC30	UniProtKB: Q96LL9	8290	8291	8292, 8293, 8294, 8295, 8296
DNAJB12	RefSeq: NP_001002762.2	8297	8298	8299, 8300, 8301, 8302, 8303
DNAJC11	UniProtKB: Q9NVH1	8304	8305	8306, 8307, 8308, 8309, 8310
DNAJC21	UniProtKB: Q5F1R6	8311	8312	8313, 8314, 8315, 8316, 8317
DNJA1	UniProtKB: P31689	8318	8319	8320, 8321, 8322, 8323, 8324
DNJA2	UniProtKB: O60884	8325	8326	8327, 8328, 8329, 8330, 8331
DNJA3	UniProtKB: Q96EY1	8332	8333	8334, 8335, 8336, 8337, 8338

ES 2 753 259 T3

DNJA4	UniProtKB: Q8WW22	8339	8340	8341, 8342, 8343, 8344, 8345
DNJB1	UniProtKB: P25685	8346	8347	8348, 8349, 8350, 8351, 8352
DNJB2	UniProtKB: P25686	8353	8354	8355, 8356, 8357, 8358, 8359
DNJB3	UniProtKB: Q8WWF6	8360	8361	8362, 8363, 8364, 8365, 8366
DNJB4	UniProtKB: Q9UDY4	8367	8368	8369, 8370, 8371, 8372, 8373
DNJB5	UniProtKB: O75953	8374	8375	8376, 8377, 8378, 8379, 8380
DNJB6	UniProtKB: O75190	8381	8382	8383, 8384, 8385, 8386, 8387
DNJB7	UniProtKB: Q7Z6W7	8388	8389	8390, 8391, 8392, 8393, 8394
DNJB8	UniProtKB: Q8NHS0	8395	8396	8397, 8398, 8399, 8400, 8401
DNJB9	UniProtKB: Q9UBS3	8402	8403	8404, 8405, 8406, 8407, 8408
DNJC1	UniProtKB: Q96KC8	8409	8410	8411, 8412, 8413, 8414, 8415
DNJC2	UniProtKB: Q99543	8416	8417	8418, 8419, 8420, 8421, 8422
DNJC3	UniProtKB: Q13217	8423	8424	8425, 8426, 8427, 8428, 8429
DNJC4	UniProtKB: Q9NNZ3	8430	8431	8432, 8433, 8434, 8435, 8436
DNJC5	UniProtKB: Q9H3Z4	8437	8438	8439, 8440, 8441, 8442, 8443
DNJC7	UniProtKB: Q99615	8444	8445	8446, 8447, 8448, 8449, 8450
DNJC8	UniProtKB: O75937	8451	8452	8453, 8454, 8455, 8456, 8457
DNJC9	UniProtKB: Q8WXX5	8458	8459	8460, 8461, 8462, 8463, 8464
Elk-1	UniProtKB: P19419	8465	8466	8467, 8468, 8469, 8470, 8471
Elk-1	UniProtKB: Q8N9S0	8472	8473	8474, 8475, 8476, 8477, 8478
ERK1	UniProtKB: P27361	8479	8480	8481, 8482, 8483, 8484, 8485
ERK2	UniProtKB: P28482	8486	8487	8488, 8489, 8490, 8491, 8492
Fibrinógeno	UniProtKB: A0A024R8B4	8493	8494	8495, 8496, 8497, 8498, 8499
Fibrinógeno	UniProtKB: A4D1B8	8500	8501	8502, 8503, 8504, 8505, 8506
Fibrinógeno	UniProtKB: A8K8X4	8507	8508	8509, 8510, 8511, 8512, 8513
Fibrinógeno	UniProtKB: B4DTN2	8514	8515	8516, 8517, 8518, 8519, 8520
Fibrinógeno	UniProtKB: B4E1D3	8521	8522	8523, 8524, 8525, 8526, 8527
Fibrinógeno	UniProtKB: D3DP13	8528	8529	8530, 8531, 8532, 8533, 8534
Fibrinógeno	UniProtKB: D3DP16	8535	8536	8537, 8538, 8539, 8540, 8541
Fibrinógeno	UniProtKB: D3DSP9	8542	8543	8544, 8545, 8546, 8547, 8548
Fibrinógeno	UniProtKB: P02671	8549	8550	8551, 8552, 8553, 8554, 8555
Fibrinógeno	UniProtKB: P02675	8556	8557	8558, 8559, 8560, 8561, 8562

ES 2 753 259 T3

Fibrinógeno	UniProtKB: P02679	8563	8564	8565, 8566, 8567, 8568, 8569
Fibrinógeno	UniProtKB: Q08830	8570	8571	8572, 8573, 8574, 8575, 8576
Fibrinógeno	UniProtKB: Q14314	8577	8578	8579, 8580, 8581, 8582, 8583
Fibrinógeno	UniProtKB: Q6UXM4	8584	8585	8586, 8587, 8588, 8589, 8590
Fibrinógeno	UniProtKB: Q9UE34	8591	8592	8593, 8594, 8595, 8596, 8597
FOS	UniProtKB: A0A024RD16	8598	8599	8600, 8601, 8602, 8603, 8604
GSK3A	UniProtKB: P49840	8605	8606	8607, 8608, 8609, 8610, 8611
GSK3B	UniProtKB: P49841	8612	8613	8614, 8615, 8616, 8617, 8618
HSP10	UniProtKB: P61604	8619	8620	8621, 8622, 8623, 8624, 8625
HSP75	UniProtKB: Q12931	8626	8627	8628, 8629, 8630, 8631, 8632
HSP90B1	UniProtKB: Q5CAQ5	8633	8634	8635, 8636, 8637, 8638, 8639
IKK	UniProtKB: O14920	8640	8641	8642, 8643, 8644, 8645, 8646
IKK	UniProtKB: Q14164	8647	8648	8649, 8650, 8651, 8652, 8653
IKK	UniProtKB: Q9Y6K9	8654	8655	8656, 8657, 8658, 8659, 8660
IL-1	UniProtKB: O43353	8661	8662	8663, 8664, 8665, 8666, 8667
IL-1	UniProtKB: Q8N9C1	8668	8669	8670, 8671, 8672, 8673, 8674
IL-1	UniProtKB: Q8WWZ1	8675	8676	8677, 8678, 8679, 8680, 8681
IL-1	UniProtKB: Q9NZH7	8682	8683	8684, 8685, 8686, 8687, 8688
IL-1	UniProtKB: Q9UBH0	8689	8690	8691, 8692, 8693, 8694, 8695
IL-1	UniProtKB: Q9UHA7	8696	8697	8698, 8699, 8700, 8701, 8702
IL-1R1	UniProtKB: P14778	8703	8704	8705, 8706, 8707, 8708, 8709
IL-1R1	UniProtKB: Q6NWP5	8710	8711	8712, 8713, 8714, 8715, 8716
IL-1R1	UniProtKB: Q6NWP6	8717	8718	8719, 8720, 8721, 8722, 8723
IRAK1	UniProtKB: L8E7M9	8724	8725	8726, 8727, 8728, 8729, 8730
IRAK1	UniProtKB: P51617	8731	8732	8733, 8734, 8735, 8736, 8737
IRAK2	UniProtKB: O43187	8738	8739	8740, 8741, 8742, 8743, 8744
IRAK4	UniProtKB: Q69FE3	8745	8746	8747, 8748, 8749, 8750, 8751
IRAK4	UniProtKB: Q7Z6A7	8752	8753	8754, 8755, 8756, 8757, 8758
IRAK4	UniProtKB: Q7Z6A8	8759	8760	8761, 8762, 8763, 8764, 8765
IRAK4	UniProtKB: Q9NWZ3	8766	8767	8768, 8769, 8770, 8771, 8772
IRF3	UniProtKB: A0A024QZE1	8773	8774	8775, 8776, 8777, 8778, 8779
IRF3	UniProtKB: E2GIM5	8780	8781	8782, 8783, 8784, 8785, 8786

ES 2 753 259 T3

IRF3	UniProtKB: E2GIM6	8787	8788	8789, 8790, 8791, 8792, 8793
IRF3	UniProtKB: E2GIM7	8794	8795	8796, 8797, 8798, 8799, 8800
IRF3	UniProtKB: E2GIM8	8801	8802	8803, 8804, 8805, 8806, 8807
IRF3	UniProtKB: E2GIM9	8808	8809	8810, 8811, 8812, 8813, 8814
IRF3	UniProtKB: Q14653	8815	8816	8817, 8818, 8819, 8820, 8821
IRF3	UniProtKB: Q96GL3	8822	8823	8824, 8825, 8826, 8827, 8828
IRF-7	UniProtKB: Q92985	8829	8830	8831, 8832, 8833, 8834, 8835
JNK	UniProtKB: B4DU99	8836	8837	8838, 8839, 8840, 8841, 8842
KPCB	UniProtKB: P05771-1	8843	8844	8845, 8846, 8847, 8848, 8849
KPCB	UniProtKB: P05771-2	8850	8851	8852, 8853, 8854, 8855, 8856
KPCD1	UniProtKB: Q15139	8857	8858	8859, 8860, 8861, 8862, 8863
KPCD3	UniProtKB: O94806	8864	8865	8866, 8867, 8868, 8869, 8870
KPCD	UniProtKB: Q05655	8871	8872	8873, 8874, 8875, 8876, 8877
KPCE	UniProtKB: Q02156	8878	8879	8880, 8881, 8882, 8883, 8884
KPCG	UniProtKB: P05129	8885	8886	8887, 8888, 8889, 8890, 8891
KPCI	UniProtKB: P41743	8892	8893	8894, 8895, 8896, 8897, 8898
KPCL	UniProtKB: P24723	8899	8900	8901, 8902, 8903, 8904, 8905
KPCT	UniProtKB: Q04759	8906	8907	8908, 8909, 8910, 8911, 8912
KPCZ	UniProtKB: Q05513	8913	8914	8915, 8916, 8917, 8918, 8919
LGP2	UniProtKB: A0A024R1Y5	8920	8921	8922, 8923, 8924, 8925, 8926
LGP2	UniProtKB: Q96C10	8927	8928	8929, 8930, 8931, 8932, 8933
I_IPAF	UniProtKB: Q9NPP4	8934	8935	8936, 8937, 8938, 8939, 8940
MDA5	UniProtKB: Q9BYX4	8941	8942	8943, 8944, 8945, 8946, 8947
MK11	UniProtKB: Q15759	8948	8949	8950, 8951, 8952, 8953, 8954
MK12	UniProtKB: P53778	8955	8956	8957, 8958, 8959, 8960, 8961
MK13	UniProtKB: O15264	8962	8963	8964, 8965, 8966, 8967, 8968
MK14	UniProtKB: Q16539	8969	8970	8971, 8972, 8973, 8974, 8975
MKK1	UniProtKB: Q02750	8976	8977	8978, 8979, 8980, 8981, 8982
MKK3	UniProtKB: P46734	8983	8984	8985, 8986, 8987, 8988, 8989
MKK4	UniProtKB: P45985	8990	8991	8992, 8993, 8994, 8995, 8996
MKK6	UniProtKB: P52564	8997	8998	8999, 9000, 9001, 9002, 9003
MKK7	UniProtKB: O14733	9004	9005	9006, 9007, 9008, 9009, 9010

ES 2 753 259 T3

MSTP104	UniProtKB: Q7Z4D5	9011	9012	9013, 9014, 9015, 9016, 9017
MyD88	UniProtKB: Q99836	9018	9019	9020, 9021, 9022, 9023, 9024
NALP10	UniProtKB: Q86W26	9025	9026	9027, 9028, 9029, 9030, 9031
NALP11	UniProtKB: P59045	9032	9033	9034, 9035, 9036, 9037, 9038
NALP12	UniProtKB: P59046	9039	9040	9041, 9042, 9043, 9044, 9045
NALP13	UniProtKB: Q86W25	9046	9047	9048, 9049, 9050, 9051, 9052
NALP2	UniProtKB: Q8WY49	9053	9054	9055, 9056, 9057, 9058, 9059
NALP2	UniProtKB: Q9NX02	9060	9061	9062, 9063, 9064, 9065, 9066
NALP3	UniProtKB: Q96P20	9067	9068	9069, 9070, 9071, 9072, 9073
NALP4	UniProtKB: Q96MN2	9074	9075	9076, 9077, 9078, 9079, 9080
NALP5	UniProtKB: P59047	9081	9082	9083, 9084, 9085, 9086, 9087
NALP6	UniProtKB: P59044	9088	9089	9090, 9091, 9092, 9093, 9094
NALP7	UniProtKB: Q8WX94	9095	9096	9097, 9098, 9099, 9100, 9101
NALP8	UniProtKB: Q86W28	9102	9103	9104, 9105, 9106, 9107, 9108
NALP9	UniProtKB: Q7RTR0	9109	9110	9111, 9112, 9113, 9114, 9115
NF-kappaB	UniProtKB: A3F768	9116	9117	9118, 9119, 9120, 9121, 9122
NF-kappaB	UniProtKB: A3F769	9123	9124	9125, 9126, 9127, 9128, 9129
NLRP14	UniProtKB: Q86UT6	9130	9131	9132, 9133, 9134, 9135, 9136
NLRP14	UniProtKB: Q86W24	9137	9138	9139, 9140, 9141, 9142, 9143
NOD1	UniProtKB: G3XAL1	9144	9145	9146, 9147, 9148, 9149, 9150
NOD1	UniProtKB: Q9Y239	9151	9152	9153, 9154, 9155, 9156, 9157
NOD2	UniProtKB: Q9HC29	9158	9159	9160, 9161, 9162, 9163, 9164
NOD3	UniProtKB: C3VPR7	9165	9166	9167, 9168, 9169, 9170, 9171
NOD3	UniProtKB: H3BLT9	9172	9173	9174, 9175, 9176, 9177, 9178
NOD3	UniProtKB: Q7RTR2	9179	9180	9181, 9182, 9183, 9184, 9185
PI3K	UniProtKB: O00329	9186	9187	9188, 9189, 9190, 9191, 9192
PI3K	UniProtKB: O00459	9193	9194	9195, 9196, 9197, 9198, 9199
PI3K	UniProtKB: P27986	9200	9201	9202, 9203, 9204, 9205, 9206
PI3K	UniProtKB: P42336	9207	9208	9209, 9210, 9211, 9212, 9213
PI3K	UniProtKB: P42338	9214	9215	9216, 9217, 9218, 9219, 9220
PI3K	UniProtKB: P48736	9221	9222	9223, 9224, 9225, 9226, 9227
PI3K	UniProtKB: Q5UE93	9228	9229	9230, 9231, 9232, 9233, 9234

ES 2 753 259 T3

PI3K	UniProtKB: Q8NEB9	9235	9236	9237, 9238, 9239, 9240, 9241
PI3K	UniProtKB: Q8WYR1	9242	9243	9244, 9245, 9246, 9247, 9248
PKD2	UniProtKB: Q13563	9249	9250	9251, 9252, 9253, 9254, 9255
PKN1	UniProtKB: Q16512	9256	9257	9258, 9259, 9260, 9261, 9262
PKN2	UniProtKB: Q16513	9263	9264	9265, 9266, 9267, 9268, 9269
PKN3	UniProtKB: Q6P5Z2	9270	9271	9272, 9273, 9274, 9275, 9276
PRKCA	UniProtKB: P17252	9277	9278	9279, 9280, 9281, 9282, 9283
PRKD2	RefSeq: NP_001073349.1	9284	9285	9286, 9287, 9288, 9289, 9290
Rab	UniProtKB: P52594	9291	9292	9293, 9294, 9295, 9296, 9297
Rac1	UniProtKB: A4D2P0	9298	9299	9300, 9301, 9302, 9303, 9304
Rac1	UniProtKB: A4D2P1	9305	9306	9307, 9308, 9309, 9310, 9311
Rac1	UniProtKB: A4D2P2	9312	9313	9314, 9315, 9316, 9317, 9318
Rac1	UniProtKB: P63000	9319	9320	9321, 9322, 9323, 9324, 9325
Rac1	UniProtKB: W0UV93	9326	9327	9328, 9329, 9330, 9331, 9332
RhoA	UniProtKB: A0A024R324	9333	9334	9335, 9336, 9337, 9338, 9339
RhoA	UniProtKB: P61586	9340	9341	9342, 9343, 9344, 9345, 9346
RIG-I	UniProtKB: O95786	9347	9348	9349, 9350, 9351, 9352, 9353
RIG-I	UniProtKB: Q8IUD6	9354	9355	9356, 9357, 9358, 9359, 9360
Src-Kinases	UniProtKB: Q9H5V8	9361	9362	9363, 9364, 9365, 9366, 9367
Proteína surfactante A	UniProtKB: Q8IWL1	9368	9369	9370, 9371, 9372, 9373, 9374
Proteína surfactante A	UniProtKB: Q8IWL2	9375	9376	9377, 9378, 9379, 9380, 9381
Proteína surfactante D	UniProtKB: P35247	9382	9383	9384, 9385, 9386, 9387, 9388
TAK1	UniProtKB: O43318	9389	9390	9391, 9392, 9393, 9394, 9395
TAK1	UniProtKB: P49116	9396	9397	9398, 9399, 9400, 9401, 9402
TBK1	UniProtKB: Q9UHD2	9403	9404	9405, 9406, 9407, 9408, 9409
TICAM1	UniProtKB: Q8IUC6	9410	9411	9412, 9413, 9414, 9415, 9416
TICAM2	UniProtKB: Q86XR7	9417	9418	9419, 9420, 9421, 9422, 9423
TIRAP	UniProtKB: A0A024R3M4	9424	9425	9426, 9427, 9428, 9429, 9430
TIRAP	UniProtKB: P58753	9431	9432	9433, 9434, 9435, 9436, 9437
TLR10	UniProtKB: A0A024R9W4	9438	9439	9440, 9441, 9442, 9443, 9444
TLR10	UniProtKB: D1CS19	9445	9446	9447, 9448, 9449, 9450, 9451
TLR10	UniProtKB: D1CS20	9452	9453	9454, 9455, 9456, 9457, 9458

ES 2 753 259 T3

TLR10	UniProtKB: D1CS24	9459	9460	9461, 9462, 9463, 9464, 9465
TLR10	UniProtKB: D1CS26	9466	9467	9468, 9469, 9470, 9471, 9472
TLR10	UniProtKB: D1CS27	9473	9474	9475, 9476, 9477, 9478, 9479
TLR10	UniProtKB: D1CS28	9480	9481	9482, 9483, 9484, 9485, 9486
TLR10	UniProtKB: D1CS29	9487	9488	9489, 9490, 9491, 9492, 9493
TLR10	UniProtKB: D1CS30	9494	9495	9496, 9497, 9498, 9499, 9500
TLR10	UniProtKB: Q9BXR5	9501	9502	9503, 9504, 9505, 9506, 9507
TLR1	UniProtKB: D1CS34	9508	9509	9510, 9511, 9512, 9513, 9514
TLR1	UniProtKB: D1CS35	9515	9516	9517, 9518, 9519, 9520, 9521
TLR1	UniProtKB: D1CS36	9522	9523	9524, 9525, 9526, 9527, 9528
TLR1	UniProtKB: D1CS38	9529	9530	9531, 9532, 9533, 9534, 9535
TLR1	UniProtKB: D1CS42	9536	9537	9538, 9539, 9540, 9541, 9542
TLR1	UniProtKB: D1CS43	9543	9544	9545, 9546, 9547, 9548, 9549
TLR1	UniProtKB: D1CS44	9550	9551	9552, 9553, 9554, 9555, 9556
TLR1	UniProtKB: Q15399	9557	9558	9559, 9560, 9561, 9562, 9563
TLR1	UniProtKB: Q5FWG5	9564	9565	9566, 9567, 9568, 9569, 9570
TLR1	UniProtKB: Q6FI64	9571	9572	9573, 9574, 9575, 9576, 9577
TLR2	UniProtKB: 060603	9578	9579	9580, 9581, 9582, 9583, 9584
TLR3	UniProtKB: 015455	9585	9586	9587, 9588, 9589, 9590, 9591
TLR4	UniProtKB: D1CS55	9592	9593	9594, 9595, 9596, 9597, 9598
TLR4	UniProtKB: O00206	9599	9600	9601, 9602, 9603, 9604, 9605
TLR5	UniProtKB: D1CS79	9606	9607	9608, 9609, 9610, 9611, 9612
TLR5	UniProtKB: D1CS82	9613	9614	9615, 9616, 9617, 9618, 9619
TLR5	UniProtKB: D1CS83	9620	9621	9622, 9623, 9624, 9625, 9626
TLR5	UniProtKB: D1CS84	9627	9628	9629, 9630, 9631, 9632, 9633
TLR5	UniProtKB: D1CS85	9634	9635	9636, 9637, 9638, 9639, 9640
TLR5	UniProtKB: D1CS87	9641	9642	9643, 9644, 9645, 9646, 9647
TLR5	UniProtKB: D1CS88	9648	9649	9650, 9651, 9652, 9653, 9654
TLR5	UniProtKB: D1CS89	9655	9656	9657, 9658, 9659, 9660, 9661
TLR5	UniProtKB: D1CS90	9662	9663	9664, 9665, 9666, 9667, 9668
TLR6	UniProtKB: B6CH37	9669	9670	9671, 9672, 9673, 9674, 9675
TLR6	UniProtKB: B6CH42	9676	9677	9678, 9679, 9680, 9681, 9682

TLR6	UniProtKB: B6CH44	9683	9684	9685, 9686, 9687, 9688, 9689
TLR6	UniProtKB: B6CH45	9690	9691	9692, 9693, 9694, 9695, 9696
TLR6	UniProtKB: B6RFS7	9697	9698	9699, 9700, 9701, 9702, 9703
TLR6	UniProtKB: D1CS91	9704	9705	9706, 9707, 9708, 9709, 9710
TLR6	UniProtKB: D1CS92	9711	9712	9713, 9714, 9715, 9716, 9717
TLR6	UniProtKB: D1CS93	9718	9719	9720, 9721, 9722, 9723, 9724
TLR6	UniProtKB: D1CS96	9725	9726	9727, 9728, 9729, 9730, 9731
TLR6	UniProtKB: D1CS97	9732	9733	9734, 9735, 9736, 9737, 9738
TLR6	UniProtKB: D1CS98	9739	9740	9741, 9742, 9743, 9744, 9745
TLR6	UniProtKB: D1CS99	9746	9747	9748, 9749, 9750, 9751, 9752
TLR6	UniProtKB: D1CSA0	9753	9754	9755, 9756, 9757, 9758, 9759
TLR7	UniProtKB: B2R9N9	9760	9761	9762, 9763, 9764, 9765, 9766
TLR7	UniProtKB: D1CS68	9767	9768	9769, 9770, 9771, 9772, 9773
TLR7	UniProtKB: Q9NYK1	9774	9775	9776, 9777, 9778, 9779, 9780
TLR8	UniProtKB: Q495P6	9781	9782	9783, 9784, 9785, 9786, 9787
TLR8	UniProtKB: Q495P7	9788	9789	9790, 9791, 9792, 9793, 9794
TLR8	UniProtKB: Q9NR97	9795	9796	9797, 9798, 9799, 9800, 9801
TLR9	UniProtKB: B6CH46	9802	9803	9804, 9805, 9806, 9807, 9808
TLR9	UniProtKB: D1CS61	9809	9810	9811, 9812, 9813, 9814, 9815
TLR9	UniProtKB: D1CS62	9816	9817	9818, 9819, 9820, 9821, 9822
TLR9	UniProtKB: L0R5D6	9823	9824	9825, 9826, 9827, 9828, 9829
TLR9	UniProtKB: L8E8B9	9830	9831	9832, 9833, 9834, 9835, 9836
TLR9	UniProtKB: Q9NR96	9837	9838	9839, 9840, 9841, 9842, 9843
TRAF6	UniProtKB: Q9Y4K3	9844	9845	9846, 9847, 9848, 9849, 9850
c-myc	UniProtKB: A0A0B4J1R1	9851	9852	9853, 9854, 9855, 9856, 9857, 9858
c-myc	UniProtKB: P01106	9859	9860	9861, 9862, 9863, 9864, 9865, 9866
c-myc	UniProtKB: Q14901	9867	9868	9869, 9870, 9871, 9872, 9873, 9874
c-myc	UniProtKB: Q16591	9875	9876	9877, 9878, 9879, 9880, 9881, 9882

- 5 En una realización especialmente preferente, la composición aquí descrita comprende al menos un ARN, preferiblemente un ARNm, que comprende al menos una región codificante que codifica para al menos un activador inmune innato o un fragmento o variante del mismo, donde la al menos una la región de codificación comprende una secuencia de ARN que es idéntica o al menos un 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89 %, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% idéntica a las secuencias de ARN de acuerdo con las SEQ ID NO descritas en la Tabla 11.

13. Anticuerpos, receptores señuelo y receptores negativos dominantes

Según una realización preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN aquí descrita codifica para al menos un anticuerpo y/o al menos un receptor negativo dominante y/o al menos un receptor señuelo o un fragmento o variante de los mismos, modulando (por ejemplo inhibiendo) la funcionalidad de una proteína o de la vía de señalización asociada al desarrollo de tumores o cáncer. Es particularmente preferente que la composición que contiene ARN comprenda al menos un ARN que codifica la cadena pesada de un anticuerpo particular o fragmentos o variantes del mismo y al menos otro ARN que codifica la cadena ligera del mismo anticuerpo particular o fragmentos o variantes del mismo.

En este contexto, son particularmente preferentes los anticuerpos de acuerdo con la Tabla 12.

10 Tabla 12: Anticuerpos dirigidos contra proteínas asociadas con el desarrollo de tumores o cáncer

Nombre	Diana
3F8	GD2
Abagovomab	CA-125 imitación
Abciximab	Glicoproteína plaquetaria GPIIb/IIIa
Adecatumumab	EpCAM (CD326)
Afutuzumab	CD20
Alacizumab pegol	VEGFR2
Alemtuzumab	CD52
Altumomab pentetate	CEA
Amatuximab	mesotelina
Anatumomab mafenatox	5T4
Anetumab ravtansine	mesotelina
Apolizumab	HLA-DR beta
apomab	TRAIL-R2 (CD262)
Arcitumomab	CEA
Ascrinvacumab	ACVRL1
Bavituximab	fosfatidilserina
Bectumomab	CD22
Belimumab	BAFF
Besilesomab	CEA
Bevacizumab	VEGF-A
Bivatuzumab mertansine	CD44v6
Blinatumomab	CD19 x CD3
Brentuximab vedotin	CD30 (TNFRSF8)
Brontictuzumab	NOTCH1
canakinumab	IL-1 β
Cantuzumab mertansine	CanAg
Cantuzumab ravtansine	MUC1 (CD227)
Capromab pendetide	PSMA
Carlumab	MCP-1
Catumaxomab	EpCAM x CD3
cBR-doxorubicin immunoconjugate	CD174 (Lewis Y)
Cetuximab	EGFR (HER1/ERBB1)
Citatuzumab bogatox	EpCAM
Cixutumumab	IGF-1R
Clivatuzumab tetraxetan	MUC1 (CD227)
Codrituzumab	glipican 3
Coltuximab ravtansine	CD19
Conatumumab	TRAIL-R2 (CD262)
Dacetuzumab	CD40
Dalotuzumab	IGF-1R
Dalotuzumab	Receptor de tipo insulina factor de crecimiento I
Daratumumab	CD38 (ADP ribosa-hidrolasa cíclica)
Demcizumab	DLL4
Denintuzumab mafodotin	CD19
Denosumab	RANKL
Depatuxizumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Derlotuximab	Complejo histona
Detumomab	desconocido (células linfoma B)

ES 2 753 259 T3

Dinutuximab	B4GALNT1
Drozitumab	TRAIL-R2 (CD262)
Duligotumab	HER3 (ERBB3)
Duligotuzumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Dusigitumab	ILGF2
Ecromeximab	GD3 gangliósido
Edrecolomab	EpCAM
Elgemtumab	ERBB3
Elotuzumab	SLAMF7 (CD319)
Elsilimomab	IL-6
Emactuzumab	CSF1R
Emibetuzumab	HGFR
Emibetuzumab	MET
Enavatuzumab	TNFRSF12A
Enfortumab vedotin	AGS-22M6
Enoticumab	DLL4
Ensituximab	MUC5AC
Epitumomab cituxetan	MUC1 (CD227)
Epratuzumab	CD22
Ertumaxomab	HER2 (ERBB2/neu) x CD3
Etaracizumab	integrina $\alpha 5\beta 3$
Faralimomab	IFNA1
Farletuzumab	FOLR1 alfa
FBTA	CD20 x CD3
Ficlatuzumab	HGFR
Figitumumab	IGF-1R
Flanvotumab	TYRP1(glicoproteína 75)
Fresolimumab	TGF- β
Futuximab	EGFR (HER1/ERBB1)
Galiximab	CD80
Gantiumab	IGF-1R
Gemtuzumab ozogamicin	CD33
Girentuximab	Anhidrasa carbónica 9 (CA9/CAIX)
Glembatumumab vedotin	GPNMB
glycooptimized trastuzumab-GEX	HER2 (ERBB2/neu)
Ibritumomab tiuxetan	CD20
Icrucumab	VEGFR-1
Igovomab	MUC16
IMAB362	Claudin-18 (CLDN18.2)
Imgatuzumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Indatuximab ravtansine	SDC1
Indusatumab vedotin	GUCY2C
Inebilizumab	CD19
Inotuzumab ozogamicin	CD22
Intetumumab	CD51
Iratumumab	CD30 (TNFRSF8)
Isatuximab	CD38
Labetuzumab	CEA
Lenzilumab	CSF2
Lexatumumab	TRAIL-R2 (CD262)
Lifastuzumab vedotin	NaPi2B
Lilotomab satetraxetan	CD37
Lintuzumab	CD33
Lorvotuzumab mertansine	CD56
Lucatumumab	CD40
Lumiliximab	CD23 (IgE receptor)
Lumretuzumab	ERBB3
Mapatumumab	TRAIL-R1 (CD261)
Margetuximab	HER2 (ERBB2/neu)
Matuzumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Mepolizumab	IL-5
Milatuzumab	CD74

ES 2 753 259 T3

Minretumomab	TAG-72
Mirvetuximab soravtansine	FOLR1 alfa
Mitumomab	GD3 (gangliósido)
Mogamulizumab	CCR4
Moxetumomab pasudotox	CD22
Nacolomab tafenatox	C242 antígeno
Naptumomab estafenatox	5T4
Narnatumab	RON
Necitumumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Nesvacumab	ANGPT2 (angiopoyetina 2)
Nimotuzumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Nofetumomab merpentan	EpCAM
binutuzumab	CD20
Ocaratuzumab	CD20
Ofatumumab	CD20
Olaratumab	PDGFR α
Onartuzumab	MET
Ontuxizumab	CD248 (TEM1)
Oportuzumab monatox	EpCAM
Oregovomab	CA-125
Otlertuzumab	CD37
Panitumumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Pankomab	MUC1 (glicosilación específica de tumor)
Parsatuzumab	EGFL7
Pasotuxizumab	FOLH1
Patritumab	HER3 (ERBB3)
Pemtumomab	MUC1 (CD227)
Pertuzumab	HER2 (ERBB2/neu)
Pinatuzumab vedotin	CD22
Pintumomab	Antígeno adenocarcinoma
Polatuzumab vedotin	CD79B
Racotumomab	NGcGM3
Radretumab	EDB (extra dominio-B de fibronectina)
Ramucirumab	VEGFR2
Rilotumumab	HGFR
Rituximab	CD20
Robatumumab	IGF-1R
Sacituzumab govitecan	Trop-2 (señal de transductor de calcio asociada a tumor 2/EGP-1)
Samalizumab	CD200 (OX-2 glicoproteína de membrana)
Satumomab pendetide	TAG-72
Seribantumab	ERBB3
Seribantumab	HER3 (ERBB3)
SGN-CDA	CD19
SGN-CDA	CD33
Sibrotuzumab	FAP
Siltuximab	IL-6
Simtuzumab	LOXL2
Sofituzumab vedotin	CA 125
Solitomab	EpCAM
Sonepcizumab	S1P (esfingosina-1-fosfato)
Tacatuzumab tetraxetan	AFP (alfa-fetoproteína)
Taplitumomab paptox	CD19
Tarextumab	Receptor Notch
Tenatumomab	TN-C (tenascina C)
Teprotumumab	CD221
Tetulomab	CD37
TGN	CD28
Tigatuzumab	TRAIL-R2 (CD262)
Lebrikizumab	IL-13
Tocilizumab	IL-6R
Tositumomab	CD20

Tovetumab	CD140a
Tovetumab	PDGFR α
Trastuzumab	HER2 (ERBB2/neu)
Trastuzumab emtansine	HER2 (ERBB2/neu)
TRBS	GD2
Tucotuzumab celmoleukin	EpCAM
Ublituximab	CD20
Ublituximab	MS4A1
Ulocuplumab	CXCR4
Vandortuzumab vedotin	STEAP1
Vantictumab	FZD7
Vanucizumab	Ang-2 (angiopoyetina 2) x VEGF-A
Veltuzumab	CD20
Vesencumab	NRP1
Volociximab	integrina $\alpha 5\beta 1$
Votumumab	CTAA16.88
Zalutumumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Zanolimumab	CD4
Zatuximab	HER1 (EGFR/ERBB1)

Preferentemente, el anticuerpo neutralizante se selecciona de la lista de anti-IL-10 y anti-TGFbeta.

- 5 Además, el al menos un anticuerpo puede seleccionarse preferiblemente entre anticuerpos anti-CD73 o fragmentos o variantes de los mismos.

En otra realización particularmente preferente, al menos un anticuerpo se selecciona de un anticuerpo dirigido contra CCR5/CD195 o de un anticuerpo dirigido contra su ligando CCL5/RANTES.

En una realización particularmente preferente, el receptor señuelo es CCR5 soluble (receptor de quimioquina tipo 5, también conocido como CD195).

- 10 En otra realización particularmente preferente, el receptor negativo dominante es CCR5 negativo dominante (receptor de quimioquina tipo 5, también conocido como CD195).

Además, el al menos un anticuerpo puede seleccionarse preferiblemente entre anticuerpos anti-CD73 o fragmentos o variantes de los mismos.

14. Inhibidores de células supresoras derivadas mieloides (MDSC)

- 15 Las células supresoras derivadas mieloides (MDSC) son una población heterogénea de células mieloides inmaduras que están incrementadas en el cáncer y trastornos relacionados. Las MDSC son inducidas por factores de crecimiento secretados por tumores. Las MDSC juegan un papel importante en la supresión de las respuestas inmunes del huésped mediante diversos mecanismos. Además, las MDSC también pueden contribuir a la angiogénesis y a la invasión tumoral. Por tanto, la inhibición de MDSC es una estrategia para el
- 20 tratamiento del cáncer y sus trastornos relacionados.

- En el contexto de la presente descripción, la inhibición de MDSC se puede lograr mediante la desactivación directa de las MDSC (por ejemplo anticuerpos anti IL-17), bloqueando la diferenciación de las MDSC en células maduras (por ejemplo IL-12), bloqueando el desarrollo celular de las MDSC o por agotamiento de las MDSC (por ejemplo agentes citotóxicos). Por tanto, es particularmente preferente emplear anticuerpos anti IL-17 e IL-
- 25 12 como inhibidores de las MDSC.

15. Inhibidores de la ruta IDO

- En una realización preferente adicional de la composición que contiene ARN aquí descrita, el ARN, preferiblemente ARNm, codifica para al menos un inhibidor de la ruta IDO. Preferiblemente, el ARN que codifica al menos un inhibidor de la ruta IDO codifica una proteína inhibidora o una proteína mutante negativa dominante
- 30 de la ruta IDO.

Como fue revisado en Prendergast et al. (Prendergast GC, Smith C, Thomas S, Mandik-Nayak L, Laury-Kleintop L, Metz R, Muller AJ. Indoleamine 2,3-dioxygenase pathways of pathogenic inflammation and immune escape in cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 2014 Jul;63(7):721-35), la indoleamina-pirrol-2,3-dioxigenasa (IDO o INDO EC 1.13.11.52) es una enzima que, en humanos, está codificada por el gen IDO1. Esta enzima cataliza la degradación del aminoácido esencial L-triptófano a N-formilkinurenina. La IDO es la primera enzima limitante de la velocidad del catabolismo del triptófano a través de la ruta de la kinurenina, lo que provoca el agotamiento del triptófano, que puede provocar la interrupción del crecimiento de microbios y células T. IDO es una enzima inmunomoduladora producida por algunos macrófagos alternativamente activados y otras células inmunorreguladoras (también es utilizada como estrategia de subversión inmune por muchos tumores). El desarrollo clínico de inhibidores de IDO puede producir una nueva clase de inmunomoduladores con una amplia aplicación en el tratamiento del cáncer humano avanzado.

16. Proteínas o péptidos que se unen a inhibidores de la apoptosis

La apoptosis es un proceso celular estrictamente regulado y la regulación defectuosa de la apoptosis es un sello distintivo del cáncer humano. Se ha perseguido el objetivo de reguladores clave de la apoptosis con el fin de restaurar la apoptosis en células tumorales como una nueva estrategia terapéutica contra el cáncer. XIAP, cIAP1 y cIAP2, miembros de las proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAP), son reguladores críticos de la muerte y supervivencia celular y son dianas atractivas para la nueva terapia contra el cáncer. La proteína SMAC/DIABLO es un antagonista endógeno de XIAP, cIAP1 y cIAP2. En la última década, los intensos esfuerzos de investigación han dado ahora como resultado el diseño y desarrollo de diversos miméticos SMAC de moléculas pequeñas en ensayos clínicos para el tratamiento del cáncer.

En una realización preferente adicional, la composición aquí descrita comprende al menos un ARN que comprende al menos una región codificante que codifica para al menos un péptido o proteína que se une a inhibidores de proteínas apoptóticas (IAP) y, por tanto, sensibiliza las células cancerosas para la muerte apoptótica.

Así, es particularmente preferente que el al menos un ARN de la composición que contiene ARN aquí descrita codifique al menos una proteína o péptido que se une a inhibidores de la apoptosis, tales como los miméticos SMAC.

Proteínas o péptidos particularmente preferentes que se unen a IAP según la presente descripción comprenden Omi/HtrA2, Smac, péptidos derivados de Smac, Smac/DIABLO y XAF1 (factor 1 asociado a XIAP) y fragmentos o variantes de los mismos.

Modificaciones de ARN

Según una realización, el al menos un ARN de la composición, que codifica al menos una de las proteínas y/o péptidos aquí definidos, puede estar en forma de un ARN modificado, pudiendo introducirse cualquier modificación como se define aquí en el al menos un ARN de la composición. Las modificaciones tal como se definen aquí conducen preferiblemente a una estabilización del al menos un ARN de la composición.

De acuerdo con una realización, el al menos un ARN de la composición aquí descrita puede proporcionarse como un "ARN estabilizado", es decir como un ARN que es esencialmente resistente a la degradación *in vivo* (por ejemplo por un exo- o endo-nucleasa). Dicha estabilización puede conseguirse, por ejemplo, mediante un esqueleto fosfato modificado del al menos un ARN de la composición aquí descrita. Una modificación del esqueleto en relación con la presente descripción es una modificación donde los fosfatos del esqueleto nucleótido contenido en el ARN están modificados químicamente. Los nucleótidos que pueden usarse preferiblemente a este respecto contienen, por ejemplo, un esqueleto fosfato modificado con fosforotioato, preferiblemente donde al menos uno de los oxígenos fosfato contenidos en el esqueleto fosfato es reemplazado por un átomo de azufre. Los ARN estabilizados pueden incluir además, por ejemplo: análogos de fosfato no iónicos, por ejemplo alqui o aril fosfonatos, donde el oxígeno fosfonato cargado se reemplaza por un grupo alquilo o arilo, o fosfodiésteres y alquilfosfotriésteres, donde el grupo oxígeno está presente en forma alquilada. Dichas modificaciones de esqueleto típicamente incluyen, sin limitación, modificaciones del grupo consistente en metilfosfonatos, fosforamidatos y fosforotioatos (por ejemplo, citidina-5'-O-(1-tiofosfato)).

A continuación, se describen modificaciones específicas, que preferiblemente son capaces de "estabilizar" el al menos un ARN como se define aquí.

Modificaciones químicas:

El término "modificación de ARN" como se usa aquí puede referirse a modificaciones químicas que comprenden modificaciones de esqueleto, así como modificaciones de azúcar o modificaciones de bases.

En este contexto, un ARN modificado como se define aquí puede contener análogos/modificaciones de nucleótidos, por ejemplo modificaciones de esqueleto, modificaciones de azúcar o modificaciones de bases. Una modificación de esqueleto en relación con la presente descripción es una modificación donde los fosfatos del esqueleto de los nucleótidos contenidos en el ARN como se define aquí están modificados químicamente.

- 5 Una modificación de azúcar en relación con la presente descripción es una modificación química del azúcar de los nucleótidos del ARN como se define aquí. Además, una modificación de bases en relación con la presente descripción es una modificación química de los residuos bases de los nucleótidos del ARN. En este contexto, los análogos o modificaciones de nucleótidos se seleccionan preferiblemente de análogos de nucleótidos, que son aplicables para la transcripción y/o la traducción.

10 Modificaciones de azúcar:

Los nucleósidos y nucleótidos modificados que pueden incorporarse en un ARN modificado como se describe aquí pueden estar modificados en el residuo azúcar. Por ejemplo, el grupo 2'-hidroxilo (OH) puede modificarse o sustituirse con varios sustituyentes "oxi" o "desoxi" diferentes. Ejemplos de modificaciones "oxi" del grupo 2'-hidroxilo incluyen, sin limitación, alcoxi o ariloxi (-OR, por ejemplo, R = H, alquilo, cicloalquilo, arilo, aralquilo, heteroarilo o azúcar); polietilenglicoles (PEG), $-O(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OR$; ácidos nucleicos "bloqueados" (LNA) donde el 2'-hidroxilo está unido, por ejemplo por un puente metileno, al carbono 4' del mismo azúcar ribosa; y grupos amino (-O-amino, donde el grupo amino, por ejemplo NRR, puede ser alquilamino, dialquilamino, heterociclilo, arilamino, diarilamino, heteroarilamino o diheteroarilamino, etilendiamina, poliamino) o aminoalcoxi.

- 15 Las modificaciones "desoxi" incluyen hidrógeno, amino (por ejemplo NH_2 ; alquilamino, dialquilamino, heterociclilo, arilamino, diarilamino, heteroarilamino, diheteroarilamino o aminoácido); o el grupo amino puede unirse al azúcar mediante un enlazador, comprendiendo el conector uno o más átomos de C, N y O.

El grupo de azúcar también puede contener uno o más carbonos que tienen la configuración estereoquímica opuesta a la del carbono correspondiente en la ribosa. Por tanto, un ARN modificado puede incluir nucleótidos que contienen, por ejemplo, arabinosa como azúcar.

- 25

Modificaciones de esqueleto:

El esqueleto fosfato puede estar adicionalmente modificado en los nucleósidos y nucleótidos modificados que pueden incorporarse en un ARN modificado como se describe aquí. Los grupos fosfato del esqueleto pueden modificarse reemplazando uno o más átomos de oxígeno con un sustituyente diferente. Además, los nucleósidos y nucleótidos modificados pueden incluir el reemplazo completo de un grupo fosfato no modificado con un fosfato modificado como se describe aquí. Ejemplos de grupos fosfato modificados incluyen, sin limitarse a, fosforotioato, fosforoselenatos, fosfatos de borano, ésteres de fosfato de borano, hidrogenofosfonatos, fosfoamidatos, alquil o aril fosfonatos y fosfotriésteres. Los fosforoditioatos tienen ambos oxígenos no enlazantes reemplazados por azufre. El enlazador de fosfato también puede modificarse por la sustitución de un oxígeno de enlace por nitrógeno (fosfoamidatos puenteados), azufre (fosforotioatos puenteados) y carbono (metilfosfonatos puenteados).

- 30
- 35

Modificaciones de bases:

Los nucleósidos y nucleótidos modificados que pueden incorporarse en un ARN modificado como se describe aquí pueden estar adicionalmente modificados en el grupo nucleobase. Ejemplos de nucleobases que se encuentran en el ARN incluyen, sin limitación, adenina, guanina, citosina y uracilo. Por ejemplo, los nucleósidos y nucleótidos aquí descritos pueden modificarse químicamente en la cara principal del surco. En algunas realizaciones, las principales modificaciones químicas del surco pueden incluir un grupo amino, un grupo tiol, un grupo alquilo o un grupo halo.

- 40

En realizaciones particularmente preferentes aquí descritas, los análogos/modificaciones de nucleótidos se seleccionan de modificaciones de bases, preferiblemente seleccionadas de 2-amino-6-cloropurinaribósido-5'-trifosfato, 2-aminopurina-ribósido-5'-trifosfato; 2-aminoadenosina-5'-trifosfato, 2'-amino-2'-desoxicitidina-trifosfato, 2-tiocitidina-5'-trifosfato, 2-tiouridina-5'-trifosfato, 2'-fluorotimidina-5'-trifosfato, 2'-O-metilinosina-5'-trifosfato, 4-tiouridina-5'-trifosfato, 5-aminoallicitidina-5'-trifosfato, 5-aminoaliluridina-5'-trifosfato, 5-bromocitidina-5'-trifosfato, 5-bromouridina-5'-trifosfato, 5-bromo-2'-desoxicitidina-5'-trifosfato, 5-bromo-2'-desoxiuridina-5'-trifosfato, 5-yodocitidina-5'-trifosfato, 5-yodo-2'-desoxicitidina-5'-trifosfato, 5-yodouridina-5'-trifosfato, 5-yodo-2'-desoxiuridina-5'-trifosfato, 5-metilcitidina-5'-trifosfato, 5-metiluridina-5'-trifosfato, 5-propinil 2'-desoxicitidina-5'-trifosfato, 5-propinil-2'-desoxiuridina-5'-trifosfato, 6-azacitidina-5'-trifosfato, 6-azauridina-5'-trifosfato, 6-cloropurineribósido-5'-trifosfato, 7-deazaadenosina-5'-trifosfato, 7-deazaguanosina-5'-trifosfato, 8-azaadenosina-5'-trifosfato, 8-azidoadenosina-5'-trifosfato, bencimidazol-ribósido-5'-trifosfato, N1-metiladenosina-5'-trifosfato, N1-metilguanosina-5'-trifosfato, N6-metiladenosina-5'-trifosfato, O6-metilguanosina-5'-trifosfato, pseudouridina-5'-trifosfato, o puomicina-5'-trifosfato, xantosina-5'-trifosfato. Se da

- 55

preferencia particular a los nucleótidos para modificaciones de bases seleccionadas del grupo de nucleótidos modificados con bases que consisten en 5-metilcitosina-5'-trifosfato, 7-deazaguanosina-5'-trifosfato, 5-bromocitosina-5'-trifosfato y pseudouridina-5'-trifosfato.

5 En algunas realizaciones, los nucleósidos modificados incluyen piridin-4-ona ribonucleósidos, 5-azauridina, 2-tio-5-azauridina, 2-tiouridina, 4-tiopseudouridina, 2-tiopseudouridina, 5-hidroxiuridina, 3-metiluridina, 5-carboximetiluridina, 1-carboximetilpseudouridina, 5-propiniluridina, 1-propinilpseudouridina, 5-taurinometiluridina, 1-taurinometilpseudouridina, 5-taurinometil-2-tiouridina, 1-taurinometil-4-tiouridina, 5-metiluridina, 1-metilpseudouridina, 4-tio-1-metilpseudouridina, 2-tio-1-metilpseudouridina, 1-metil-1-deazapseudouridina, 2-tio-1-metil-1-deazapseudouridina, dihidrouridina, dihidropseudouridina, 2-tiodihidrouridina, 2-tiodihidropseudouridina, 2-metoxiuridina, 2-metoxi-4-tiouridina, 4-metoxipseudouridina y 4-metoxi-2-tiopseudouridina.

15 En algunas realizaciones, los nucleósidos modificados incluyen 5-azacitidina, pseudoisocitidina, 3-metilcitosina, N4-acetilcitosina, 5-formilcitosina, N4-metilcitosina, 5-hidroximetilcitosina, 1-metilpseudoisocitidina, pirrolo-citidina, pirrolo-pseudoisocitidina, 2-tiocitidina, 2-tio-5-metilcitosina, 4-tiopseudoisocitidina, 4-tio-1-metilpseudoisocitidina, 4-tio-1-metil-1-deazapseudoisocitidina, 1-metil-1-deazapseudoisocitidina, zebularina, 5-azazebularina, 5-metilzebularina, 5-aza-2-tiozebularina, 2-tiozebularina, 2-metoxicitosina, 2-metoxi-5-metilcitosina, 4-metoxipseudoisocitidina y 4-metoxi-1-metilpseudoisocitidina.

20 En otras realizaciones, los nucleósidos modificados incluyen 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 7-deazaadenina, 7-deaza-8-azaadenina, 7-deaza-2-aminopurina, 7-deaza-8-aza-2-aminopurina, 7-deaza-2,6-diaminopurina, 7-deaza-8-aza-2,6-diaminopurina, 1-metiladenosina, N6-metiladenosina, N6-isopenteniladenosina, N6-(cis-hidroxiisopentenil)adenosina, 2-metil-N6-(cis-hidroxiisopentenil)adenosina, N6-glicinilcarbamoiladenosina, N6-treonilcarbamoilamino, 2-metil-N6-treonilcarbamoiladenosina, N6,N6-dimetiladenosina, 7-metiladenosina, 2-metiloadenosina y 2-metoxiadenosina.

25 En otras realizaciones, los nucleósidos modificados incluyen inosina, 1-metilinosina, wiosina, wibutosina, 7-deazaguanosina, 7-deaza-8-azaguanosina, 6-tioguanosina, 6-tio-7-deazaguanosina, 6-tio-7-deaza-8-azaguanosina, 7-metilguanosa, 6-tio-7-metilguanosa, 7-metilinosina, 6-metoxiguanosina, 1-metilguanosa, N2-metilguanosa, N2,N2-dimetilguanosa, 8-oxoguanosina, 7-metil-8-oxoguanosina, 1-metil-6-tioguanosina, N2-metil-6-tioguanosina y N2,N2-dimetil-6-tioguanosina.

30 En algunas realizaciones, el nucleótido puede modificarse en la cara principal del surco y puede incluir reemplazar el hidrógeno en el C-5 del uracilo por un grupo metilo o halo.

En realizaciones específicas, un nucleósido modificado es 5'-O-(1-tiofosfato)-adenosina, 5'-O-(1-tiofosfato)-citosina, 5'-O-(1-tiofosfato)-guanosa, 5'-O-(1-tiofosfato)-uridina o 5'-O-(1-tiofosfato)-pseudouridina.

35 En realizaciones específicas adicionales, un ARN modificado puede comprender modificaciones de nucleósidos seleccionadas de 6-azacitidina, 2-tiocitidina, α -tiocitidina, pseudoisocitidina, 5-aminoaliluridina, 5-yodouridina, N1-metilpseudouridina, 5,6-dihidrouridina, α -tiouridina, 4-tiouridina, 6-azauridina, 5-hidroxiuridina, desoxitimidina, 5-metiluridina, pirrolocitidina, inosina, α -tioguanosina, 6-metilguanosa, 5-metilcitosina, 8-oxoguanosina, 7-deazaguanosina, N1-metiladenosina, 2-amino-6-cloropurina, N6-metil-2-aminopurina, pseudoisocitidina, 6-cloropurina, N6-metiladenosina, α -tioadenosina, 8-azidoadenosina, 7-deaza-adenosina.

Modificación de lípidos:

40 Según una realización adicional, un ARN modificado como se define aquí puede contener una modificación lipídica. Tal ARN modificado con lípidos típicamente comprende un ARN como se define aquí. Tal ARN modificado con lípidos como se define aquí típicamente comprende además al menos un enlazador unido covalentemente con ese ARN y al menos un lípido unido covalentemente con el enlazador respectivo. Alternativamente, el ARN modificado con lípidos comprende al menos un ARN como se define aquí y al menos un lípido (bifuncional) unido covalentemente (sin enlazador) con ese ARN. Según una tercera alternativa, el ARN modificado con lípidos comprende una molécula de ARN como se define aquí, al menos un enlazador unido covalentemente con ese ARN y al menos un lípido unido covalentemente con el enlazador respectivo, y también al menos un lípido (bifuncional) unido covalentemente (sin enlazador) con ese ARN. En este contexto, es particularmente preferente que la modificación lipídica esté presente en los extremos terminales de una secuencia de ARN lineal.

Optimización de contenido G/C:

55 De acuerdo con una realización especialmente preferente, el ARN de la composición aquí descrita está modificado. Preferiblemente, el ARN es estabilizado por modificación y preferiblemente aumentando el contenido en G (guanosa)/C (citosina) del ARN de su región de codificación. Allí, el contenido de G/C del ARN de la región de codificación aumenta en comparación con el contenido de G/C de la región de codificación

de su secuencia de codificación particular de tipo salvaje, es decir del ARN no modificado. Sin embargo, la secuencia de aminoácidos codificada del ARN preferiblemente no se modifica en comparación con la secuencia de aminoácidos codificada del ARN natural/no modificado particular.

5 La modificación del contenido de G/C del ARN de la composición se basa en el hecho de que las secuencias de ARN que tienen un contenido aumentado de G (guanósina)/C (citósina) son más estables que las secuencias de ARN que tienen un mayor contenido de A (adenósina)/U (uracilo). Por tanto, los codones de una secuencia de codificación o un ARN completo pueden variar en comparación con la secuencia de codificación de tipo salvaje o ARN de modo que incluyen una mayor cantidad de nucleótidos G/C mientras se mantiene la secuencia de aminoácidos traducida. Con respecto al hecho de que varios codones codifican para un mismo aminoácido (la llamada degeneración del código genético), se pueden determinar los codones más favorables para la estabilidad (el llamado uso alternativo de codones). Dependiendo del aminoácido que codifica el al menos un ARN, existen varias posibilidades de modificación de la secuencia de ARN en comparación con su secuencia de tipo salvaje. En el caso de los aminoácidos que están codificados por codones, que contienen exclusivamente nucleótidos G o C, no es necesaria ninguna modificación del codón. Así, los codones para Pro (CCC o CCG), Arg (CGC o CGG), Ala (GCC o GCG) y Gly (GGC o GGG) no requieren modificación, ya que no hay A ni U. Por el contrario, los codones que contienen los nucleótidos A y/o U pueden modificarse mediante la sustitución de otros codones que codifican los mismos aminoácidos pero que no contienen A y/o U. Ejemplos de estos son: los codones para Pro pueden modificarse de CCU o CCA a CCC o CCG; los codones para Arg pueden modificarse de CGU o CGA o AGA o AGG a CGC o CGG; los codones para Ala se pueden modificar de GCU o GCA a GCC o GCG; los codones para Gly pueden modificarse de GGU o GGA a GGC o GGG. En otros casos, aunque los nucleótidos A o U no pueden eliminarse de los codones, es posible disminuir el contenido de A y U empleando codones con un contenido más bajo de nucleótidos A y/o U. Ejemplos de estos son: los codones para Phe pueden modificarse de UUU a UUC; los codones para Leu pueden modificarse de UUA, UUG, CUU o CUA a CUC o CUG; los codones para Ser se pueden modificar de UCU o UCA o AGU a UCC, UCG o AGC; el codón para Tyr se puede modificar de UAU a UAC; el codón para Cys se puede modificar de UGU a UGC; el codón para His puede modificarse de CAU a CAC; el codón para Gln puede modificarse de CAA a CAG; los codones para Ile pueden modificarse de AUU o AUA a AUC; los codones para Thr pueden modificarse de ACU o ACA a ACC o ACG; el codón para Asn se puede modificar de AAU a AAC; el codón para Lys puede modificarse de AAA a AAG; los codones para Val pueden modificarse de GUU o GUA a GUC o GUG; el codón para Asp se puede modificar de GAU a GAC; el codón para Glu puede modificarse de GAA a GAG; el codón de parada UAA se puede modificar a UAG o UGA. En el caso de los codones para Met (AUG) y Trp (UGG), por otro lado, no hay posibilidad de modificación de secuencia. Las sustituciones citadas anteriormente se pueden aplicar individualmente o en todas las combinaciones posibles para aumentar el contenido de G/C del al menos un ARNm de la composición aquí descrita en comparación con su ARNm de tipo salvaje particular (es decir, la secuencia original). Así, por ejemplo, todos los codones para Thr que ocurren en la secuencia de tipo salvaje pueden modificarse a ACC (o ACG).

Sin embargo, preferiblemente, por ejemplo, se usan combinaciones de las posibilidades de sustitución anteriores:

40 sustitución de todos los codones que codifican Thr en la secuencia original (ARNm de tipo salvaje) a ACC (o ACG) y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Ser a UCC (o UCG o AGC);
 sustitución de todos los codones que codifican Ile en la secuencia original a AUC y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Lys a AAG y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Tyr a UAC;
 45 sustitución de todos los codones que codifican Val en la secuencia original a GUC (o GUG) y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Glu a GAG y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Ala para GCC (o GCG) y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Arg a CGC (o CGG);
 sustitución de todos los codones que codifican Val en la secuencia original a GUC (o GUG) y
 50 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Glu a GAG y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Ala para GCC (o GCG) y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Gly a GGC (o GGG) y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Asn a AAC;
 sustitución de todos los codones que codifican Val en la secuencia original a GUC (o GUG) y
 55 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Phe a UUC y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Cys a UGC y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Leu a CUG (o CUC) y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Gln a CAG y
 sustitución de todos los codones que originalmente codifican Pro a CCC (o CCG); etc.

60 Preferiblemente, el contenido de G/C de la región de codificación del al menos un ARN aquí descrito se incrementa en al menos un 7%, más preferiblemente en al menos un 15%, con particular preferencia en al

- menos un 20%, en comparación con el contenido de G/C de la región de codificación del ARN de tipo salvaje. Según una realización específica al menos un 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, más preferiblemente al menos un 70%, incluso más preferiblemente al menos un 80% y con total preferencia al menos un 90%, 95% o incluso el 100% de los codones sustituibles en la región que codifica una proteína o péptido como se define aquí o su fragmento o variante o la secuencia completa de la secuencia de ARN de tipo salvaje o la secuencia codificante están sustituidos, aumentando así el contenido en G/C de dicha secuencia. En este contexto, es particularmente preferente aumentar el contenido de G/C del al menos un ARN de la composición aquí descrita al máximo (es decir, el 100% de los codones sustituibles), en particular en la región de codificación, en comparación con la secuencia de tipo salvaje.
- 5
- 10 Otra modificación preferente de la secuencia de codificación del al menos un ARN de la composición se basa en el hallazgo de que la eficiencia de traducción también está determinada por una frecuencia diferente en la aparición de ARNt en las células. Por tanto, si los denominados "codones raros" están presentes en gran medida en la al menos una región codificante del al menos un ARN de la composición aquí descrita, la al menos una secuencia de ARN modificada correspondientemente se traduce a un nivel significativamente más bajo
- 15 que en el caso en que están presentes codones que codifican un ARNt relativamente "frecuente". En el al menos un ARN modificado de la composición aquí descrita, la región que codifica uno de los péptidos o proteínas definidos anteriormente está modificada en comparación con la región correspondiente del ARN de tipo salvaje de modo que al menos un codón de la secuencia de tipo salvaje que codifica un ARNt que es relativamente raro en la célula se intercambia por un codón que codifica un ARNt que es relativamente frecuente
- 20 en la célula y transporta el mismo aminoácido que el ARNt relativamente raro. Con esta modificación, la secuencia de al menos una región codificante del al menos un ARN de la composición aquí descrita se modifica de manera que se insertan codones para los que están disponibles ARNt que ocurren con frecuencia. En otras palabras, con esta modificación todos los codones de la secuencia de tipo salvaje que codifican para un ARNt que es relativamente raro en la célula pueden intercambiarse en cada caso por un codón que codifica para un
- 25 ARNt que es relativamente frecuente en la célula y que, en cada caso, lleva el mismo aminoácido que el ARNt relativamente raro. Qué ARNt ocurren con relativa frecuencia en la célula y cuáles, en contraste, son relativamente raros son conocidos por el experto en la materia; véase, por ejemplo, Akashi, Curr. Opin. Gineta. Dev. 2001, 11(6): 660-666. Son particularmente preferentes los codones empleados para el aminoácido particular del ARNt que ocurren con más frecuencia, por ejemplo el codón Gly que usa el ARNt que ocurre con mayor frecuencia en la célula (humana). Es particularmente preferente vincular el contenido secuencial de G/C que está incrementado, en particular maximizado, en el al menos un ARN modificado de la composición aquí descrita, con los codones "frecuentes", sin modificar la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada por la región codificante del ARN. Esta realización preferente permite la provisión de al menos un ARN de la composición aquí descrita traducido y estabilizado (modificado) de manera particularmente eficiente. La
- 30 determinación del al menos un ARN modificado de la composición aquí descrita como se indica anteriormente (mayor contenido de G/C; intercambio de ARNt) se puede llevar a cabo utilizando el programa informático explicado en el documento WO 02/098443. Usando este programa de ordenador, la secuencia de nucleótidos de cualquier ARN codificante deseado puede modificarse con la ayuda del código genético o de la naturaleza degenerativa del mismo, de modo que se obtiene un contenido máximo de G/C, en combinación con el uso de codones que codifican para los ARNt que ocurren tan frecuentemente como es posible en la célula, preferentemente no modificándose la secuencia de aminoácidos codificada por el al menos un ARN modificado
- 35 en comparación con la secuencia no modificada. Alternativamente, también es posible modificar solo el contenido de G/C o solo el uso del codón en comparación con la secuencia original. El código fuente en Visual Basic 6.0 (entorno de desarrollo utilizado: Microsoft Visual Studio Enterprise 6.0 con Servicepack 3) también se describe en la WO 02/098443. En una realización preferente adicional, el contenido de A/U en el entorno del sitio de unión al ribosoma del al menos un ARN de la composición aquí descrita aumenta en comparación con el contenido de A/U en el entorno del sitio de unión a ribosomas de su ARN particular de tipo salvaje. Esta modificación (un mayor contenido de A/U alrededor del sitio de unión al ribosoma) aumenta la eficiencia de la unión del ribosoma del al menos un ARN. A su vez, una unión efectiva de los ribosomas al sitio de unión al ribosoma (secuencia Kozak: GCCGCCACCAUGG (SEQ ID NO: 10.071), el AUG forma el codón de inicio) tiene el efecto de una traducción eficiente del al menos un ARN. De acuerdo con una realización adicional, el al menos un ARN de la composición aquí descrita puede modificarse con respecto a elementos de secuencia potencialmente desestabilizadores. En particular, la región codificante y/o la región no traducida 5' y/o 3' de este ARN puede modificarse en comparación con el ARN de tipo salvaje particular de modo que no contenga
- 40 elementos de secuencia desestabilizantes, preferentemente no modificándose la secuencia de aminoácidos del al menos un ARN modificado en comparación con el ARN particular de tipo salvaje. Es sabido que, por ejemplo, en secuencias de ARN eucariotas, se existen elementos de secuencia desestabilizantes (DSE), a los que se unen las proteínas señalizadoras y regulan la degradación enzimática del ARN *in vivo*. Así, para una mayor estabilización del al menos un ARN modificado, opcionalmente en la región que codifica para una proteína o péptido como se define aquí, se pueden llevar a cabo una o más de tales modificaciones en comparación con la región correspondiente del ARN de tipo salvaje, de modo que no hay o esencialmente no hay elementos de secuencia desestabilizadores. Según la presente descripción, el DSE presente en las regiones no traducidas (3'- y/o 5'-UTR) también se puede eliminar del al menos un ARN de la composición aquí descrita mediante tales modificaciones. Tales secuencias desestabilizadoras son, por ejemplo, secuencias
- 45
- 50
- 55
- 60

- ricas en AU (AURES), que existen en las regiones 3'-UTR de numerosos ARN inestables (Caput et al., Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos 1986, 83: 1670 a 1674). El al menos un ARN de la composición aquí descrita, por tanto, preferiblemente está modificado en comparación con el ARN de tipo salvaje de modo que el al menos un ARN no contiene tales secuencias desestabilizadoras. Esto también se aplica a los motivos de secuencia que son reconocidos por posibles endonucleasas, por ejemplo la secuencia GAACAAG que está contenida en el segmento 3'-UTR del gen que codifica para el receptor de transferrina (Binder et al., EMBO J. 1994, 13: 1969 a 1980). Estos motivos de secuencia también se eliminan preferiblemente del al menos un ARN de la composición aquí descrita.

Adaptación al uso de codones humanos

- 10 Una modificación preferente adicional del al menos un ARN de la composición aquí descrita se basa en el descubrimiento de que los codones que codifican el mismo aminoácido aparecen con diferente frecuencia. En el al menos un ARN modificado de la composición aquí descrita, la región que codifica uno de los péptidos o proteínas definidos anteriormente (secuencia codificante) preferentemente se modifica en comparación con la región correspondiente del ARN de tipo salvaje de manera que la frecuencia de los codones que codifican el mismo aminoácido corresponde a la frecuencia natural de ese codón presente en el codón empelado en la codificación humana, por ejemplo como se muestra en la Tabla 13.

- 20 Esto significa, por ejemplo, que para el aminoácido Alanina (Ala) presente en la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada, la secuencia de codificación de tipo salvaje se adapta de manera que el codón "GCC" se usa con un frecuencia de 0,40, el codón "GCT" se usa con una frecuencia de 0,28, el codón "GCA" se usa con una frecuencia de 0,22 y el codón "GCG" se usa con una frecuencia de 0,10 etc. (ver Tabla 13).

Tabla 13: Uso de codones humanos (codón más frecuente marcado con un asterisco)

Aminoácido	codón	fracción	/1000
Ala	GCG	0,10	7,4
Ala	GCA	0,22	15,8
Ala	GCT	0,28	18,5
Ala	GCC*	0,40	27,7
Cys	TGT	0,42	10,6
Cys	TGC*	0,58	12,6
Asp	GAT	0,44	21,8
Asp	GAC*	0,56	25,1
Glu	GAG*	0,59	39,6
Glu	GAA	0,41	29,0
Phe	TTT	0,43	17,6
Phe	TTC*	0,57	20,3
Gly	GGG	0,23	16,5
Gly	GGA	0,26	16,5
Gly	GGT	0,18	10,8
Gly	GGC*	0,33	22,2
His	CAT	0,41	10,9
His	CAC*	0,59	15,1
Ile	ATA	0,14	7,5
Ile	ATT	0,35	16,0
Ile	ATC*	0,52	20,8
Lys	AAG*	0,60	31,9
Lys	AAA	0,40	24,4
Leu	TTG	0,12	12,9
Leu	TTA	0,06	7,7
Leu	CTG*	0,43	39,6
Leu	CTA	0,07	7,2
Leu	CTT	0,12	13,2
Leu	CTC	0,20	19,6
Met	ATG*	1	22,0
Asn	AAT	0,44	17,0
Asn	AAC*	0,56	19,1
Pro	CCG	0,11	6,9
Pro	CCA	0,27	16,9
Pro	CCT	0,29	17,5
Pro	CCC*	0,33	19,8
Gln	CAG*	0,73	34,2

Gln	CAA	0,27	12,3
Arg	AGG	0,22	12,0
Arg	AGA*	0,21	12,1
Arg	CGG	0,19	11,4
Arg	CGA	0,10	6,2
Arg	CGT	0,09	4,5
Arg	CGC	0,19	10,4
Ser	AGT	0,14	12,1
Ser	AGC*	0,25	19,5
Ser	TCG	0,06	4,4
Ser	TCA	0,15	12,2
Ser	TCT	0,18	15,2
Ser	TCC	0,23	17,7
Thr	ACG	0,12	6,1
Thr	ACA	0,27	15,1
Thr	ACT	0,23	13,1
Thr	ACC*	0,38	18,9
Val	GTG*	0,48	28,1
Val	GTA	0,10	7,1
Val	GTT	0,17	11,0
Val	GTC	0,25	14,5
Trp	TGG*	1	13,2
Tyr	TAT	0,42	12,2
Tyr	TAC*	0,58	15,3
Parada	TGA*	0,61	1,6
Parada	TAG	0,17	0,8
Parada	TAA	0,22	1,0

Optimización de codones

- 5 Según una realización particularmente preferente, se prefiere que todos los codones de la secuencia de tipo salvaje de la región codificante del al menos un ARN de la composición que codifican un ARNt que es relativamente raro en la célula se intercambien en cada caso por un codón que codifica un ARNt que es relativamente frecuente en la célula y que, en cada caso, lleva el mismo aminoácido que el ARNt relativamente raro. Por tanto, es particularmente preferente el uso de los codones más frecuentes para cada aminoácido codificado (véase la Tabla 13, los codones más frecuentes están marcados con asterisco).
- 10 Esto significa, por ejemplo, que para el aminoácido Alanina (Ala) presente en la secuencia de aminoácidos del péptido o proteína codificados, la secuencia de codificación de tipo salvaje se adapta de manera que siempre se usa el codón humano más frecuente "GCC" para dicho aminoácido o, para el aminoácido cisteína (Cys), la secuencia de tipo salvaje se adapta de manera que siempre se usa el codón humano más frecuente "TGC para dicho aminoácido, etc.

15 Enriquecimiento en C

De acuerdo con otra realización, el al menos un ARN de la composición aquí descrita puede modificarse aumentando el contenido de C del ARN, preferiblemente de la región codificante del al menos un ARN.

- 20 En una realización particularmente preferente, el contenido en C de la región de codificación del al menos un ARN de la composición aquí descrita está modificado, en particular aumentado, en comparación con el contenido en C de la región de codificación del ARN particular de tipo salvaje, es decir, el ARNm no modificado. La secuencia de aminoácidos codificada por el al menos un ARN preferiblemente no está modificada en comparación con la secuencia de aminoácidos codificada por el ARN de tipo salvaje particular.

- 25 En una realización preferente, el ARN modificado se modifica de modo que se obtiene al menos un 10% , 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% u 80%, o al menos el 90% del contenido máximo teórico de citosina o incluso un contenido máximo de citosina.

En realizaciones preferentes adicionales, al menos un 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o incluso el 100% de los codones de la secuencia de tipo salvaje del ARN diana, esto es el "el contenido en

citocina optimizable", se reemplaza por codones con un mayor contenido en citosina tal como está presente en la secuencia de tipo salvaje.

5 En una realización preferente adicional, algunos de los codones de la secuencia de codificación de tipo salvaje pueden modificarse adicionalmente de modo que un codón para un ARNt relativamente raro en la célula se intercambie por un codón con un ARNt relativamente frecuente en la célula, siempre que el codón sustituido para un ARNt relativamente frecuente lleve el mismo aminoácido que el ARNt relativamente raro del codón original de tipo salvaje. Preferiblemente, todos los codones para un ARNt relativamente raro se reemplazan por un codón para un ARNt relativamente frecuente en la célula, excepto los codones que codifican aminoácidos, que están codificados exclusivamente por codones que no contienen citosina, o excepto para la glutamina (Gln), que está codificada por dos codones que contienen cada uno el mismo número de citosinas.

10 En otra realización preferente aquí descrita, el ARN modificado diana se modifica de manera que se obtiene al menos el 80% o al menos el 90% del contenido máximo teórico de citosina, o incluso el contenido máximo, mediante codones que codifican ARNt relativamente frecuentes en la célula, permaneciendo la secuencia de aminoácidos sin cambios.

15 Debido a la degeneración natural del código genético, más de un codón puede codificar un aminoácido particular. En consecuencia, 18 de los 20 aminoácidos naturales están codificados por más de 1 codón (con Tryp y Met como excepción), por ejemplo por 2 codones (por ejemplo Cys, Asp, Glu), por tres codones (por ejemplo Ile), por 4 codones (por ejemplo Al, Gly, Pro) o por 6 codones (por ejemplo Leu, Arg, Ser). Sin embargo, no todos los codones que codifican el mismo aminoácido se utilizan con la misma frecuencia en condiciones *in vivo*. Dependiendo de cada organismo, se establece un perfil típico de uso de codones.

20 El término "codón optimizable en el contenido de citosina" como se usa en el contexto de la presente descripción se refiere a codones que tienen una cantidad menor de citosinas que otros codones que codifican el mismo aminoácido. En consecuencia, cualquier codón de tipo salvaje que puede ser reemplazado por otro codón que codifique para el mismo aminoácido y que tenga un mayor número de citosinas dentro de ese codón se considera optimizable en citosina (C-optimizable). Cualquiera de estas sustituciones de un codón de tipo salvaje optimizable en C por el codón optimizado en C específico dentro de una región de codificación de tipo salvaje aumenta su contenido general de C y refleja una secuencia de ARN modificado enriquecida en C. Una secuencia de ARN maximizada en C contiene codones optimizados en C para todos los codones potencialmente optimizables en C. En consecuencia, el 100% o todos los codones C-optimizables teóricamente reemplazables están en estas condiciones, realmente reemplazados por codones optimizados en C en toda la longitud de la región de codificación.

30 En este contexto, los codones optimizables en el contenido en citosina son codones que contienen un número menor de citosinas que otros codones que codifican el mismo aminoácido.

35 Cualquiera de los codones GCG, GCA, GCU codifica el aminoácido Ala, pudiendo intercambiarse por el codón GCC que codifica el mismo aminoácido, y/o

el codón UGU que codifica Cys puede intercambiarse por el codón UGC que codifica el mismo aminoácido, y/o

el codón GAU que codifica para Asp puede intercambiarse por el codón GAC que codifica el mismo aminoácido, y/o

40 el codón UUU que codifica para Phe puede intercambiarse por el codón UUC que codifica el mismo aminoácido, y/o

cualquiera de los codones GGG, GGA, GGU que codifican Gly puede intercambiarse por el codón GGC que codifica el mismo aminoácido, y/o

el codón CAU que codifica His puede intercambiarse por el codón CAC que codifica el mismo aminoácido, y/o

cualquiera de los codones AUA, AUU que codifican para Ile puede intercambiarse por el codón AUC, y/o

45 cualquiera de los codones UUG, UUA, CUG, CUA, CUU que codifica para Leu puede intercambiarse por el codón CUC que codifica el mismo aminoácido y/o

el codón AAU que codifica para Asn puede intercambiarse por el codón AAC que codifica el mismo aminoácido, y/o

50 cualquiera de los codones CCG, CCA, CCU que codifican para Pro puede intercambiarse por el codón CCC que codifica el mismo aminoácido, y/o

cualquiera de los codones AGG, AGA, CGG, CGA, CGU que codifican Arg puede intercambiarse por el codón CGC que codifica el mismo aminoácido, y/o

cualquiera de los codones AGU, AGC, UCG, UCA, UCU que codifican Ser puede intercambiarse por el codón UCC que codifica el mismo aminoácido, y/o

- 5 cualquiera de los codones ACG, ACA, ACU que codifican Thr puede intercambiarse por el codón ACC que codifica el mismo aminoácido, y/o

cualquiera de los codones GUG, GUA, codificación GUU para Val puede intercambiarse por el codón GUC que codifica el mismo aminoácido, y/o

el codón UAU que codifica Tyr puede intercambiarse por el codón UAC que codifica el mismo aminoácido.

- 10 En cualquiera de los casos anteriores, el número de citosinas se incrementa en 1 por codón intercambiado. El intercambio de todos los codones no optimizados en C (correspondientes a los codones optimizables en C) de la región de codificación da como resultado una secuencia de codificación maximizada en C. En el contexto de la presente descripción, al menos el 70% de los codones no optimizados en C se reemplazan por codones optimizados en C de la secuencia de tipo salvaje se reemplazan por codones optimizados en C, preferiblemente al menos 80%, más preferiblemente al menos 90%, dentro de la región de codificación.

Puede ser preferente que, para algunos aminoácidos, el porcentaje de codones C-optimizables reemplazados por codones optimizados en C sea inferior al 70%, mientras que para otros aminoácidos el porcentaje de codones reemplazados sea superior al 70% para cumplir con el porcentaje general de C-optimización de al menos el 70% de todos los codones de tipo salvaje optimizables en C de la región de codificación.

- 20 Preferiblemente, en los ARN C-optimizados aquí descritos, al menos el 50% de los codones de tipo salvaje C-optimizables para cualquier aminoácido dado se reemplazan por codones C-optimizados, por ejemplo cualquier ARN enriquecido en C modificado contiene preferiblemente al menos un 50% de codones optimizados en C en las posiciones de los codones de tipo salvaje optimizables en C que codifican para cualquiera de los aminoácidos mencionados anteriormente Ala, Cys, Asp, Phe, Gly, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Arg, Ser, Thr, Val y Tyr, preferiblemente al menos un 60%.

- 30 En este contexto, los codones que codifican aminoácidos que no son optimizables en el contenido en citosina y que, sin embargo, están codificados por al menos dos codones pueden usarse sin ningún proceso de selección adicional. Sin embargo, el codón de la secuencia de tipo salvaje que codifica un ARNt relativamente raro en la célula, por ejemplo una célula humana, puede intercambiarse por un codón que codifica un ARNt relativamente frecuente en la célula, por lo que ambos codifican el mismo aminoácido. Por consiguiente, el codón GAA relativamente raro que codifica Glu puede intercambiarse por el codón GAG relativamente frecuente que codifica el mismo aminoácido, y/o el codón AAA relativamente raro que codifica Lys puede intercambiarse por el codón AAG relativamente frecuente que codifica el mismo aminoácido, y/o el codón CAA relativamente raro que codifica para Gln se intercambia por el codón CAG relativamente frecuente que codifica el mismo aminoácido.

En este contexto, los aminoácidos Met (AUG) y Trp (UGG), que están codificados por un solo codón cada uno, permanecen sin cambios. Los codones de parada no están optimizados en cuanto al contenido de citosina; sin embargo, los codones de parada relativamente raros ámbar, ocre (UAA, UAG) pueden intercambiarse por el codón de parada ópalo relativamente frecuente (UGA).

- 40 Obviamente, las sustituciones citadas anteriormente pueden usarse individualmente, pero también en todas las combinaciones posibles para optimizar el contenido en citosina del ARN modificado en comparación con la secuencia de ARN de tipo salvaje.

- 45 En consecuencia, la región del ARN modificado que codifica el péptido o la proteína puede cambiarse en comparación con la región de codificación del ARN de tipo salvaje de manera que en un aminoácido codificado por al menos dos o más codones, de los cuales uno comprende una citosina adicional, dicho codón puede intercambiarse por el codón C-optimizado que comprende una citosina adicional, por lo que el aminoácido no se altera en comparación con la secuencia de tipo salvaje.

- 50 Las sustituciones, adiciones o eliminaciones de bases se llevan a cabo preferiblemente usando una matriz de ADN para la preparación de la molécula de ácido nucleico mediante técnicas de la mutagénesis dirigida a sitio, bien conocida, o con una unión de oligonucleótidos. En dicho proceso, para preparar el al menos un ARN como se define aquí, se puede transcribir una molécula de ADN correspondiente *in vitro*. Esta matriz de ADN comprende preferiblemente un promotor adecuado, por ejemplo un promotor T7 o SP6, para la transcripción *in vitro*, que es seguido por la secuencia de nucleótidos deseada para el al menos ARN a preparar y una señal de terminación para la transcripción *in vitro*. La molécula de ADN, que forma la matriz del al menos un ARN de

- interés, puede prepararse por proliferación fermentativa y posterior aislamiento como parte de un plásmido que puede replicarse en bacterias. Plásmidos que pueden citarse como adecuados en el contexto de la presente descripción son, por ejemplo, los plásmidos pT7Ts (número de acceso GenBank U26404; Lai et al., Development 1995, 121: 2349 a 2360), la serie pGEM*, por ejemplo pGEM*-1 (número de acceso GenBank X65300; de Promega) y pSP64 (número de acceso GenBank X65327); véase también Mezei y Storts, Purification of PCR Products, en: Griffin y Griffin (ed.), PCR Technology: Current Innovation, CRC Press, Boca Raton, FL, 2001.

Fragmentos y variantes

- 10 En el contexto de la presente descripción, se incorporan además los péptidos y proteínas descritos aquí, que muestran un cierto grado de identidad de secuencia. Por tanto, los fragmentos y variantes de las proteínas y péptidos como se definen aquí se describen en este contexto.

Además, fragmentos y variantes de ácidos nucleicos como se definen en el presente documento se describen por lo tanto aquí en el contexto de la presente descripción.

- 15 Péptidos mono-bi-multicistronicos, autoescindibles, etc.

- La región de codificación del al menos un ARN de la composición aquí descrita puede producirse como un ARN mono, di o incluso multicistrico, es decir, una secuencia de ARN que porta las secuencias de codificación de una, dos o más proteínas o péptidos. Dichas secuencias codificantes de los ARN di- o incluso multicistronicos pueden estar separadas por al menos una secuencia de sitio de entrada de ribosoma interno (IRES). Por tanto, el al menos un ARN aquí descrito puede comprender además una o más secuencias de sitios de entrada de ribosomas internos (IRES) o motivos IRES, que pueden separar varios marcos de lectura abiertos, especialmente si el ARN codifica para dos o más péptidos o proteínas (ARN bi- o multicistrico). Por ejemplo, la secuencia del sitio de entrada al ribosoma interno puede derivarse del EMCV (virus de la encefalomiocarditis) o del FMDV (virus de la fiebre aftosa). Además, pueden usarse péptidos señal de autoescisión que inducen la escisión del polipéptido resultante que comprende varias proteínas o péptidos, por ejemplo una secuencia peptídica señal autoescindible derivada del péptido F2A de FMDV.

Combinaciones de diferentes secuencias de codificación

- En una realización preferida, la composición aquí descrita comprende al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más ARN, cada uno de los cuales comprende al menos uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más regiones codificantes que codifican al menos una o más citoquinas como se definieron anteriormente y/o al menos una o más quimioquinas como se definieron anteriormente y/o al menos uno o más productos génicos suicidas como se definieron anteriormente y/o al menos uno o más péptidos o proteínas inmunogénicos como se definió anteriormente y/o al menos uno o más inductores de la apoptosis como se definió anteriormente y/o al menos uno o más inhibidores de la angiogénesis como se definió anteriormente y/o al menos una o más proteínas de choque térmico como se definieron anteriormente y/o al menos uno o más antígenos tumorales como se definieron anteriormente y/o al menos uno o más inhibidores de β -catenina como se definió anteriormente y/o al menos uno o más activadores de la vía STING como se definió anteriormente y/o al menos uno o más modulador de punto de control como se definió anteriormente y/o al menos uno o más activadores inmune innatos y/o al menos uno o más anticuerpos como se definió anteriormente y/o al menos un receptor negativo dominante y/o al menos uno o más receptores señuelo y/o al menos uno o más inhibidores de células supresoras derivadas mieloides (MDSC) y/o al menos uno o más inhibidores de la ruta IDO y/o al menos una o más proteínas o péptidos que se unen a inhibidores de la apoptosis como se definió anteriormente, o variantes o fragmentos de los mismos.

Regiones no traducidas (UTR)

- 45 Mediante otra realización, el al menos un ARN de la composición aquí descrita comprende preferiblemente al menos uno de los siguientes elementos estructurales: un elemento de región no traducida 5' y/o 3' (elemento UTR), en particular un elemento 5'-UTR que comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de la 5'-UTR de un gen TOP o de un fragmento, homólogo o variante del mismo, o un elemento 5'- y/o 3'-UTR que puede derivarse de un gen que proporciona un ARNm estable o de un homólogo, fragmento o variante del mismo; una estructura tallo-bucle de histona, preferiblemente un tallo-bucle de histona en su región no traducida 3'; una estructura 5'-CAP; una cola poli-A (secuencia poli (A)); o una secuencia poli(C).

- En una realización preferente, el al menos un ARN comprende al menos un elemento 5'- o 3'-UTR. En este contexto, un elemento UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de la 5'- o 3'-UTR de cualquier gen natural o que se deriva de un fragmento, homólogo o variante de la 5'- o 3'-UTR de un gen. Preferiblemente, el elemento 5'- o 3'-UTR usado según la presente descripción es heterólogo a la región codificante del ARN de la composición aquí descrita. Incluso si son preferentes los elementos 5'- o 3'-UTR

derivados de genes naturales, también pueden usarse elementos UTR diseñados sintéticamente en el contexto de la presente descripción.

5 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN comprende al menos un elemento de región no traducida 5' (elemento 5'-UTR) que comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de la 5'-UTR de un gen TOP o que se deriva de un fragmento, homólogo o variante de la 5'-UTR de un gen TOP.

Es particularmente preferente que el elemento 5'-UTR no comprenda un motivo TOP o un 5'-TOP como se definió anteriormente.

10 En algunas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico del elemento 5'-UTR que se deriva de una 5'-UTR de un gen TOP termina en su extremo 3' con un nucleótido en la posición 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aguas arriba del codón de inicio (por ejemplo A(U/T)G) del gen o ARNm del que deriva. Por tanto, el elemento 5'-UTR no comprende ninguna parte de la región de codificación de proteínas. Así, preferiblemente, la única parte codificante de proteínas del ARNm de la composición aquí descrita es proporcionada por la región codificante.

15 La secuencia de ácido nucleico que se deriva de la 5'-UTR de un gen TOP se deriva preferiblemente de un gen TOP eucariota, preferiblemente un gen TOP vegetal o animal, más preferiblemente un gen TOP de cordado, incluso más preferiblemente de un gen TOP de vertebrado, con total preferencia de un gen TOP de mamífero, tal como un gen TOP humano.

20 Por ejemplo, el elemento 5'-UTR se selecciona preferiblemente de elementos 5'-UTR que comprenden o consisten en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una secuencia de ácido nucleico seleccionada del grupo consistente en las SEQ ID NO. 1-1363, SEQ ID NO. 1395, SEQ ID NO. 1421 y SEQ ID NO. 1422 de la solicitud de patente WO2013/143700, de homólogos de SEQ ID No. 1-1363, SEQ ID NO. 1395, SEQ ID NO. 1421 y SEQ ID NO. 1422 de la solicitud de patente WO2013/143700, de una variante de los mismos, o preferentemente de una secuencia de ARN correspondiente. El término "homólogos de SEQ ID No. 1-1363, SEQ ID NO. 1395, SEQ ID NO. 1421 y SEQ ID NO. 1422 de la solicitud de patente WO2013/143700" se refiere a secuencias de otras especies que no son homo sapiens, que son homólogas a las secuencia según SEQ ID NO. 1-1363, SEQ ID NO. 1395, SEQ ID NO. 1421 y SEQ ID NO. 1422 la solicitud de patente WO2013/143700.

25 En una realización preferida, el elemento 5'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una secuencia de ácido nucleico que se extiende desde la posición de nucleótido 5 (es decir, el nucleótido que se encuentra en la posición 5 de la secuencia) a la posición de nucleótido inmediatamente 5' al codón de inicio (ubicado en el extremo 3' de las secuencias), por ejemplo la posición de nucleótidos inmediatamente 5' respecto a la secuencia ATG de una secuencia de ácido nucleico seleccionada de las SEQ ID NO. 1-1363, SEQ ID NO. 1395, SEQ ID NO. 1421 y SEQ ID NO. 1422 de la solicitud de patente WO2013/143700, de los homólogos de SEQ ID NO. 1-1363, SEQ ID NO. 1395, SEQ ID NO. 1421 y SEQ ID NO. 1422 de la solicitud de patente WO2013/143700, de una variante de las mismas, de o una secuencia de ARN correspondiente. Es particularmente preferente que el elemento 5'-UTR se derive de una secuencia de ácido nucleico que se extiende desde la posición de nucleótido inmediatamente 3' a la 5'-TOP hasta la posición de nucleótido inmediatamente 5' hasta el codón de inicio (ubicado en el extremo 3' de las secuencias), por ejemplo la posición de nucleótidos inmediatamente 5' respecto a la secuencia ATG de una secuencia de ácido nucleico seleccionada de SEQ ID NO. 1-1363, SEQ ID NO. 1395, SEQ ID NO. 1421 y SEQ ID NO. 1422 de la solicitud de patente WO2013/143700, de los homólogos de SEQ ID NO. 1-1363, SEQ ID NO. 1395, SEQ ID NO. 1421 y SEQ ID NO. 1422 de la solicitud de patente WO2013/143700, de una variante de las mismas, o de una secuencia de ARN correspondiente.

30 En una realización particularmente preferente, el elemento 5'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una 5'-UTR de un gen TOP que codifica una proteína ribosómica o de una variante de una 5'-UTR de un gen TOP que codifica una proteína ribosómica. Por ejemplo, el elemento 5'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una 5'-UTR de una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO.: 67, 170, 193, 244, 259, 554, 650, 675, 700, 721, 913, 1016, 1063, 1120, 1138 y 1284-1360 de la solicitud de patente WO2013/143700, de una secuencia de ARN correspondiente, de un homólogo de las mismas o de una variante de las mismas como se describe aquí, preferiblemente sin el motivo 5'-TOP. Como se describió anteriormente, la secuencia que se extiende desde la posición 5 al nucleótido inmediatamente 5' al ATG (que se encuentra en el extremo 3' de las secuencias) corresponde a la 5'-UTR de dichas secuencias.

35 Preferiblemente, el elemento 5'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una 5'-UTR de un gen TOP que codifica una proteína grande ribosómica (RPL) o de un homólogo o variante de una 5'-UTR de un gen TOP que codifica una proteína grande ribosómica (RPL). Por ejemplo, el elemento 5'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una 5'-UTR de una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO.: 67, 259, 1284-1318, 1344, 1346,

1348-1354, 1357, 1358, 1421 y 1422 de la solicitud de patente WO2013/143700, de una secuencia de ARN correspondiente, de un homólogo de las mismas o de una variante de las mismas como se describe aquí, preferiblemente sin el motivo 5'-TOP.

5 En una realización particularmente preferente, el elemento 5'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de la 5'-UTR de un gen de proteína ribosómica LARGE 32, preferiblemente de un gen de proteína ribosómica LARGE 32 (L32) de vertebrado, más preferiblemente de un gen de proteína ribosómica LARGE 32 (L32) de mamífero, más preferiblemente de un gen de proteína ribosómica LARGE 32 (L32) humana, o de una variante de la 5'-UTR de un gen de proteína ribosómica LARGE 32, preferiblemente de un gen de proteína ribosómica LARGE 32 (L32) de vertebrado, más preferiblemente de un gen de proteína ribosómica LARGE 32 (L32) de mamífero, con mayor preferencia de un gen de proteína ribosómica LARGE 32 (L32) humana, donde preferiblemente el elemento 5'-UTR no comprende la 5'-TOP de dicho gen.

Una secuencia preferente para un elemento 5'-UTR corresponde a la SEQ ID NO. 1368 de la solicitud de patente WO2013/143700.

15 Por consiguiente, en una realización particularmente preferente, el elemento 5'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos aproximadamente un 20%, preferiblemente de al menos aproximadamente un 40%, preferiblemente de al menos aproximadamente un 50%, preferiblemente de al menos aproximadamente un 60%, preferiblemente de al menos aproximadamente un 70%, más preferiblemente de al menos aproximadamente un 80%, más preferiblemente de al menos aproximadamente un 90%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente un 95%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente un 99% con la secuencia de ácido nucleico como se mencionó anteriormente (de acuerdo con SEQ ID NO.: 10.051 (5'-UTR de proteína ribosómica humana LARGE 32 que carece del tracto de oligopirimidina terminal 5': GGCGCTGCCTACGGAGGTGGCAGCCATCTCCTTCTCGGCATC; correspondiente a la SEQ ID NO.1368 de la solicitud de patente WO2013/143700)) o preferiblemente en una secuencia de ARN correspondiente, o donde el al menos un elemento 5'-UTR comprende o consiste en un fragmento de una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos aproximadamente un 40%, preferiblemente de al menos aproximadamente un 50%, más preferiblemente de al menos aproximadamente un 60%, preferiblemente de al menos aproximadamente un 70%, más preferiblemente de al menos aproximadamente un 80%, más preferiblemente de al menos aproximadamente un 90%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente un 95%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente un 99% con la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO. 10.052 o más preferiblemente en una secuencia de ARN correspondiente, donde, preferiblemente, el fragmento es como se describió anteriormente, es decir, es un tramo continuo de nucleótidos que representa al menos 20%, etc. de la 5'-UTR de longitud completa.

35 Preferiblemente, el fragmento tiene una longitud de al menos aproximadamente 20 nucleótidos o más, preferiblemente de al menos aproximadamente 30 nucleótidos o más, más preferiblemente de al menos aproximadamente 40 nucleótidos o más. Preferiblemente, el fragmento es un fragmento funcional como se describe aquí.

40 En algunas realizaciones, el ARNm de la composición aquí descrita comprende un elemento 5'-UTR que comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de la 5'-UTR de un gen TOP de vertebrado, tal como un mamífero, por ejemplo un gen TOP humano, seleccionado de RPSA, RPS2, RPS3, RPS3A, RPS4, RPS5, RPS6, RPS7, RPS8, RPS9, RPS10, RPS11, RPS12, RPS13, RPS14, RPS15, RPS15A, RPS16, RPS17, RPS18, RPS19, RPS20, RPS21, RPS23, RPS24, RPS25, RPS26, RPS27, RPS27A, RPS28, RPS29, RPS30, RPL3, RPL4, RPL5, RPL6, RPL7, RPL7A, RPL8, RPL9, RPL10, RPL10A, RPL11, RPL12, RPL13, RPL13, RPL13, RPL13, RPL13, RPL13, RPL13, RPL15, RPL17, RPL18, RPL18A, RPL19, RPL21, RPL22, RPL23, RPL23A, RPL24, RPL26, RPL27, RPL27A, RPL28, RPL29, RPL30, RPL31, RPL32, RPL34, RPL35, RPL35A, RPL36, RPLA, R37, RPL38, RPL39, RPL40, RPL41, RPLP0, RPLP1, RPLP2, RPLP3, RPLP0, RPLP1, RPLP2, EEF1A1, EEF1B2, EEF1D, EEF1G, EEF2, EIF3E, EIF3F, EIF3, EIFC, EIF3, HNRNPA1, TPT1, TUBB1, UBA52, NPM1, ATP5G2, GNB2L1, NME2, UQCRB, o de un homólogo o variante del mismo, donde preferiblemente el elemento 5'-UTR no comprende un motivo TOP o el 5'-TOP de dichos genes, y donde opcionalmente el elemento 5'-UTR comienza en su extremo 5' con un nucleótido situado en la posición 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aguas abajo del tracto de oligopirimidina terminal 5' (TOP) y donde además opcionalmente el elemento 5'-UTR que se deriva de una 5'-UTR de un gen TOP termina en su extremo 3' con un nucleótido en la posición 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aguas arriba del codón de inicio (A(U/T)G) del gen del que se deriva.

55 En realizaciones particularmente preferidas adicionales, el elemento 5'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de la 5'-UTR de un gen de proteína ribosómica LARGE 32 (RPL32), un gen de proteína ribosómica LARGE 35 (RPL35), un gen de proteína ribosómica LARGE 21 (RPL21), una ATP sintasa, un transportador H⁺, un complejo F1 mitocondrial, una subunidad alfa 1, un gen de músculo cardíaco (ATP5A1), un gen hidroxisteroide (17-beta) deshidrogenasa 4 (HSD17B4), un gen 1 inducido por andrógenos (AIG1), un gen Vic de la subunidad citocromo c oxidasa (COX6C) o un gen N-acilesfingosina amidohidrolasa

(ceramidasa ácida) 1 (ASAH1) o de una variante de los mismos, preferiblemente de un gen de proteína ribosómica LARGE 32 (RPL32) de vertebrado, un gen de proteína ribosómica LARGE 35 (RPL35) de vertebrado, un gen de proteína ribosómica LARGE 21 (RPL21) de vertebrado, una ATP sintasa de vertebrado, un transportador H⁺, un complejo F1 mitocondrial, una subunidad alfa 1, un gen de músculo cardíaco (ATP5A1), un gen hidroxisteroide (17-beta) deshidrogenasa 4 (HSD17B4) de vertebrado, un gen 1 inducido por andrógenos (AIG1) de vertebrado, un gen Vic de la subunidad citocromo c oxidasa (COX6C) de vertebrado o un gen N-acilesfingosina amidohidrolasa (ceramidasa ácida) 1 (ASAH1) de vertebrado, o de una variante de los mismos; más preferiblemente de un gen proteína ribosómica LARGE 32 (RPL32) de mamífero, un gen de proteína ribosómica LARGE 35 (RPL35) de mamífero, un gen de proteína ribosómica LARGE 21 (RPL21) de mamífero, una ATP sintasa de mamífero, un transportador H⁺, un complejo F1 mitocondrial, una subunidad alfa 1, un gen de músculo cardíaco (ATP5A1), un gen hidroxisteroide (17-beta) deshidrogenasa 4 (HSD17B4) de mamífero, un gen 1 inducido por andrógenos (AIG1) de mamífero, un gen Vic de la subunidad citocromo c oxidasa (COX6C) de mamífero, un gen N-acilesfingosina amidohidrolasa (ceramidasa ácida) 1 (ASAH1) de mamífero o de una variante de los mismos; con total preferencia de preferiblemente de un gen de proteína ribosómica LARGE 32 (RPL32) de vertebrado, un gen de proteína ribosómica LARGE 35 (RPL35) humana, un gen de proteína ribosómica LARGE 21 (RPL21) humana, una ATP sintasa humana, un transportador H⁺, un complejo F1 mitocondrial, una subunidad alfa 1, un gen de músculo cardíaco (ATP5A1), un gen hidroxisteroide (17-beta) deshidrogenasa 4 (HSD17B4) humano, un gen 1 inducido por andrógenos (AIG1) humano, un gen Vic de la subunidad citocromo c oxidasa (COX6C) humano o un gen N-acilesfingosina amidohidrolasa (ceramidasa ácida) 1 (ASAH1) humano, o de una variante de los mismos; donde preferiblemente el elemento 5'-UTR no comprende la 5'-TOP de dicho gen.

En este contexto, se prefieren particularmente los elementos 5'-UTR que comprenden una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con las SEQ ID NO. 10.051-10.054.

Por consiguiente, en una realización particularmente preferida, el elemento 5'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos aproximadamente un 40%, preferiblemente de al menos aproximadamente 50%, preferiblemente de al menos aproximadamente 60%, preferiblemente de al menos aproximadamente 70%, más preferiblemente de al menos aproximadamente 80%, más preferiblemente de al menos aproximadamente 90%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente 95%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente un 99% con la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO. 1368, o las SEQ ID NO. 1412-1420 de la solicitud de patente WO2013/143700, o una secuencia de ARN correspondiente, o donde el al menos un elemento 5'-UTR comprende o consiste en un fragmento de una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos aproximadamente un 20%, preferiblemente de al menos aproximadamente 40%, preferiblemente de al menos aproximadamente 50%, preferiblemente de al menos aproximadamente 60%, preferiblemente de al menos aproximadamente 70%, más preferiblemente de al menos aproximadamente 80% %, más preferiblemente de al menos aproximadamente 90%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente 95%, incluso con más preferencia de al menos aproximadamente un 99% con la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO. 1368, o las SEQ ID NO. 1412-1420 de la solicitud de patente WO2013/143700, donde, preferiblemente, el fragmento es como se describió anteriormente, es decir, un tramo continuo de nucleótidos que representan al menos el 20%, etc. de la 5'-UTR de longitud total. Preferiblemente, el fragmento tiene una longitud de al menos aproximadamente 20 nucleótidos o más, preferiblemente de al menos aproximadamente 30 nucleótidos o más, más preferiblemente de al menos aproximadamente 40 nucleótidos o más. Preferentemente, el fragmento es un fragmento funcional como se describe aquí.

Por consiguiente, en una realización particularmente preferida, el elemento 5'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos aproximadamente un 20%, preferiblemente de al menos aproximadamente 40%, preferiblemente de al menos aproximadamente 50%, preferiblemente de al menos aproximadamente 60%, preferiblemente de al menos aproximadamente 70%, más preferiblemente de al menos aproximadamente 80%, más preferiblemente de al menos aproximadamente 90%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente 95%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente un 99% con la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO. 10.053 (5'-UTR de ATP5A1 que carece del tracto de oligopirimidina terminal 5': GCGGCTCGGCCATTTTGTCCCAGTCAGTCCGGAGGCTGCGGCTGCAGAAGTACCGCCTGCGGAGTAAC TGCAAAG; correspondiente a la SEQ ID NO. 1414 de la solicitud de patente WO2013/143700 (5'-UTR de ATP5A1 que carece del tracto de oligopirimidina terminal 5') o preferiblemente con una secuencia de ARN correspondiente, o donde al menos un elemento 5'-UTR comprende o consiste en un fragmento de una secuencia de ácido nucleico que tiene una identidad de al menos aproximadamente un 40%, preferiblemente de al menos aproximadamente 50%, preferiblemente de al menos aproximadamente 60%, preferiblemente de al menos aproximadamente 70%, más preferiblemente de al menos aproximadamente 80%, más preferiblemente de al menos aproximadamente 90%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente 95%, incluso más preferiblemente de al menos aproximadamente un 99% con la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO. 26 (de la solicitud de patente WO2013/143700) o más preferiblemente con una secuencia de ARN correspondiente, donde, preferiblemente, el fragmento es como se

describió anteriormente, es decir, es un tramo continuo de nucleótidos que representa al menos el 20%, etc. de la 3'-UTR de longitud total. Preferiblemente, el fragmento tiene una longitud de al menos aproximadamente 20 nucleótidos o más, preferiblemente de al menos aproximadamente 30 nucleótidos o más, más preferiblemente de al menos aproximadamente 40 nucleótidos o más. Preferentemente, el fragmento es un
5 fragmento funcional como se describe aquí.

En una realización preferida adicional, el al menos un ARN de la composición aquí descrita comprende además al menos un elemento 3'-UTR que comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico derivada de la 3'-UTR de un gen de cordado, preferiblemente vertebrado, más preferiblemente mamífero, más preferiblemente un gen humano, o de una variante de la 3'-UTR de un gen de cordado, preferiblemente de vertebrado, más
10 preferiblemente de mamífero, con total preferencia de humano.

El término "elemento 3'-UTR" se refiere a una secuencia de ácido nucleico que comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una 3'-UTR o de una variante de una 3'-UTR. Un elemento 3'-UTR en el sentido de la presente descripción puede representar la 3'-UTR de un ARNm. Así, en el sentido de la presente descripción, preferiblemente un elemento 3'-UTR puede ser la 3'-UTR de un ARNm, preferiblemente de un ARNm artificial, o puede ser la plantilla de transcripción para una 3'-UTR de un ARNm. Por tanto, un
15 elemento 3'-UTR es preferiblemente una secuencia de ácido nucleico que corresponde a la 3'-UTR de un ARNm, preferiblemente a la 3'-UTR de un ARNm artificial, tal como un ARNm obtenido por transcripción de un vector constructo genéticamente modificado. Preferiblemente, el elemento 3'-UTR cumple la función de una 3'-UTR o codifica una secuencia que cumple la función de una 3'-UTR.

Preferiblemente, el ARNm aquí descrito comprende un elemento 3'-UTR que puede derivarse de un gen que se relaciona con un ARNm de vida media mejorada (que proporciona un ARNm estable), por ejemplo un elemento 3'-UTR como se define y describe abajo. Preferiblemente, el elemento 3'-UTR es una secuencia de ácido nucleico derivada de una 3'-UTR de un gen que codifica preferiblemente un ARNm estable, o de un homólogo, fragmento o variante de dicho gen.
20

En una realización particularmente preferente, el elemento 3'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una 3'-UTR de un gen seleccionado del grupo consistente en un gen de albúmina, un gen de α -globina, de β -globina, de tirosina-hidroxilasa, de lipoxigenasa y un gen de colágeno alfa, tal como un gen de colágeno alfa 1(I), o de una variante de una 3'-UTR de un gen seleccionado del grupo consistente en un gen de albúmina, un gen de α -globina, un gen de β -globina, un gen de tirosina-hidroxilasa, un gen de lipoxigenasa y un gen de colágeno alfa, tal como un gen de colágeno alfa 1(I) de acuerdo con las SEQ ID NO. 1369-1390 de la solicitud de patente WO2013/143700. En una realización particularmente preferente, el elemento 3'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una 3'-UTR de un gen de albúmina, preferiblemente un gen de albúmina de vertebrado, más preferiblemente un gen de albúmina de mamífero, más preferiblemente un gen de albúmina humana, más preferiblemente un gen de albúmina humana de acuerdo con la SEQ ID NO. 10063 (de acuerdo con la SEQ ID NO. 1369 de la solicitud de patente WO2013/143700). La secuencia de ARNm puede comprender o consistir en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de la 3'-UTR del gen de albúmina humana de acuerdo con el número de acceso GenBank NM_000477.5, o de un fragmento o variante del mismo.
25
30
35

En este contexto, es particularmente preferente que el ARNm de la composición aquí descrita comprenda un elemento 3'-UTR que comprenda una secuencia de ARN correspondiente derivada de los ácidos nucleicos de acuerdo con la SEQ ID NO. 1369-1390 de la solicitud de patente WO2013/143700 o un fragmento, homólogo o variante del mismo.
40

Con total preferencia, el elemento 3'-UTR comprende la secuencia de ácido nucleico derivada de un fragmento del gen de albúmina humana (3'-UTR de albúmina7) de acuerdo con la SEQ ID NO. 10065 (de acuerdo con la SEQ ID NO. 1376 de la solicitud de patente WO2013/143700).
45

En este contexto, se prefiere particularmente que el elemento 3'-UTR del al menos un ARN de la composición aquí descrita comprenda o consista en una secuencia de ARN correspondiente de la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO. 10066.

En otra realización particularmente preferida, el elemento 3'-UTR comprende o consiste en una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una 3'-UTR de un gen de α -globina, preferiblemente un gen α - o β -globina de vertebrado, más preferiblemente un gen α - o β -globina de mamífero, con total preferencia de un gen α - o β -globina humana de acuerdo con la SEQ ID NO. 10055 (correspondiente a la SEQ ID NO. 1370 de la solicitud de patente WO2013/143700 (3'-UTR de hemoglobina de *Homo sapiens*, alfa 1 (HBA1)), o de acuerdo con la SEQ ID NO. 10057 (correspondiente a SEQ ID NO. 1371 de la solicitud de patente WO2013/143700 (3'-UTR de hemoglobina de *Homo sapiens*, alfa 2 (HBA2)) y/o de acuerdo con la SEQ ID NO. 10059 (correspondiente a la SEQ ID NO. 1372 de la solicitud de patente WO2013/143700 (3'-UTR de hemoglobina de *Homo sapiens*, beta (HBB)).
50
55

Por ejemplo, el elemento 3'-UTR puede comprender o consistir en la porción central de unión a complejo del 3'-UTR de un gen de α -globina de acuerdo con la SEQ ID NO. 10061 (correspondiente a la SEQ ID NO. 1393 de la solicitud de patente WO2013/143700).

5 En este contexto, es particularmente preferente que el elemento 3'-UTR del ARN de la composición aquí descrita comprenda o consista en una secuencia de ARN correspondiente de la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO. 10062, según lo anterior, o un homólogo, fragmento o variante de la misma.

10 El término "una secuencia de ácido nucleico que se deriva de la 3'-UTR de un gen [...]" se refiere preferiblemente a una secuencia de ácido nucleico que se basa en la secuencia 3'-UTR de un gen [...]o en parte del mismo, como en la 3'-UTR de un gen de albúmina, de α -globina, de β -globina, de tirosina-hidroxilasa, de lipoxigenasa o de colágeno alfa, como gen colágeno alfa I (1), preferiblemente de un gen de albúmina, o en parte del mismo. Este término incluye secuencias correspondientes a la secuencia 3'-UTR completa, es decir, la secuencia 3'-UTR de longitud completa de un gen, y secuencias correspondientes a un fragmento de la secuencia 3'-UTR de un gen, tal como un gen de albúmina, de α -globina, de β -globina, de tirosina-hidroxilasa, de lipoxigenasa o de colágeno alfa, tal como un gen de colágeno alfa I (1), preferiblemente de un gen de albúmina.

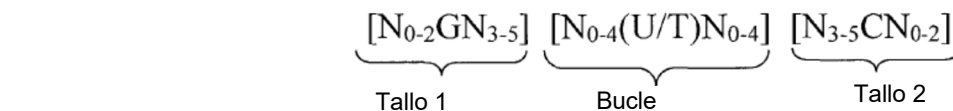
15 El término "una secuencia de ácido nucleico que se deriva de una variante de la 3'-UTR de un gen [...]" se refiere preferiblemente a una secuencia de ácido nucleico que se basa en una variante de la secuencia 3'-UTR de un gen, como en una variante de la 3'-UTR de un gen de albúmina, de α -globina, de β -globina, de tirosina-hidroxilasa, de lipoxigenasa o de colágeno alfa, tal como un gen de colágeno alfa I (1), o en una parte del mismo como se describe anteriormente. Este término incluye secuencias correspondientes a la secuencia completa de la variante de la secuencia 3'-UTR de un gen, es decir, la secuencia de la variante 3'-UTR de longitud completa de un gen, y secuencias correspondientes a un fragmento de la secuencia de la variante 3'-UTR de un gen. Un fragmento en este contexto consiste preferiblemente en un tramo continuo de nucleótidos correspondiente a un tramo continuo de nucleótidos de la variante de longitud completa de la 3'-UTR, que representa al menos el 20%, preferiblemente al menos 30%, más preferiblemente al menos 40% , más preferiblemente al menos 50%, incluso más preferiblemente al menos 60%, incluso más preferiblemente al menos 70%, incluso más preferiblemente al menos 80%, y con total preferencia al menos el 90% de la variante de longitud completa de la 3'-UTR. Tal fragmento de una variante es preferiblemente un fragmento funcional de una variante como se describe aquí. Preferiblemente, el al menos un elemento 5'-UTR y el al menos un elemento 3'-UTR actúan sinérgicamente para aumentar la producción de proteínas a partir del ARN de la composición como se describe anteriormente.

Tallo-bucle de histona

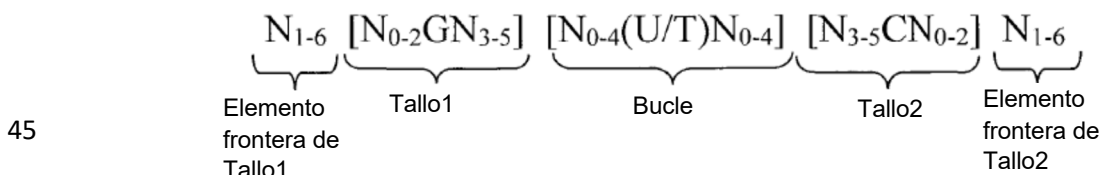
20 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición aquí descrita comprende una secuencia/estructura tallo-bucle de histona. Dichas secuencias tallo-bucle de histona se seleccionan preferiblemente de las secuencias tallo-bucle de histona como se describen en el documento WO 2012/019780.

Una secuencia tallo-bucle de histona adecuada para su uso en la presente descripción se selecciona preferiblemente de al menos una de las siguientes fórmulas (I) o (II):

fórmula (I) (secuencia de tallo-bucle sin elementos frontera de tallo):



fórmula (II) (secuencia tallo-bucle con elementos frontera del tallo):



donde:

50 elementos frontera del tallo1 o tallo2 N_{1-6} : es una secuencia consecutiva de 1 a 6, preferiblemente de 2 a 6, más preferiblemente de 2 a 5, aún más preferiblemente de 3 a 5, más preferiblemente de 4 a 5 o de 5 N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de entre A, U, T, G y C, o un análogo de nucleótido del mismo;

tallo1 $[N_{0-2}GN_{3-5}]$: es complementaria inversa o complementaria parcialmente inversa con el elemento tallo2 y

es una secuencia consecutiva de entre 5 a 7 nucleótidos; donde N_{0-2} es una secuencia consecutiva de 0 a 2, preferiblemente de 0 a 1, más preferiblemente de 1 N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C o un análogo de nucleótido del mismo; donde N_{3-5} es una secuencia consecutiva de 3 a 5, preferiblemente de 4 a 5, más preferiblemente de 4 N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C o un análogo de nucleótido del mismo, y donde G es guanosina o un análogo del mismo, y se puede reemplazar opcionalmente por una citidina o un análogo de la misma, siempre que su citidina de nucleótido complementario en tallo2 se reemplace por guanosina;

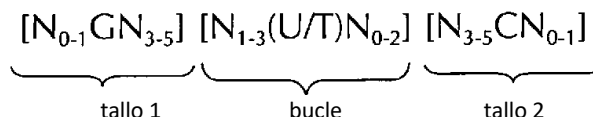
secuencia bucle $[N_{0-4}(U/T)N_{0-4}]$: se ubica entre los elementos tallo1 y tallo2 y es una secuencia consecutiva de 3 a 5 nucleótidos, más preferiblemente de 4 nucleótidos; donde cada N_{0-4} es independiente de otra secuencia consecutiva de 0 a 4, preferiblemente de 1 a 3, más preferiblemente de 1 a 2 N, donde cada N se selecciona de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C o un análogo de nucleótido del mismo; donde U/T representa uridina, u opcionalmente timidina;

tallo2 $[N_{3-5}CN_{0-2}]$: es complementaria inversa o complementaria parcialmente inversa al elemento tallo1 y es una secuencia consecutiva de 5 a 7 nucleótidos; donde N_{3-5} es una secuencia consecutiva de 3 a 5, preferiblemente de 4 a 5, más preferiblemente de 4 N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G y C o un análogo de nucleótido del mismo; siendo N_{0-2} una secuencia consecutiva de 0 a 2, preferiblemente de 0 a 1, más preferiblemente de 1 N, donde cada N se selecciona independientemente de un nucleótido seleccionado de A, U, T, G o C o un análogo de nucleótido del mismo; y donde C es citidina o un análogo de la misma, y se puede reemplazar opcionalmente por una guanosina o un análogo de la misma siempre que su guanosina de nucleósido complementario en tallo1 se reemplace por citidina;

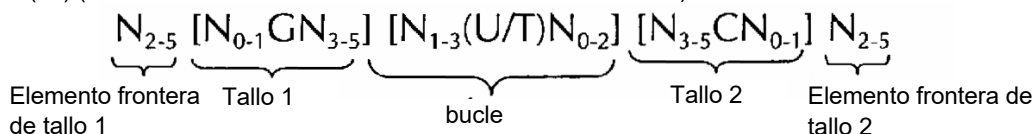
donde tallo1 y tallo2 son capaces de apareamiento de bases entre sí formando una secuencia inversa complementaria, donde el apareamiento de bases puede ocurrir entre tallo1 y tallo2, por ejemplo por apareamiento de bases Watson-Crick de nucleótidos A y U/T o G y C o por apareamiento de bases no Watson-Crick, por ejemplo apareamiento de bases de tambaleo, apareamiento de bases Watson-Crick inverso, apareamiento de bases Hoogsteen, apareamiento de bases Hoogsteen inverso o son capaces de apareamiento de bases entre sí formando una secuencia complementaria parcialmente inversa, donde un apareamiento de bases incompleto puede ocurrir entre tallo1 y tallo2, en base a que una o más bases en un tallo no tienen una base complementaria en la secuencia complementaria inversa del otro tallo

De acuerdo con una realización preferida adicional del primer de la presente descripción, la secuencia de ARNm puede comprender al menos una secuencia tallo-bucle de histona de acuerdo con al menos una de las siguientes fórmulas específicas (Ia) o (IIa):

fórmula (Ia) (secuencia de tallo-bucle sin elementos frontera de tallo):



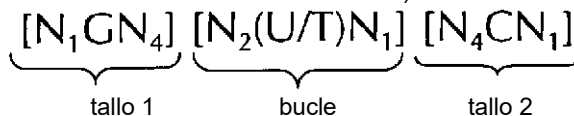
fórmula (IIa) (secuencia de tallo-bucle con elementos frontera de tallo):



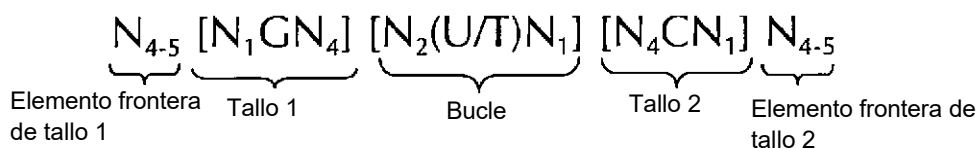
donde N, C, G, T y U son como se definen anteriormente.

De acuerdo con una realización adicional más particularmente preferida del primer aspecto, el al menos un ARN puede comprender al menos una secuencia tallo-bucle de histona de acuerdo con al menos una de las siguientes fórmulas específicas (Ib) o (IIb):

fórmula (Ib) (secuencia tallo-bucle sin elementos frontera de tallo):



fórmula (IIb) (secuencia tallo-bucle con elementos frontera de tallo):



donde N, C, G, T y U son como se definen anteriormente.

5

Una secuencia particular preferida tallo-bucle de histona es la secuencia de acuerdo con la SEQ. ID NO. 8.

Más preferiblemente, la secuencia tallo-bucle es la secuencia de ARN correspondiente de la secuencia de ácido nucleico de acuerdo con la SEQ ID NO: 9

Poli(A)

- 10 En una realización particularmente preferida, el al menos un ARN de la composición aquí descrita comprende además de la región de codificación que codifica al menos un péptido o proteína como se describe anteriormente o un fragmento o variante del mismo, una secuencia poli(A), también llamada cola poli-A, preferiblemente en el extremo 3' del ARN. Cuando está presente, dicha secuencia poli(A) comprende una
- 15 secuencia de aproximadamente 25 a aproximadamente 400 nucleótidos de adenosina, preferiblemente una secuencia de aproximadamente 50 a aproximadamente 400 nucleótidos de adenosina, más preferiblemente una secuencia de aproximadamente 50 a aproximadamente 300 nucleótidos de adenosina, incluso más preferiblemente una secuencia de aproximadamente 50 a aproximadamente 250 nucleótidos de adenosina, con total preferencia una secuencia de aproximadamente 60 a aproximadamente 250 nucleótidos de adenosina. En este contexto, el término "aproximadamente" se refiere a una desviación de $\pm 10\%$ de los valores
- 20 a los que está asociado. Esta secuencia poli(A) se ubica preferiblemente 3' de la región de codificación comprendida en el ARN aquí descrito.

- Preferiblemente, la secuencia poli(A) del al menos un ARN de la composición se deriva de una plantilla de ADN por transcripción *in vitro* de ARN. Alternativamente, la secuencia poli(A) también puede obtenerse *in vitro* por métodos comunes de síntesis química, sin transcribirse necesariamente de un progenitor de ADN. Además, las
- 25 secuencias poli(A) o las colas poli(A) pueden generarse por poliadenilación enzimática del al menos un ARN usando kits de poliadenilación comerciales y los protocolos correspondientes conocidos en la técnica.

- Alternativamente, el al menos un ARN de la composición aquí descrita comprende opcionalmente una señal de poliadenilación, que se define aquí como una señal que transmite la poliadenilación a un ARN (transcrito) mediante factores proteicos específicos (por ejemplo escisión y factor de especificidad de poliadenilación (CPSF), factor de estimulación de escisión (CstF), factores de escisión I y II (CF I y CF II), poli(A)-polimerasa (PAP)). En este contexto, se prefiere una señal de poliadenilación consenso que comprenda la secuencia consenso NN(U/T)ANA. En un aspecto particularmente preferido, la señal de poliadenilación comprende una de las siguientes secuencias: AA(U/T)AAA o A(U/T)(U/T) AAA (donde la uridina generalmente está presente en ARN y la timidina generalmente está presente en ADN).
- 30

35 Poli(C)

- Según una realización preferente adicional, el ARN de la composición aquí descrita puede modificarse mediante una secuencia de al menos 10 citosinas, preferiblemente al menos 20 citosinas, más preferiblemente al menos 30 citosinas (denominada "secuencia poli(C)"). En particular, el ARN puede contener una secuencia poli(C) típicamente de aproximadamente 10 a 200 nucleótidos de citosina, preferiblemente de
- 40 aproximadamente 10 a 100 nucleótidos de citosina, más preferiblemente de aproximadamente 10 a 70 nucleótidos de citosina o incluso más preferiblemente de aproximadamente 20 a 50 o incluso de 20 a 30 nucleótidos de citosina. Esta secuencia poli(C) se encuentra preferiblemente 3' de la región de codificación, más preferiblemente 3' de una secuencia poli(A) opcional comprendida en el ARN aquí descrito.

5'-cap

- 45 De acuerdo con otra realización preferente, una molécula de ARN modificada como se define aquí puede modificarse por la adición de una estructura denominada "5'-cap", que preferiblemente estabiliza el ARN como se describe aquí. Una 5'-cap es una entidad, típicamente una entidad de nucleótidos modificada, que generalmente "tapa" el extremo 5' de un ARNm maduro. Una 5'-cap puede estar formada típicamente por un nucleótido modificado, en particular por un derivado de un nucleótido guanina. Preferiblemente, la 5'-cap está unida al extremo 5' por un enlace 5'-5'-trifosfato. La 5'-cap puede estar metilada, por ejemplo m7GpppN, donde
- 50 N es el nucleótido 5' terminal del ácido nucleico que lleva la 5'-cap, típicamente el extremo 5' de un ARNm m7GpppN es la estructura 5'-cap que ocurre naturalmente en el ARNm transcrito por la polimerasa II y, por

tanto, preferiblemente no se considera como una modificación comprendida en un ARN modificado en este contexto. Así, un ARN modificado puede comprender un m7GpppN como 5'-cap, pero adicionalmente el ARN modificado típicamente comprende al menos una modificación adicional como se define aquí.

5 Otros ejemplos de estructuras 5'-cap incluyen glicerilo, residuo desoxi abásico invertido (resto), 4',5'-metilen-nucleótido, 1-(beta-D-eritrofuranosil)nucleótido, 4'-tionucleótido, nucleótido carbocíclico, 1,5-anhidrohexitol nucleótido, nucleótidos L, nucleótido alfa, nucleótido base modificado, treo-pentofuranosilo nucleótido, nucleótido 3',4'-seco acíclico, 3,4-dihidroxibutil-nucleótido acíclico, nucleótido acíclico 3,5-dihidroxipentilo, residuo nucleótido invertido 3'-3', residuo abásico invertido 3'-3', resto nucleótido invertido 3'-2', resto abásico invertido 3'-2', 1,4-butanodiol-fosfato, 3'-fosforamidoato, hexilfosfato, aminohexil-fosfato, 3'-fosfato, 3'-fosforotioato, fosforoditioato, o un residuo puente o no puente metilfosfonato. Estas estructuras 5'-cap
10 modificadas se consideran como al menos una modificación en este contexto.

Estructuras 5'-cap modificadas particularmente preferentes son cap1 (metilación de la ribosa del nucleótido adyacente de m7G), cap2 (metilación adicional de la ribosa del segundo nucleótido aguas abajo del m7G), cap3 (metilación adicional de la ribosa del 3er. nucleótido aguas abajo de m7G), cap4 (metilación de la ribosa del 4º nucleótido aguas abajo del m7G), ARCA (análogo de la tapa anti-inversa, ARCA modificado (por ejemplo, ARCA modificado con fosfotioato), inosina, N1-metilguanosina, 2'-fluoroguanosina, 7-deazaguanosina, 8-oxoguanosina, 2-aminoguanosina, LNA-guanosina y 2-azidoguanosina.
15

Secuencia señal secretora

Según otra realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición puede codificar adicional o alternativamente un péptido señal secretor. Dichas secuencias señal secretoras son extensiones de péptidos que típicamente tienen una longitud de aproximadamente 15 a 30 aminoácidos y se ubican preferiblemente en el extremo N del péptido codificado, sin limitarse a ellas. Las secuencias señal secretoras tal como se definen aquí permiten preferiblemente el transporte del péptido o proteína codificados, tal como están codificados por al menos una secuencia codificante del al menos un ARN de la composición, a un compartimento celular definido, preferiblemente a la superficie celular, el retículo endoplásmico (ER) o el compartimento endosomal-lisosomal. Ejemplos de secuencias señal secretoras tal como se definen aquí incluyen, sin limitación, secuencias señal secretoras de moléculas MHC clásicas o no clásicas (por ejemplo secuencias señal de moléculas MHC I y II, por ejemplo de la molécula MHC clase I HLA-A*0201), secuencias señal secretoras de citoquinas o inmunoglobulinas como se define aquí, secuencias señal secretoras de la cadena invariante de inmunoglobulinas o anticuerpos como se define aquí, secuencias señal de Lamp1, Tapasin, Erp57, calreticulina, calnexina y otras proteínas asociadas a la membrana o proteínas asociadas al retículo endoplásmico (ER) o al compartimento endosomal-lisosomal.
20
25
30

Cualquiera de las modificaciones anteriores con respecto a la secuencia de codificación y/o con respecto al ARN como se definió anteriormente puede aplicarse a la secuencia de codificación y/o al ARN de la composición aquí descrita y además a cualquier ARN tal como se utiliza en el contexto de la presente descripción y puede, si es adecuado o necesario, combinarse entre sí en cualquier combinación, siempre que estas combinaciones de modificaciones no interfieran entre sí en el al menos un ARN respectivo. El experto en la técnica podrá tomar su decisión en consecuencia.
35

Producción de ARNm y ARN

40 El ARN puede prepararse usando cualquier método conocido en la técnica, incluyendo métodos sintéticos (síntesis química de ARN) como síntesis en fase sólida, así como métodos *in vitro*, como reacciones de transcripción de ARN *in vitro*.

Combinaciones

45 Es particularmente preferente combinar péptidos o proteínas codificados con ARN. En este contexto, se prefieren particularmente las siguientes combinaciones:

- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una quimioquina
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm que codifica al menos un producto génico suicida
- 50 • ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una proteína o péptido inmunogénico
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos un inductor de la apoptosis
- 55 • ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos un inhibidor de la angiogénesis

- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos una proteína de choque térmico
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos un antígeno tumoral
- 5 • ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos un inhibidor de β -catenina
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos un activador de la vía STING
- 10 • ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos un modulador de punto de control
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos un activador inmune innato
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos un anticuerpo
- 15 • ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos un receptor señuelo
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica para al menos un inhibidor de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC)
- 20 • ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos un inhibidor de la ruta IDO
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos una citoquina + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica al menos una proteína o péptido que se une a inhibidores de la apoptosis.

Además, son particularmente preferentes las siguientes realizaciones:

- 25 • ARN, preferiblemente ARNm que codifica IL-2 y/o ARN, preferiblemente ARNm, que codifica IL-12 + ARNm que codifica timidina-quinasa (enfoque: citoquinas + producto génico suicida)
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica IL-2 y/o ARN, preferiblemente ARNm, que codifica IL-12
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica IL-12 y/o ARN, preferiblemente ARNm, que codifica CD40L
- AN, preferiblemente ARNm, que codifica IL-15 y/o ARN, preferiblemente ARNm, que codifica IL-12
- 30 • ARN, preferiblemente ARNm, que codifica IL-2 + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica la proteína de la influenza NP
- ARN, preferiblemente ARNm, que codifica IL-2 y/o ARN, preferiblemente ARNm, que codifica IL-12 + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica citocromo c/caspasa 3 (citoquinas + inducción de apoptosis)
- 35 • ARN, preferiblemente ARNm, que codifica CD40L + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica IL-12 + ARN, preferiblemente ARNm, que codifica ARIGI.

40 Debe entenderse que las moléculas de ARN de la composición aquí descrita pueden codificar uno o más péptidos o proteínas diferentes (por ejemplo citoquinas, quimioquinas, productos génicos suicidas, proteínas o péptidos inmunogénicos, inductores de apoptosis, inhibidores de la angiogénesis, proteínas de choque térmico, antígenos tumorales, inhibidores de β -catenina, activadores de la vía STING, moduladores de punto de control, activadores inmunes innatos, anticuerpos, receptores negativos dominantes y receptores señuelo, inhibidores de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC), inhibidores de la vía IDO y proteínas o péptidos que se unen a inhibidores de la apoptosis, como se describió anteriormente. Se pueden combinar varias secuencias de ARN en una composición que contiene ARN como se describe aquí. Además, es posible que la secuencia

45 o secuencias de ARN de la composición aquí descrita codifiquen variantes o fragmentos de la secuencia de proteínas de tipo salvaje o para una o más partes o fragmentos de la secuencia de proteínas de tipo salvaje o variantes de las mismas.

ARN no codificante

50 El al menos un ARN de la composición que contiene ARN aquí descrita puede comprender al menos un ARN no codificante, preferiblemente seleccionado del grupo consistente en ARN interferente pequeño (ARNsi), ARN antisentido (ARNas), ARN circular (ARNcirc), ribozimas, aptámeros, riboswitches, ARN inmunoestimulante/inmunoestimulador, ARN transferente (ARNt), ARN ribosómico (ARNr), ARN nuclear pequeño (ARNns), ARN nucleolar pequeño (ARNsno), microARN (ARNmi) y ARN de interacción Piwi (ARNpi).

ARN inmunoestimulador / inmunoestimulador (ARNis):

55 Igualmente, de acuerdo con otra alternativa, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN aquí descrita es un ARN inmunoestimulante/inmunoestimulador que preferiblemente provoca una respuesta inmune innata. Tal ARN inmunoestimulador puede ser cualquier ARN (bicatenario o monocatenario), por ejemplo un ARN codificante como se define aquí. En una realización preferente, el ARN inmunoestimulador es un ARN no

codificante. Preferiblemente, el ARN inmunoestimulador puede ser un ARN monocatenario, bicatenario o parcialmente bicatenario, más preferiblemente un ARN monocatenario y/o un ARN circular o lineal, más preferiblemente un ARN lineal. Con especial preferencia, el ARN inmunoestimulador puede ser un ARN monocatenario (lineal). Incluso más preferiblemente, el ARN inmunoestimulador puede ser un ARN no codificante (largo) (lineal) de cadena sencilla). En este contexto, es particularmente preferente que el ARNis porte un trifosfato en su extremo 5', que es el caso del ARN transcrito *in vitro*. Un ARN inmunoestimulador también puede estar presente como un oligonucleótido de ARN corto como se define aquí.

Un ARN inmunoestimulador como se usa aquí puede seleccionarse además de cualquier clase de moléculas de ARN de la naturaleza o preparadas sintéticamente y que pueden inducir una respuesta inmune innata y pueden soportar una respuesta inmune adaptativa inducida por un antígeno. En este contexto, puede suceder una respuesta inmune de varias maneras. Un factor esencial para una respuesta inmune adecuada (adaptativa) es la estimulación de diferentes subpoblaciones de células T. en general, los linfocitos T se dividen en dos subpoblaciones, células T-helper 1 (Th1) y células T-helper 2 (Th2), con las cuales el sistema inmune es capaz de destruir patógenos intracelulares (Th1) y extracelulares (Th2) (por ejemplo antígenos). Las dos poblaciones de células Th difieren en el patrón de proteínas efectoras (citoquinas) producidas por ellas. Por tanto, las células Th1 ayudan a la respuesta inmune celular mediante la activación de macrófagos y células T citotóxicas. Las células Th2, por otro lado, promueven la respuesta inmune humoral mediante la estimulación de células B para la conversión en células plasmáticas y mediante la formación de anticuerpos (por ejemplo frente a antígenos). Por tanto, la relación Th1/Th2 es de gran importancia en la inducción y el mantenimiento de una respuesta inmune adaptativa. En relación con la presente descripción, la relación Th1/Th2 de la respuesta inmune (adaptativa) se desplaza preferiblemente en dirección hacia la respuesta celular (respuesta Th1) y se induce así una respuesta inmune celular. Según un ejemplo, el sistema inmune innato que puede soportar una respuesta inmune adaptativa puede ser activado por ligandos de receptores tipo Toll (TLR). Los TLR son una familia de polipéptidos receptores de reconocimiento de patrones (PRR) altamente conservados que reconocen los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y juegan un papel crítico en la inmunidad innata en los mamíferos. Actualmente se han identificado al menos trece miembros de la familia, designados TLR1 - TLR13 (receptores tipo Toll: TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 o TLR13). Además, se han identificado varios ligandos TLR específicos. Además, se ha informado que los ligandos para ciertos TLR incluyen ciertas moléculas de ácido nucleico y que ciertos tipos de ARN son inmunoestimuladores de manera independiente o dependiente de la secuencia, pudiendo estos diversos ARN inmunoestimuladores, por ejemplo, estimular TLR3, TLR7 o TLR8 o receptores intracelulares como RIG-I, MDA-5, etc.

Preferiblemente, un ácido nucleico inmunoestimulador, preferiblemente un ARN inmunoestimulador (ARNis), como se usa aquí, puede comprender cualquier secuencia de ARN conocida por ser inmunoestimuladora, incluyendo, sin limitación, secuencias de ARN que representan y/o codifican ligandos de TLR, preferiblemente seleccionados de miembros de la familia humana TLR1 - TLR10 o de la familia murina TLR1 - TLR13, más preferiblemente seleccionados de miembros de la familia (humana) TLR1 - TLR10, incluso más preferiblemente de TLR7 y TLR8, ligandos de receptores intracelulares para ARN (como RIG-I o MDA- 5, etc.) (véase, por ejemplo, Meylan, E., Tschopp, J. (2006). Toll-like receptors and RNA helicases: two parallel ways to trigger antiviral responses. *Mol. Cell* 22, 561-569), o cualquier otra secuencia de ARN inmunoestimuladora. Además, (clases de) moléculas de ARN inmunoestimuladoras usadas como compuesto adicional de la vacuna aquí descrita pueden incluir cualquier otro ARN capaz de provocar una respuesta inmune. Sin limitarse a ello, dicho ARN inmunoestimulador puede incluir ARN ribosómico (ARNr), ARN transferente (ARNt), ARN mensajero (ARNm) y ARN viral (ARNv). Tal ARN inmunoestimulador puede comprender una longitud de 1.000 a 5.000, de 500 a 5.000, de 5 a 5.000, o de 5 a 1.000, 5 a 500, 5 a 250, de 5 a 100, de 5 a 50 o de 5 a 30 nucleótidos

Un ARN inmunoestimulador como se usa aquí puede seleccionarse además de cualquier clase de moléculas de ARN en la naturaleza o preparadas sintéticamente y que pueden inducir una respuesta inmune innata y pueden soportar una respuesta inmune adaptativa inducida por un antígeno. En este contexto, se puede producir una respuesta inmune de varias maneras. Un factor esencial para una respuesta inmune adecuada (adaptativa) es la estimulación de diferentes subpoblaciones de células T. Los linfocitos T generalmente se dividen en dos subpoblaciones, células T-helper 1 (Th1) y células T-helper 2 (Th2), con las cuales el sistema inmune es capaz de destruir patógenos intracelulares (Th1) y extracelulares (Th2) (por ejemplo antígenos). Las dos poblaciones de células Th difieren en el patrón de las proteínas efectoras (citoquinas) producidas por ellas. Por tanto, las células Th1 ayudan a la respuesta inmune celular mediante la activación de macrófagos y células T citotóxicas. Las células Th2, por otro lado, promueven la respuesta inmune humoral mediante la estimulación de células B para la conversión en células plasmáticas y mediante la formación de anticuerpos (por ejemplo frente a contra antígenos). Por tanto, la relación Th1/Th2 es de gran importancia en la inducción y el mantenimiento de una respuesta inmune adaptativa. En relación con la presente descripción, la relación Th1/Th2 de la respuesta inmune (adaptativa) se desplaza preferiblemente en dirección hacia la respuesta celular (respuesta Th1) y se induce así una respuesta inmune celular. Según un ejemplo, el sistema inmune innato que puede soportar una respuesta inmune adaptativa puede ser activado por ligandos de receptores tipo Toll (TLR). Los TLR son una familia de polipéptidos receptores de reconocimiento de patrones (PRR)

- altamente conservados que reconocen los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y juegan un papel crítico en la inmunidad innata en los mamíferos. Actualmente se han identificado al menos trece miembros de la familia, designados TLR1 - TLR13 (receptores tipo Toll: TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 o TLR13). Además, se han identificado varios ligandos TLR específicos.
- 5 Se ha encontrado que el ADN bacteriano no metilado y sus análogos sintéticos (ADN CpG) son ligandos para TLR9 (Hemmi H et al. (2000) Nature 408:740-5; Bauer S et al. (2001) Proc NatlAcadSci USA 98, 9237-42). Además, se ha informado que los ligandos para ciertos TLR incluyen ciertas moléculas de ácido nucleico y que ciertos tipos de ARN son inmunostimuladores de manera independiente o dependiente de la secuencia, pudiendo estos diversos ARN inmunostimuladores, por ejemplo, estimular TLR3, TLR7 o TLR8, o receptores intracelulares como RIG-I, DA-5, etc. Por ejemplo Lipford y col. determinaron ciertos oligoribonucleótidos que contienen G, U como inmunostimulantes actuando a través de TLR7 y TLR8 (véase el documento WO03/086280). Los oligoribonucleótidos que contienen G, U inmunostimuladores descritos por Lipford et al. se creía que eran derivables de fuentes de ARN, incluyendo ARN ribosómico, ARN transferente, ARN mensajero y ARN viral.
- 10
- 15 De acuerdo con una realización particularmente preferente, tales secuencias de ácido nucleico inmunostimuladoras son preferiblemente ARN que preferiblemente consiste en o comprende un ácido nucleico de las siguientes fórmulas (III) o (IV):

$G_l X_m G_n$, (fórmula (III))

- donde:
- 20 G es guanosina, uracilo o un análogo de guanosina o uracilo;
X es guanosina, uracilo, adenosina, timidina, citosina o un análogo de los nucleótidos mencionados anteriormente;
- l es un entero de 1 a 40, donde cuando l = 1, G es guanosina o un análogo de la misma, cuando l > 1 al menos el 50% de los nucleótidos son guanosina o un análogo de la misma;
- 25 m es un entero y es al menos 3; donde cuando m = 3, X es uracilo o un análogo del mismo, cuando m > 3 están presentes al menos 3 uracilos sucesivos o análogos de uracilo;
- n es un entero de 1 a 40, donde cuando n = 1, G es guanosina o un análogo de la misma, cuando n > 1, al menos el 50% de los nucleótidos son guanosina o un análogo de la misma.

$C_l X_m C_n$, (fórmula (IV))

- 30 donde:
- C es citosina, uracilo o un análogo de citosina o uracilo;
X es guanosina, uracilo, adenosina, timidina, citosina o un análogo de los nucleótidos mencionados anteriormente;
- l es un entero e 1 a 40, donde cuando l = 1, C es citosina o un análogo de la misma, cuando l > 1, al menos el 50% de los nucleótidos son citosina o un análogo de la misma;
- 35 m es un entero y es al menos 3; donde cuando m = 3, X es uracilo o un análogo del mismo, cuando m > 3, existen al menos 3 uracilos sucesivos o análogos de uracilo;
- n es un entero de 1 a 40, donde cuando n = 1, C es citosina o un análogo de la misma, cuando n > 1 al menos el 50% de los nucleótidos son citosina o un análogo de la misma.

- 40 Los ácidos nucleicos de fórmulas (II) o (III), que se pueden usar como una secuencia de ARN estimulador pueden ser moléculas de ácido nucleico relativamente cortas, de una longitud típica de aproximadamente de 5 a 100 (pero también pueden ser más largas a 100 nucleótidos para realizaciones específicas, por ejemplo hasta 200 nucleótidos), de 5 a 90 o de 5 a 80 nucleótidos, preferiblemente una longitud de aproximadamente 5 a 70, más preferiblemente una longitud de aproximadamente 8 a 60 y más preferiblemente una longitud de aproximadamente 15 a 60 nucleótidos, más preferiblemente de 20 a 60, más preferiblemente de 30 a 60 nucleótidos. Si el ácido nucleico del complejo de carga tiene una longitud máxima de por ejemplo 100 nucleótidos, m típicamente será ≤ 98 . El número de nucleótidos G en el ácido nucleico de fórmula (III) está determinado por l o n. l y n, independientemente uno de otro, son cada uno un entero de 1 a 40, donde cuando l o n = 1, G es guanosina o un análogo de la misma, y cuando l o n > 1, al menos el 50% de los nucleótidos son guanosina o un análogo de la misma. Por ejemplo, sin implicar ninguna limitación, cuando l o n = 4, G_l o G_n puede ser, por ejemplo, GUGU, GGUU, UGUG, UUGG, GUUG, GGUU, GGUG, GUGG, UGGG o GGGG, etc.; cuando l o n = 5, G_l o G_n puede ser, por ejemplo, GGGUU, GGUGU, GUGGU, UGGGU, UGGUG, UGUGG, UUGGG, GUGUG, GGGGU, GGGUG, GGUGG, GUGGG, UGGGG, o GGGGG, etc.; etc. Un nucleótido adyacente a X_m en el ácido nucleico de fórmula (III) preferiblemente no es uracilo. Similarmente, el número de nucleótidos C en el ácido nucleico de fórmula (IV) está determinado por l o n. l y n, independientemente uno de otro, son cada uno un entero de 1 a 40, donde cuando l o n = 1, C es citosina o un análogo de la misma, y cuando l o n > 1, al menos el 50% de los nucleótidos son citosina o un análogo de la misma. Por ejemplo, sin implicar ninguna limitación, cuando l o n = 4, C_l o C_n pueden ser, por ejemplo, CUCU, CCUU, UCUC, UCC, CUUC, CCCU, CCUC, CUCC, UCCC o CCCC, etc.; cuando l o n = 5, C_l o C_n pueden ser, por ejemplo, CCCUU, CCUCU, CUCCU, UCCCU, UCUCC, UCCCC, CUCUC, CCCC, CCCUC, CCUCC, CUCCC,
- 50
- 55
- 60

- UCCCC, o CCCCC, etc.; etc. Un nucleótido adyacente a X_m en el ácido nucleico de fórmula (III) preferiblemente no es uracilo. Preferiblemente, para la fórmula (II), cuando l o $n > 1$, al menos el 60%, 70%, 80%, 90% o aún el 100% de los nucleótidos son guanosina o un análogo de la misma como se definió arriba. Los nucleótidos restantes hasta el 100% (cuando guanosina constituye menos del 100% de los nucleótidos) en las secuencias que flanquean G_1 y/o G_n son uracilo o un análogo del mismo, como se definió anteriormente. También preferiblemente, l y n , independientemente uno de otro, son cada uno un entero de 2 a 30, más preferiblemente un entero de 2 a 20 y aún más preferiblemente un entero de 2 a 15. El límite inferior de l o n puede variar si es necesario y es al menos 1, preferiblemente al menos 2, más preferiblemente al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10. Esta definición se aplica correspondientemente a la fórmula (III).
- 10 De acuerdo con una realización particularmente preferida, un ácido nucleico de acuerdo con cualquiera de las fórmulas (III) o (IV) anteriores, que puede usarse como ARN inmunoestimulador, puede seleccionarse de una secuencia que consiste o comprende cualquiera de las siguientes secuencias SEQ ID NO.: 298 - 381. o de una secuencia que tiene al menos un 60%, 70%, 80%, 90%, o incluso un 95% de identidad de secuencia con cualquiera de estas secuencias
- 15 De acuerdo con una realización particularmente preferente adicional, tales secuencias de ácido nucleico inmunoestimulantes particularmente ARNs consisten en o comprenden un ácido nucleico de fórmula (V) o (VI):

$(N_u G_l X_m G_n N_v)_a$, (fórmula (V))

donde:

- 20 G es guanosina (guanina), uridina (uracilo) o un análogo de guanosina (guanina) o uridina (uracilo), preferiblemente guanosina (guanina) o un análogo de la misma;
- X es guanosina (guanina), uridina (uracilo), adenosina (adenina), timidina (timina), citidina (citosina), o un análogo de estos nucleótidos (nucleósidos), preferiblemente uridina (uracilo) o un análogo del mismo;
- 25 N es una secuencia de ácido nucleico con una longitud de alrededor de 4 a 50, preferiblemente de alrededor de 4 a 40, más preferiblemente de alrededor de 4 a 30 o 4 a 20 ácidos nucleicos, seleccionándose cada N independientemente de guanosina (guanina), uridina (uracilo), adenosina (adenina), timidina (timina), citidina (citosina) o un análogo de estos nucleótidos (nucleósidos);
- a es un entero de 1 a 20, preferiblemente de 1 a 15, más preferiblemente de 1 a 10;
- l es un entero de 1 a 40, donde cuando $l = 1$, G es guanosina (guanina) o un análogo de la misma, cuando $l > 1$, al menos el 50% de estos nucleótidos (nucleósidos) son guanosina (guanina) o un análogo de la misma;
- 30 m es un entero y es al menos 3; donde cuando $m = 3$, X es uridina (uracilo) o un análogo de la misma, y cuando $m > 3$, están presentes al menos 3 uridinas sucesivas (uracilos) o análogos de uridina (uracilo);
- n es un entero de 1 a 40, donde cuando $n = 1$, G es guanosina (guanina) o un análogo de la misma, cuando $n > 1$, al menos el 50% de estos nucleótidos (nucleósidos) son guanosina (guanina) o un análogo de la misma;
- 35 u, v pueden ser independientemente uno del otro un entero de 0 a 50, preferiblemente donde cuando $u = 0$, $v \geq 1$, o cuando $v = 0$, $u \geq 1$;

teniendo la molécula de ácido nucleico de fórmula (V) una longitud de al menos 50 nucleótidos, preferiblemente de al menos 100 nucleótidos, más preferiblemente de al menos 150 nucleótidos, aún más preferiblemente de al menos 200 nucleótidos y más preferiblemente de al menos 250 nucleótidos.

$(N_u C_l X_m C_n N_v)_a$ (fórmula (VI))

- 40 donde:
- C es citidina (citosina), uridina (uracilo) o un análogo de citidina (citosina) o uridina (uracilo), preferiblemente citidina (citosina) o un análogo de la misma;
- X es guanosina (guanina), uridina (uracilo), adenosina (adenina), timidina (timina), citidina (citosina) o un análogo de los nucleótidos mencionados anteriormente (nucleósidos), preferiblemente uridina (uracilo) o un
- 45 análogo de la misma;
- N es cada una secuencia de ácido nucleico que, independiente una de otra, tiene una longitud de alrededor de 4 a 50, preferiblemente de alrededor de 4 a 40, más preferiblemente de alrededor de 4 a 30 o 4 a 20 ácidos nucleicos, seleccionándose cada N independientemente de guanosina (guanina), uridina (uracilo), adenosina (adenina), timidina (timina), citidina (citosina) o un análogo de estos nucleótidos (nucleósidos);
- 50 a es un entero de 1 a 20, preferiblemente de 1 a 15, más preferiblemente de 1 a 10;
- l es un entero de 1 a 40, donde cuando $l = 1$, C es citidina (citosina) o un análogo de la misma, cuando $l > 1$, al menos el 50% de estos nucleótidos (nucleósidos) son citidina (citosina) o un análogo de la misma;
- m es un entero y es al menos 3; donde cuando $m = 3$, X es uridina (uracilo) o un análogo de la misma, cuando $m > 3$, están presentes al menos 3 uridinas sucesivas (uracilos) o análogos de uridina (uracilo);
- 55 n es un entero de 1 a 40, donde cuando $n = 1$, C es citidina (citosina) o un análogo de la misma, cuando $n > 1$, al menos el 50% de estos nucleótidos (nucleósidos) son citidina (citosina) o un análogo de la misma.
- u, v pueden ser independientemente uno del otro un entero de 0 a 50, preferiblemente donde cuando $u = 0$, $v \geq 1$, o cuando $v = 0$, $u \geq 1$;

donde la molécula de ácido nucleico de fórmula (VI) tiene una longitud de al menos 50 nucleótidos, preferiblemente de al menos 100 nucleótidos, más preferiblemente de al menos 150 nucleótidos, aún más preferiblemente de al menos 200 nucleótidos y más preferiblemente de al menos 250 nucleótidos.

5 Para la fórmula (VI), cualquiera de las definiciones dadas anteriormente para los elementos N (esto es N_u y N_v) y X (X_m), particularmente la estructura de núcleo como se definió arriba, así como para los enteros a, l, m, n, u y v, similarmente aplica a los elementos de la fórmula (VI) correspondientemente, donde en la fórmula (VI) la estructura núcleo está definida por $C_l X_m C_n$. La definición de elementos frontera N_u y N_v es idéntica a las definiciones dadas anteriormente para N_u y N_v .

10 De acuerdo con una realización muy particularmente preferente, la molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN inmunoestimulante de acuerdo con la fórmula (V), puede seleccionarse de por ejemplo cualquiera de las secuencias según las SEQ ID NO. 382-395 o de una secuencia que tiene al menos un 60%, 70%, 80%, 90% o incluso un 95% de identidad de secuencia con cualquiera de estas secuencias.

En este contexto, se prefieren particularmente los ARN inmunoestimulantes de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 y 10072.

15 R2025:

GGGAGAAAGCUC AAGCUUAUCCAAGUAGGCUGGUCACCUGUACAACGUAGCCGGUAUUUU
 UUUUUUUUUUUUUUUUUUGACCGUCUCAAGGUCCAAGUUAGUCUGCCUAUAAAGGUGCGG
 AUCCACAGCUGAUGAAAGACUUGUGCGGUACGGUAAUCUCCCCUUUUUUUUUUUUUUUU
 UUUUUAGUAAAUGCGUCUACUGAAUCCAGCGAUGAUGCUGGCCAGAUUCUGACCACAA
 GUGCAUAUAGUAGUCAUCGAGGGUGCCUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGCCAGUU
 CUGAGACUUCGCUAGAGACUACAGUUACAGCUGCAGUAGUAACCACUGCGGCUAUUGCAG
 GAAAUCCCGUUCAGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUCCGCUCACUAUGAUUAAGAACCAG
 GUGGAGUGUCACUGCUCUCGAGGUCUCACGAGAGCGCUCGAUACAGUCCUUGGAAGAAUC
 UUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGUGCGACGAUCACAGAGAACUUCUAUUCUAGCAGGUCU
 GCUCUAG

(SEQ ID NO: 5 y 394)

R3630:

GGGAGAAAGCUC AAGCUUAUCCAAGUAGGCUGGUCACCUGUACAACGUAGCCGGUAUUUU
 UUUUUUUUUUUUUUUUUUGACCGUCUCAAGGUCCAAGUUAGUCUGCCUAUAAAGGUGCGG
 AUCCACAGCUGAUGAAAGACUUGUGCGGUACGGUAAUCUCCCCUUUUUUUUUUUUUUUU
 UUUUUAGUAAAUGCGUCUACUGAAUCCAGCGAUGAUGCUGGCCAGAUUCUGACCACAA
 GUGCAUAUAGUAGUCAUCGAGGGUGCCUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGGCCAGUU
 CUGAGACUUCGCUAGAGACUACAGUUACAGCUGCAGUAGUAACCACUGCGGCUAUUGCAG
 GAAAUCCCGUUCAGGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUCCGCUCACUAUGAUUAAGAACCAG
 GUGGAGUGUCACUGCUCUCGAGGUCUCACGAGAGCGCUCGAUACAGUCCUUGGAAGAAUC
 UUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUGUGCGACGAUCACAGAGAACUUCUAUUCUAGCAGGUCU
 GCUCUAG

(SEQ ID NO. 10072).

20 De acuerdo con otra realización muy particularmente preferente, la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la fórmula (VI) puede seleccionarse de, por ejemplo, cualquiera de las secuencias de acuerdo con las SEQ ID NO 396 o 397, o de una secuencia que tiene al menos un 60%, 70%, 80%, 90% o incluso un 95% de identidad de secuencia con cualquiera de estas secuencias.

Todas las modificaciones descritas en el contexto del ARN codificante también pueden aplicarse en el contexto del ARN no codificante, si corresponde.

25

Combinación de ARN codificante y no codificante

En realizaciones particularmente preferentes, la composición que contiene ARN aquí descrita comprende al menos un ARN que codifica al menos un péptido o proteína y al menos un ARN no codificante como se definió anteriormente, preferiblemente al menos un ARN inmunoestimulador.

5 Particularmente preferidas son las siguientes realizaciones:

- ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina, de manera preferente IL-2, IL-12, IL-15 o CD40L
- 10 • ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos una quimioquina
- ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un producto génico suicida, de manera preferente timidina-quinasa del virus Herpes simplex
- 15 • ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos una proteína o péptido inmunogénico, preferiblemente Proteína NP de la influenza
- ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un inductor de la apoptosis, preferiblemente citocromo c o caspasa 3
- 20 • ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un inductor de la angiogénesis
- ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos una proteína de choque térmico
- 25 • ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un antígeno tumoral
- ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un inhibidor de β -catenina
- ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un activador de la ruta STING
- 30 • ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un modulador de punto de control, preferiblemente un anticuerpo dirigido contra PD-1, PD-L1 o CTLA4
- ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un activador inmune innato, preferiblemente una variante activa constitutiva de RIG-1
- 35 • ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un anticuerpo
- ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un receptor señuelo, preferiblemente un receptor PD-1 soluble
- 40 • ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un inhibidor de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC)
- 45 • ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un inhibidor de la ruta IDO
- ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos una proteína o péptido que se une a inhibidores de la apoptosis.

Más particularmente preferentes son las siguientes realizaciones:

- 50 • ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina, de manera preferente IL-2, IL-12, IL-15 o CD40L + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos una proteína o péptido inmunogénico, preferiblemente Proteína NP de la influenza
- 55 • ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina, de manera preferente IL-2, IL-12, IL-15 o CD40L + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos un activador inmune innato, preferiblemente una variante activa constitutiva de RIG-1
- ARN inmunoestimulador preferiblemente según las SEQ ID NO 5, 394, o 10072 + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos una citoquina, de manera preferente IL-2, IL-12,

IL-15 o CD40L + ARN, preferentemente ARNm, que codifica para al menos otra citoquina, preferentemente CD40L

Formulación y complejación

5 El al menos un ARN de la composición aquí descrita puede administrarse desnudo, sin estar asociado a ningún otro vehículo, portador, agente de transfección o complejante.

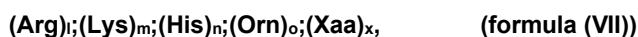
10 En una realización preferente, el ARN de la composición aquí descrita se formula junto con otros compuestos para aumentar la eficacia de transfección y/o las propiedades inmunoestimuladoras del ARN. Dichos compuestos se denominan aquí vehículos, portadores, agentes de transfección o de complejación. Preferiblemente, el ARN se formula junto con uno o más compuestos catiónicos o policatiónicos, preferiblemente con polímeros catiónicos o policatiónicos, péptidos o proteínas catiónicos o policatiónicos, polisacáridos catiónicos o policatiónicos, lípidos catiónicos o policatiónicos y/o con un vehículo polimérico. Dichos polímeros catiónicos o policatiónicos, péptidos o proteínas catiónicos o policatiónicos, polisacáridos catiónicos o policatiónicos, lípidos catiónicos o policatiónicos o vehículos poliméricos son útiles como portadores, vehículos, agentes de transfección o de complejación de ácidos nucleicos en el contexto de la presente descripción. Por consiguiente, en una realización adicional aquí descrita, es preferente que el al menos un ARN o cualquier otro ácido nucleico comprendido en la composición aquí descrita esté asociado o complejoado con un compuesto catiónico o policatiónico o con un vehículo polimérico, opcionalmente en una relación en peso seleccionada de un rango de aproximadamente 6:1 (p/p) a aproximadamente 0,25:1 (p/p), más preferiblemente de aproximadamente 5:1 (p/p) a aproximadamente 0,5:1 (p/p), incluso más preferiblemente de aproximadamente 4:1 (p/p) a aproximadamente 1:1 (p/p) o de aproximadamente 3:1 (p/p) a aproximadamente 1:1 (p/p), y con total preferencia una relación de aproximadamente 3:1 (p/p) a aproximadamente 2:1 (p/p) de ARN o ácido nucleico:compuesto catiónico o policatiónico y/o con un vehículo polimérico; u opcionalmente en una relación nitrógeno / fosfato de ARN o ácido nucleico:compuesto catiónico o policatiónico y/o vehículo polimérico en el intervalo de aproximadamente 0,1-10, preferiblemente en un intervalo de aproximadamente 0,3-4 o 0,3-1, y lo más preferiblemente en un rango de aproximadamente 0,5-1 o 0,7-1, e incluso con total preferencia en un rango de aproximadamente 0,3-0,9 o 0,5-0,9.

15 La relación entre el al menos un ARN como se describió anteriormente y el compuesto catiónico o policatiónico, se puede calcular en base a la relación nitrógeno/fosfato (relación N/P) de todos estos componentes. En el contexto de la presente descripción, la relación N/P preferiblemente está en el intervalo de aproximadamente 0,01-4, 0,01-2, 0,1-2 o 0,1-1,5 con respecto a la relación ácidos nucleicos:péptido catiónico o policatiónico contenido en la vacuna aquí descrita, y con especial preferencia en el intervalo de aproximadamente 0,1-1. Dicha relación N/P está diseñada preferiblemente para proporcionar buenas propiedades de transfección *in vivo* y transporte hacia y a través de las membranas celulares. Para ello, preferentemente, el compuesto catiónico o policatiónico y/o los vehículos poliméricos tal como se usan aquí se basan en secuencias peptídicas.

35 Los compuestos catiónicos o policatiónicos, siendo agentes particularmente preferidos en este contexto, incluyen protamina, nucleolina, espermina o espermidina u otros péptidos o proteínas catiónicos, como poli-L-lisina (PLL), poliarginina, polipéptidos básicos, péptidos penetrantes celulares (CPP), incluyendo péptidos que se unen a VIH, Tat-VIH (VIH), péptidos derivados de Tat, penetratina, péptidos derivados de VP22 o análogos, HSV VP22 (Herpes simplex), MAP, KALA o dominios de transducción de proteínas (PTD), PpT620, péptidos ricos en prolina, péptidos ricos en arginina, péptidos ricos en lisina, péptido(s) MPG, Pep-1, oligómeros L, péptido(s) de calcitonina, péptidos derivados de Antennapedia (particularmente de *Drosophila antennapedia*), pAntp, plsl, FGF, lactoferrina, transportano, Buforina-2, Bac715-24, SynB, SynB(1), pVEC, péptidos derivados de hCT, SAP o histonas.

En este contexto, es particularmente preferente la protamina.

45 Además, las proteínas o péptidos catiónicos o policatiónicos preferentes pueden seleccionarse de las siguientes proteínas o péptidos de la siguiente fórmula total (VII):

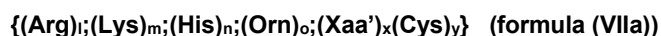


50 donde $i + m + n + o + x = 8-15$, y i, m, n u o , independientemente, puede ser cualquier número seleccionado de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15, siempre que el contenido global de Arg, Lys, His y Orn representa al menos 50% de todos los aminoácidos del oligopéptido; y Xaa puede ser cualquier aminoácido seleccionado de aminoácidos nativos (= que se presentan naturalmente) o no nativos excepto Arg, Lys, His u Orn; y x puede ser cualquier número seleccionado de 0, 1, 2, 3 o 4, siempre que el contenido total de Xaa no exceda el 50% de todos los aminoácidos del oligopéptido. Son particularmente preferentes en este contexto por ejemplo los péptidos catiónicos Arg₇, Arg₈, Arg₉, H₃R₉, R₉H₃, H₃R₉H₃, YSSR₉SSY, (RKH)₄, Y(RKH)₂R, etc. 55 A este respecto, se ha referenciado a la descripción de la WO2009/030481.

Un vehículo polimérico usado según la descripción podría ser un vehículo polimérico formado por componentes catiónicos disulfuro-reticulados.

De acuerdo con otra realización particularmente preferente, los péptidos o proteínas catiónicos o policatiónicos del vehículo polimérico, que tienen la fórmula suma empírica (VII) mostrada arriba y que comprenden o se modifican adicionalmente para comprender al menos un resto -SH, pueden seleccionarse, sin limitarse a, del subgrupo consistente en fórmulas genéricas Arg7 (también denominado R7), Arg9 (también denominado R9), Arg12 (también denominado R12).

De acuerdo con otra realización particularmente preferente, el péptido o proteína catiónico o policatiónico del vehículo polimérico, cuando se define de acuerdo con la fórmula $\{(Arg)_i;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;(Xaa)_x\}$ (fórmula (VII)) mostrada arriba y que comprende o se modifica adicionalmente para comprender al menos un resto -SH, puede seleccionarse, sin limitarse a, la subfórmula (VIIa):



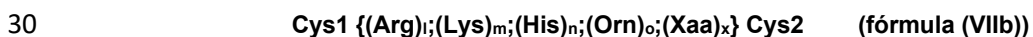
donde $(Arg)_i;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;$ y x son como se definen aquí, Xaa' es cualquier aminoácido seleccionado de aminoácidos nativos (= naturales) o no nativos, excepto Arg, Lys, His, Orn o Cys e y es cualquier número seleccionado de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21-30, 31-40, 41-50, 51 - 60, 61-70, 71-80 y 81-90, siempre que el contenido total de Arg (Arginina), Lys (Lisina), His (Histidina) y Orn (Ornitina) represente al menos el 10% de todos los aminoácidos del oligopéptido.

Esta realización puede aplicarse a situaciones donde el péptido o proteína catiónico o policatiónico del vehículo polimérico, por ejemplo cuando se define de acuerdo con la fórmula empírica $(Arg)_i;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;(Xaa)_x$ (fórmula (VII)) como se muestra arriba, comprende o ha sido modificado con al menos una cisteína como resto -SH en el significado anterior, de modo que el péptido catiónico o policatiónico como componente catiónico lleva al menos una cisteína que es capaz de formar un enlace disulfuro con otros componentes del vehículo polimérico.

Ejemplos ilustrativos pueden comprender cualquiera de las siguientes secuencias:

Cys(Arg7), Cys(Arg8), Cys(Arg9), Cys(Arg10), Cys(Arg11), Cys(Arg12), Cys(Arg13), Cys(Arg14), Cys(Arg15), Cys(Arg16), Cys(Arg17), Cys(Arg18), Cys(Arg19), Cys(Arg20).

Según otra realización particularmente preferente, el péptido o proteína catiónico o policatiónico del vehículo polimérico, cuando se define de acuerdo con la fórmula $\{(Arg)_i;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;(Xaa)_x\}$ (fórmula (VII)) como se muestra arriba, puede seleccionarse, sin limitarse a, de la subfórmula (VIIb):



donde la fórmula empírica $\{(Arg)_i;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;(Xaa)_x\}$ (fórmula (VII)) es como se define aquí y forma un núcleo de una secuencia de aminoácidos de acuerdo con la fórmula (semiempírica) (I) y donde Cys1 y Cys2 son cisteínas proximales a o terminales a $(Arg)_i;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;(Xaa)_x$. Ejemplos ilustrativos pueden comprender cualquiera de las secuencias anteriores flanqueadas por dos Cys y las siguientes secuencias: Cys(Arg7)Cys, Cys(Arg8)Cys, Cys(Arg9)Cys, Cys(Arg10)Cys, Cys(Arg11)Cys, Cys(Arg12)Cys, Cys(Arg13)Cys, Cys(Arg14)Cys, Cys(Arg15)Cys, Cys(Arg16)Cys, Cys(Arg17)Cys, Cys(Arg18)Cys, Cys(Arg19)Cys, Cys(Arg20)Cys (SEQ ID NO: 10-23):

Esta realización puede aplicarse a situaciones en las que el péptido o proteína catiónico o policatiónico del vehículo polimérico, por ejemplo cuando se define de acuerdo con la fórmula empírica $(Arg)_i;(Lys)_m;(His)_n;(Orn)_o;(Xaa)_x$ (fórmula (VII)) como se muestra arriba, se ha modificado con al menos dos cisteínas como restos -SH en el significado anterior, de forma que el péptido catiónico o policatiónico del complejo de carga de vehículo polimérico aquí descrito lleva, como componente catiónico, al menos dos cisteínas (terminales) que son capaces de formar un enlace disulfuro con otros componentes del vehículo polimérico.

En una realización preferente, el vehículo polimérico está formado por, comprende o consiste en el péptido CysArg12Cys (SEQ ID NO: 15) o CysArg12 (CRRRRRRRRRRR).

De acuerdo con una segunda alternativa, al menos un componente catiónico (o policatiónico) del vehículo polimérico puede seleccionarse de, por ejemplo, cualquier polímero catiónico o policatiónico (no peptídico) adecuado en este contexto, siempre que este polímero catiónico o policatiónico (no peptídico) tenga o se modifique para tener al menos un resto -SH, que proporciona un enlace disulfuro que une el polímero catiónico o policatiónico con otro componente del vehículo polimérico como se define aquí. Por tanto, de la misma manera

como se define aquí, el vehículo polimérico puede comprender los mismos o diferentes polímeros catiónicos o policatiónicos.

5 En el caso específico de que el componente catiónico del vehículo polimérico comprenda un polímero catiónico o policatiónico (no peptídico), las propiedades catiónicas del polímero catiónico o policatiónico (no peptídico) se pueden determinar según su contenido en cargas catiónicas en comparación con todas las cargas de los componentes del polímero catiónico. Preferiblemente, el contenido de cargas catiónicas en el polímero catiónico a pH (fisiológico) como se define aquí es al menos 10%, 20% o 30%, preferiblemente al menos 40%, más preferiblemente al menos 50%, 60% o 70 %, pero también preferiblemente al menos 80%, 90%, o incluso 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%, con mayor preferencia al menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70 %, 80%, 90%, 10 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%, o puede estar en el rango de aproximadamente 10% a 90%, más preferiblemente en el rango de aproximadamente 30% a 100%, incluso preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 50% a 100%, por ejemplo 50, 60, 70, 80%, 90% o 100%, o en un rango formado por cualquiera de dos los valores mencionados anteriormente, siempre que el contenido de todas las cargas, por ejemplo cargas positivas y negativas a pH (fisiológico) como se define aquí, en todo el polímero catiónico sea el 100%.

20 Preferiblemente, el componente catiónico (no peptídico) del vehículo polimérico representa un polímero catiónico o policatiónico que típicamente tiene un peso molecular de aproximadamente 0,1 o 0,5 kDa a aproximadamente 100 kDa, preferiblemente de aproximadamente 1 kDa a aproximadamente 75 kDa, más preferiblemente de aproximadamente 5 kDa a aproximadamente 50 kDa, incluso más preferiblemente de aproximadamente 5 kDa a aproximadamente 30 kDa, o un peso molecular de aproximadamente 10 kDa a aproximadamente 50 kDa, incluso más preferiblemente de aproximadamente 10 kDa a aproximadamente 30 kDa. Además, el polímero catiónico o policatiónico (no peptídico) típicamente tiene al menos un resto -SH, que es capaz de formar un enlace disulfuro tras la condensación con otros componentes catiónicos u otros componentes del vehículo polimérico como se define aquí.

25 En el contexto anterior, el componente catiónico (no peptídico) del vehículo polimérico se puede seleccionar entre acrilatos, acrilatos modificados, tales como pDMAEMA (poli(metilacrilato de dimetilaminoetil)), quitosanos, aziridinas o 2-etil-2-oxazolona (formando oligoetileniminas u oligoetileniminas modificadas), polímeros obtenidos por reacción de bisacrilatos con aminas que forman oligo-beta-aminoésteres o poliamidoaminas, u otros polímeros como poliésteres, policarbonatos, etc. Cada molécula de estos polímeros catiónicos o policatiónicos (no peptídicos) típicamente tiene al menos un resto -SH, pudiendo introducirse este al menos un resto -SH en el polímero catiónico o policatiónico (no peptídico) mediante modificaciones químicas, por ejemplo utilizando imonotiolano, ácido 3-tiopropiónico o por la introducción de restos -SH contenidos en aminoácidos, como cisteína o cualquier otro aminoácido (modificado). Tales restos -SH son preferiblemente como ya se han definido anteriormente.

35 Los componentes catiónicos reticulados con disulfuro pueden ser iguales o diferentes entre sí. El vehículo polimérico también puede contener componentes adicionales. También es particularmente preferente que el vehículo polimérico usado según la presente descripción comprenda mezclas de péptidos catiónicos, proteínas o polímeros y opcionalmente componentes adicionales como se definen aquí que están reticulados por enlaces disulfuro como se describe aquí. En este contexto, se ha ce referencia a la descripción de la WO 2012/013326.

40 En este contexto, los componentes catiónicos, que forman la base del vehículo polimérico por reticulación con disulfuro, se seleccionan típicamente de cualquier péptido, proteína o polímero catiónico o policatiónico adecuado para este propósito, en particular cualquier péptido, proteína o polímero catiónico o policatiónico capaz de complejar un ARN o un ácido nucleico como se define según la presente descripción y así preferiblemente condensar el ARN o el ácido nucleico. El péptido, proteína o polímero catiónico o policatiónico 45 preferiblemente es una molécula lineal; sin embargo, también se pueden usar péptidos, proteínas o polímeros catiónicos o policatiónicos ramificados.

50 Cada proteína, péptido o polímero catiónico o policatiónico reticulado con el disulfuro del vehículo polimérico, que puede usarse para formar complejos con el ARN de la composición aquí descrita o con cualquier ácido nucleico adicional comprendido en la composición aquí descrita, contiene al menos un resto -SH, más preferiblemente al menos un residuo cisteína o cualquier grupo químico adicional con un resto -SH capaz de formar un enlace disulfuro tras la condensación con al menos una proteína, péptido o polímero catiónico o policatiónico adicional como componente catiónico del vehículo polimérico como se menciona aquí.

55 Como se definió anteriormente, el vehículo polimérico, que puede usarse para complejar el ARN de la composición aquí descrita o cualquier ácido nucleico adicional comprendido en la composición, puede estar formado por componentes catiónicos (o policatiónicos) disulfuro-reticulados.

Los ácidos nucleicos complejados con dichos vehículos poliméricos también se denominan aquí "complejos de carga de vehículos poliméricos".

En este contexto, es particularmente preferente que el ARN inmunoestimulante empleado en el contexto de la presente descripción esté complejado con un vehículo polimérico como se definió anteriormente. Preferiblemente, el ARN inmunoestimulante (por ejemplo que comprende una secuencia de ARN de acuerdo con cualquiera de las fórmulas III-VI), en especial que comprende una secuencia de ARN de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072, está complejado con un vehículo polimérico que comprende o está formado por péptidos disulfuro-reticulados de acuerdo con la fórmula VII, Vila o VIIb, preferiblemente un vehículo polimérico formado por Cys(Arg12)Cys o Cys(Arg12). Tal realización particularmente preferida se denomina aquí también como "ARNadyuvante".

En una realización particular adicional, el vehículo polimérico que puede usarse para complejar el ARN o cualquier ácido nucleico adicional comprendido en la composición aquí descrita puede seleccionarse de una molécula vehículo polimérica según la fórmula genérica (VIII):



donde

P^1 y P^3 son diferentes o idénticos y representan una cadena de polímero hidrofílico lineal o ramificada, cada P^1 y P^3 tiene al menos una porción -SH- capaz de formar un enlace disulfuro sobre la condensación con el componente P^2 , o alternativamente con (AA), $(AA)_x$, o $[(AA)_x]_z$ si tales componentes se usan como enlazante entre P^1 y P^2 o P^3 y P^2 y/o con componentes adicionales (por ejemplo (AA), $(AA)_x$, $[(AA)_x]_z$ o L), la cadena de polímero hidrofílico lineal o ramificada se seleccionada independientemente de polietilenglicol (PEG), poli-N-(2-hidroxipropil)metacrilamida, poli-2-(metacrililoiloxi)etil-fosforilcolinas, poli(hidroxiálquil-L-asparagina), poli(2-(metacrililoiloxi)etil-fosforilcolina), hidroxietil-almidón o poli(hidroxiálquil-L-glutamina), donde la cadena de polímero hidrofílico tiene un peso molecular de alrededor de 1 kDa a alrededor de 100 kDa, preferiblemente de alrededor de 2 kDa a alrededor de 25 kDa; o más preferiblemente de alrededor de 2 kDa a alrededor de 10 kDa, por ejemplo alrededor de 5 kDa a alrededor de 25 kDa o 5 kDa a alrededor de 10 kDa;

P^2 es una proteína o péptido catiónico o policatiónico, por ejemplo como se definió arriba para el portador polimérico formado por componentes catiónicos disulfuro-reticulados, y preferiblemente de una longitud de alrededor de 3 a alrededor de 100 aminoácidos, más preferiblemente una longitud de alrededor de 3 a alrededor de 50 aminoácidos, aún más preferiblemente de una longitud de alrededor de 3 a alrededor de 25 aminoácidos, por ejemplo una longitud de alrededor de 3 a 10, 5 a 15, 10 a 20 o 15 a 25 aminoácidos, más preferiblemente una longitud de alrededor de 5 a alrededor de 20 y aún más preferiblemente una longitud de alrededor de 10 a alrededor de 20; o es un polímero catiónico o policatiónico, por ejemplo como se definió arriba para el portador polimérico formado por componentes catiónicos disulfuro-reticulados, típicamente con un peso molecular de alrededor de 0,5 kDa a alrededor de 30 kDa, incluyendo un peso molecular de alrededor de 1 kDa a alrededor de 20 kDa, aún más preferiblemente de alrededor de 1,5 kDa a alrededor de 10 kDa, o con un peso molecular de alrededor de 0,5 kDa a alrededor de 100 kDa, incluyendo un peso molecular de alrededor de 10 kDa a alrededor de 50 kDa, aún más preferiblemente de alrededor de 10 kDa a alrededor de 30 kDa; teniendo cada P^2 al menos dos porciones -SH-, capaces de formar un enlace disulfuro sobre la condensación con componentes adicionales P^2 o componente(s) P^1 y/o P^3 o alternativamente con componentes adicionales (por ejemplo (AA), $(AA)_x$, o $[(AA)_x]_z$);

-S-S- es un enlace disulfuro (reversible) (los corchetes se omiten para una mejor legibilidad), donde S preferiblemente representa azufre o una porción que lleva -SH-, que forma un enlace disulfuro (reversible). El enlace disulfuro (reversible) se forma preferiblemente por condensación de porciones -SH- de cualquiera de los componentes P^1 y P^2 , P^2 y P^2 , o P^2 y P^3 , u opcionalmente de componentes adicionales como se definen aquí (por ejemplo L, (AA), $(AA)_x$, $[(AA)_x]_z$, etc.); La porción -SH- puede ser parte de la estructura de estos componentes o agregarse por una modificación como se define abajo;

L es un ligando opcional, que puede estar o no presente, y se puede seleccionar independientemente de RGD, transferrina, folato, un péptido señal o secuencia señal, una secuencia o señal de localización, una secuencia o señal de localización nuclear (NLS), un anticuerpo, un péptido de penetración celular, (por ejemplo TAT o KALA), un ligando de un receptor (por ejemplo citoquinas, hormonas, factores de crecimiento etc.), moléculas pequeñas (por ejemplo carbohidratos como manosa o galactosa o ligandos sintéticos), agonistas de molécula pequeña, inhibidores o antagonistas de receptores (por ejemplo análogos peptidomiméticos RGD), o cualquier proteína adicional como se define aquí, etc.;

n es un entero, típicamente seleccionado de un intervalo de alrededor de 1 a 50, preferiblemente de un intervalo de alrededor de 1, 2 o 3 a 30, más preferiblemente de un intervalo de alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5 a 25, o un intervalo de alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5 a 20, o un intervalo de alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5 a 15, o un intervalo de alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5 a 10, incluyendo por ejemplo un intervalo de alrededor de 4 a 9, 4 a 10, 3 a 20, 4 a 20, 5 a 20 o 10 a 20, o un intervalo de alrededor de 3 a 15, 4 a 15, 5 a 15 o 10 a 15, o un intervalo de alrededor

de 6 a 11 o 7 a 10. Más preferiblemente, n está en el intervalo de alrededor de 1, 2, 3, 4 o 5 a 10, más preferiblemente en el intervalo de alrededor de 1, 2, 3 o 4 a 9, en el intervalo de alrededor de 1, 2, 3 o 4 a 8, o en el intervalo de alrededor de 1, 2 o 3 a 7.

5 En este contexto, se hace referencia a la descripción de la WO 2011/026641 y la WO 2012/116811. Cada uno de los polímeros hidrofílicos P¹ y P³ típicamente tienen al menos una porción -SH-, donde la al menos una porción -SH- es capaz de formar un enlace disulfuro por reacción con el componente P² o con componente el (AA) o (AA)_x, si se usa como enlazante entre P¹ y P² o P³ y P² como se define abajo y opcionalmente con un componente adicional, por ejemplo L y/o (AA) o (AA)_x, por ejemplo si existen dos o más porciones -SH-. Las siguientes subfórmulas "P¹-S-S-P²" y "P²-S-S-P³" dentro de la fórmula genérica (V) anterior (los corchetes se omiten para una mejor legibilidad), donde cualquiera de S, P¹ y P³ son como se definen aquí, típicamente representan una situación donde una porción -SH- de los polímeros hidrofílicos P¹ y P³ se condensa con una porción -SH- del componente P² de la fórmula genérica (V) anterior, formando ambos azufres de estas porciones -SH- un enlace disulfuro -S-S- como se define aquí en la fórmula (V). Estas porciones -SH- son proporcionadas típicamente por cada uno de los polímeros hidrofílicos P¹ y P³, por ejemplo mediante una cisteína interna o cualquier aminoácido adicional (modificado) o compuesto que tenga una porción -SH-. En consecuencia, las subfórmulas "P¹-S-S-P²" y "P²-S-S-P³" también pueden ser escritas como "P¹-Cys-Cys-P²" y "P²-Cys-Cys-P³", si la porción -SH- se proporciona por una cisteína, en donde el término Cys-Cys representa dos cisteínas acopladas por un enlace disulfuro, no por un enlace peptídico. En este caso, el término "-S-S-" en estas fórmulas también puede escribirse como "-S-Cys", como "-Cys-S" o como "-Cys-Cys-". En este contexto, el término "-Cys-Cys-" no representa un enlace peptídico sino un enlace de dos cisteínas por sus porciones -SH- para formar un enlace disulfuro. En consecuencia, el término "-Cys-Cys-" también se puede entender generalmente como "-(Cys-S)-(S-Cys)-", donde en este caso específico S indica el azufre de la porción -SH- de la cisteína. Igualmente, los términos "-S-Cys" y "-Cys-S" indican un enlace disulfuro entre una porción que contiene -SH y una cisteína, que también puede escribirse como "-S-(S-Cys)" y "-(Cys-S)-S". Alternativamente, los polímeros hidrofílicos P¹ y P³ se pueden modificar con una porción -SH-, preferiblemente por una reacción química con un compuesto que lleva una porción -SH-, de manera que cada uno de los polímeros hidrofílicos P¹ y P³ lleva al menos una de tales porciones -SH-. Tal compuesto que lleva una porción -SH puede ser por ejemplo una cisteína (adicional) o cualquier aminoácido adicional (modificado) que tenga una porción -SH. Tal compuesto también puede ser cualquier porción o compuesto no amino que contiene o permite introducir una porción -SH en los polímeros hidrofílicos P¹ y P³ como se definen aquí. Tales compuestos no amino se pueden enlazar a los polímeros hidrofílicos P¹ y P³ de fórmula (VI) del portador polimérico de acuerdo con la presente invención por reacciones químicas o enlace de compuestos, por ejemplo por enlace de un ácido 3-tiopropiónico o tioimolano, por formación de amida (por ejemplo ácidos carboxílicos, ácidos sulfúricos, aminas, etc.), por adición Michael (por ejemplo porciones de maleinimida, carbonilos α,β-insaturados, etc.), por química clic (por ejemplo azidas o alquinos), por metátesis de alqueno/alquino (por ejemplo alquenos o alquinos), formación de imina o hidrozona (aldehídos o cetonas, hidrazinas, hidroxilaminas, aminas), reacciones de formación de complejo (avidina, biotina, proteína G) o componentes que permiten reacciones de sustitución tipo S_n (por ejemplo haloalcanos, tioles, alcoholes, aminas, hidrazinas, hidrazidas, ésteres de ácido sulfónico, sales de oxifosfonio) u otras porciones químicas que se pueden utilizar en el enlace de componentes adicionales. Un derivado PEG particularmente preferido en este contexto es alfa-metoxi-omega-mercapto-poli(etilenglicol). En cada caso, la porción SH, por ejemplo de una cisteína o de cualquier aminoácido adicional (modificado) o compuesto, puede estar presente en los extremos terminales o internamente en cualquier posición de los polímeros hidrofílicos P¹ y P³. Como se define aquí, cada uno de los polímeros hidrofílicos P¹ y P³ típicamente tiene al menos una porción -SH- preferiblemente en un extremo terminal, pero también pueden contener dos o aún más porciones -SH-, que se pueden usar para enlazar adicionalmente componentes adicionales como se definen aquí, preferiblemente péptidos o proteínas funcionales adicionales, por ejemplo un ligando, un componente aminoácido (AA) o (AA)_x, anticuerpos, péptidos penetradores de la célula o péptidos potenciadores (por ejemplo TAT, KALA), etc.

50 Como se definió anteriormente, los ligandos (L) pueden usarse opcionalmente en la molécula portadora polimérica de acuerdo con la fórmula genérica (VIII), por ejemplo para dirigir el polímero portador y su "carga" completa (el componente adyuvante y/o el antígeno de la composición o la composición de vacuna aquí descritas) a células específicas. Se pueden seleccionar, independientemente, de RGD, transferrina, folato, un péptido señal o secuencia señal, una señal o secuencia de localización, una señal o secuencia de localización nuclear (NLS), un anticuerpo, un péptido penetrante celular (CPP), (por ejemplo TAT, KALA), un ligando de un receptor (por ejemplo citoquinas, hormonas, factores de crecimiento, etc.), moléculas pequeñas (por ejemplo carbohidratos como manosa o galactosa o ligandos sintéticos), agonistas de moléculas pequeñas, inhibidores o antagonistas de receptores (por ejemplo análogos peptidomiméticos RGD) o cualquiera de las moléculas que se definen más adelante, etc. Son particularmente preferentes los péptidos penetrantes de células (CPP), que inducen un cambio conformacional mediado por el pH en el endosoma y conducen a una liberación mejorada del vehículo polimérico (complejado con un ácido nucleico) desde el endosoma mediante la inserción en la capa lipídica del liposoma. Los llamados CPP o péptidos catiónicos para el transporte pueden incluir, sin limitarse a, protamina, nucleolina, espermina o espermidina, poli-L-lisina (PLL), polipéptidos básicos, poliarginina, CPP quiméricos, como transportano o péptidos MPG, péptidos de unión a VIH, Tat, Tat de VIH-1

(VIH), péptidos derivados de Tat, oligoargininas, miembros de la familia de la penetratina, por ejemplo penetratina, péptidos derivados de *Antennapedia* (en particular de *Drosophila antennapedia*), pAntp, plsl, etc., CPP derivados de antimicrobianos, por ejemplo buforina-2, Bac715-24, SynB, SynB(1), pVEC, péptidos derivados de hCT, SAP, MAP, PpTG20, péptidos ricos en prolina, loligómeros, péptidos ricos en arginina, péptidos de calcitonina, FGF, lactoferrina, poli-L-lisina, poliarginina, histonas, péptidos derivados de VP22 o análogos, Pestivirus Erns, HSV, VP22 (Herpes simplex), MAP, KALA o dominios de transducción de proteínas (PTD, PpT620, péptidos ricos en prolina, péptidos ricos en arginina, péptidos ricos en lisina, Pep-1, L-oligómeros, péptido(s) de calcitonina, etc. Es particularmente preferente en este contexto la manosa como ligando para dirigirse a células presentadoras de antígeno que transportan sus receptores de manosa de la membrana celular. En un aspecto preferido adicional de la primera realización de la presente descripción, puede emplearse galactosa como ligando opcional para dirigirse a hepatocitos. Dichos ligandos se pueden unir al componente P¹ y/o P³ mediante enlaces disulfuro reversibles como se define a continuación o mediante cualquier otro agregado químico posible, por ejemplo por formación de amida (por ejemplo ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos, aminas, etc.), por adición de Michael (por ejemplo restos maleinimida, α,β -carbonilos no insaturados, etc.), por química clic (por ejemplo azidas o alquinos), por metátesis alqueno/alquino (por ejemplo alquenos o alquinos), formación de imina o hidrozona (aldehídos o cetonas, hidrazinas, hidroxilaminas, aminas), reacciones de complejación (avidina, biotina, proteína G) o componentes que permiten reacciones de sustitución de tipo S_n (por ejemplo haloalcanos, tioles, alcoholes, aminas, hidrazinas, hidrazidas, ésteres de ácido sulfónico, sales oxifosfonio) u otros grupos químicos que pueden utilizarse en la unión de otros componentes.

En el contexto de la fórmula (VIII) de la presente descripción, los componentes P¹ y P³ representan una cadena polimérica hidrófila lineal o ramificada que contiene al menos un resto -SH, cada P¹ y P³ seleccionados independientemente, por ejemplo, de polietilenglicol (PEG), poli-N-(2-hidroxipropil)metacrilamida, poli-2-(metacrililoiloxi)etil-fosforilcolinas, poli(hidroxialquil-L-asparagina), poli(2-(metacrililoiloxi)etil-fosforilcolina), hidroxietil-almidón o poli(hidroxialquil-L-glutamina). P¹ y P³ pueden ser idénticos o diferentes entre sí. Preferiblemente, cada uno de los polímeros hidrófilos P¹ y P³ tiene un peso molecular de aproximadamente 1 kDa a aproximadamente 100 kDa, preferiblemente de aproximadamente 1 kDa a aproximadamente 75 kDa, más preferiblemente de aproximadamente 5 kDa a aproximadamente 50 kDa, incluso más preferiblemente de aproximadamente 5 kDa a aproximadamente 25 kDa. Además, cada uno de los polímeros hidrófilos P¹ y P³ tiene típicamente al menos un resto -SH, donde el al menos un resto -SH es capaz de formar un enlace disulfuro tras la reacción con el componente P² o con el componente (AA) o (AA)_x cuando se usa como enlazador entre P¹ y P² o P³ y P² como se define a continuación y opcionalmente con un componente adicional, por ejemplo L y/o (AA) o (AA)_x, por ejemplo cuando hay dos o más restos -SH. Las siguientes subfórmulas "P¹-S-S-P²" y "P²-S-S-P³" dentro de la fórmula genérica (VII) anterior (los corchetes se omiten para una mejor legibilidad), donde cualquiera de S, P¹ y P³ son como se definen aquí, representan típicamente una situación donde un resto SH de los polímeros hidrófilos P¹ y P³ se ha condensado con un resto SH del componente P² de fórmula genérica (VII) anterior, formando ambos sulfuros de estos restos -SH un enlace disulfuro -S-S- como se define aquí en la fórmula (VII). Estos restos -SH son proporcionados típicamente por cada uno de los polímeros hidrófilos P¹ y P³, por ejemplo una cisteína interna o cualquier otro aminoácido o compuesto (modificado) con un resto -SH. En consecuencia, las subfórmulas "P¹-S-S-P²" y "P²-S-S-P³" también pueden ser escritas como "P¹-Cys-Cys-P²" y "P²-Cys-Cys-P³", si la porción -SH- es proporcionada por una cisteína, donde el término Cys-Cys representa dos cisteínas acopladas por un enlace disulfuro, no por un enlace peptídico. En este caso, el término "-S-S-" en estas fórmulas también puede escribirse como "-S-Cys", como "-Cys-S" o como "-Cys-Cys-". En este contexto, el término "-Cys-Cys-" no representa un enlace peptídico sino un enlace de dos cisteínas por sus porciones -SH- para formar un enlace disulfuro. En consecuencia, el término "-Cys-Cys-" también se puede entender generalmente como "-(Cys-S)-(S-Cys)-", donde en este caso específico S indica el azufre de la porción -SH- de la cisteína. Igualmente, los términos "-S-Cys" y "-Cys-S" indican un enlace disulfuro entre una porción que contiene -SH y una cisteína, que también puede escribirse como "-S-(S-Cys)" y "-(Cys-S)-S". Alternativamente, los polímeros hidrófilos P¹ y P³ se pueden modificar con una porción -SH, preferiblemente por una reacción química con un compuesto que lleva una porción -SH, de manera que cada uno de los polímeros hidrófilos P¹ y P³ lleva al menos una de tales porciones -SH. Tal compuesto que lleva una porción -SH puede ser por ejemplo una cisteína (adicional) o cualquier aminoácido adicional (modificado) que tenga una porción -SH. Tal compuesto también puede ser cualquier porción o compuesto no amino que contiene o permite introducir una porción -SH en los polímeros hidrófilos P¹ y P³ como se definen aquí. Tales compuestos no amino se pueden enlazar a los polímeros hidrófilos P¹ y P³ de fórmula (VII) del portador polimérico aquí descrito por reacciones químicas o enlace de compuestos, por ejemplo por enlace de un ácido 3-tiopropiónico o tioimolano, por formación de amida (por ejemplo ácidos carboxílicos, ácidos sulfúricos, aminas, etc.), por adición Michael (por ejemplo porciones de maleinimida, carbonilos α,β -insaturados, etc.), por química clic (por ejemplo azidas o alquinos), por metátesis de alqueno/alquino (por ejemplo alquenos o alquinos), formación de imina o hidrozona (aldehídos o cetonas, hidrazinas, hidroxilaminas, aminas), reacciones de formación de complejo (avidina, biotina, proteína G) o componentes que permiten reacciones de sustitución tipo S_n (por ejemplo haloalcanos, tioles, alcoholes, aminas, hidrazinas, hidrazidas, ésteres de ácido sulfónico, sales de oxifosfonio) u otras porciones químicas que se pueden utilizar en el enlace de componentes adicionales. Un derivado PEG particularmente preferido en este contexto es alfa-metoxi-omega-mercapto-

poli(etilenglicol). En cada caso, la porción SH, por ejemplo de una cisteína o de cualquier aminoácido adicional (modificado) o compuesto, puede estar presente en los extremos terminales o internamente en cualquier posición de los polímeros hidrofílicos P¹ y P³. Como se define aquí, cada uno de los polímeros hidrofílicos P¹ y P³ típicamente tiene al menos una porción –SH- preferiblemente en un extremo terminal, pero también pueden

5

Según una alternativa preferida, dichos péptidos o proteínas funcionales adicionales pueden comprender los denominados péptidos penetrantes de células (CPP) o péptidos catiónicos para el transporte. Particularmente preferidos son los CPP, que inducen un cambio conformacional mediado por el pH en el endosoma y conducen a una liberación mejorada del vehículo polimérico aquí descrito (complejado con un ácido nucleico) desde el endosoma mediante la inserción en la capa lipídica del liposoma. Los llamados péptidos penetrantes de células (CPP) o péptidos catiónicos para el transporte, pueden incluir, sin limitarse, protamina, nucleolina, espermina o espermidina, poli-L-lisina (PLL), polipéptidos básicos, poliarginina, CPP quiméricos, tales como transportanos o péptidos MPG, péptidos de unión a VIH, Tat, VIH-1 Tat (VIH), péptidos derivados de Tat, oligoargininas, miembros de la familia de la penetratina, por ejemplo penetratina, péptidos derivados de Antennapedia (particularmente de *Drosophila antennapedia*), pAntp, plsl, etc., CPP derivados de antimicrobianos, por ejemplo buforina-2, Bac715-24, SynB, SynB(1), pVEC, péptidos derivados de hCT, SAP, MAP, PpTG20, péptidos ricos en prolina, loligómeros, péptidos ricos en arginina, péptidos de calcitonina, FGF, lactoferrina, poli-L-lisina, poliarginina, histonas, péptidos derivados de VP22 o análogos, Pestivirus Erns, HSV, VP22 (Herpes simplex), MAP, KALA o dominios de transducción de proteínas (PTD, PpT620, péptidos ricos en prolina, péptidos ricos en arginina, péptidos ricos en lisina, Pep-1, L-oligómeros, péptido(s) de calcitonina, etc.

10

15

20

25

30

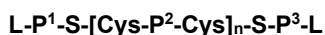
35

40

45

De acuerdo con una realización preferente adicional aquí descrita, cada uno de los polímeros hidrófilos P¹ y P³ de fórmula (VIII) del vehículo polimérico usado según la presente descripción también puede contener al menos un resto funcional adicional que permite unir componentes adicionales como se define aquí, por ejemplo un ligando como se definió anteriormente, o funcionalidades que permiten la unión de componentes adicionales, por ejemplo por formación de amida (por ejemplo ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos, aminas, etc.), por adición de Michael (por ejemplo grupos maleinimida, carbonilos insaturados, etc.), por química clic (por ejemplo azidas o álcalis), por metátesis alqueno/alquino (por ejemplo alquenos o alquinos), formación de imina o hidrozona (aldehídos o cetonas, hidrazinas, hidroxilaminas, aminas), reacciones de complejación (avidina, biotina, proteína (G)) o componentes que permiten reacciones de sustitución de tipo Sn (por ejemplo haloalcanos, tioles, alcoholes, aminas, hidrazinas, hidrazidas, ésteres de ácido sulfónico, sales oxifosfonio) u otros grupos químicos que pueden utilizarse en la unión de otros componentes. Otros grupos funcionales adicionales pueden comprender un componente de aminoácido (AA) como se define aquí o (AA)_x, donde (AA) es preferiblemente un componente amino como se define anteriormente. En el contexto anterior, x es preferiblemente un número entero y puede seleccionarse de un rango de aproximadamente 1 a 100, preferiblemente de un rango de aproximadamente 1 a 50, más preferiblemente de 1 a 30, e incluso más preferiblemente seleccionado de un número que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15-30, por ejemplo de un rango de aproximadamente 1 a 30, de un rango de aproximadamente 1 a 15, o de un número que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15, o puede seleccionarse de un intervalo formado por cualquiera de dos de los valores citados anteriormente. Con mayor preferencia, x es 1. Tal componente aminoácido (AA) o (AA)_x puede estar contenido en cada parte del vehículo polimérico según la fórmula (VIII) anterior y, por tanto, puede estar unido a todos los componentes del vehículo polimérico según la fórmula (VII). Es particularmente preferente que el componente aminoácido (AA) o (AA)_x esté presente como un ligando o como parte del componente repetitivo [S-P²-S] dentro de la fórmula (VIII) del vehículo polimérico.

En el contexto de la fórmula (VIII) completa del portador polimérico se puede definir preferiblemente como sigue:



50

donde L, P¹, P², P³ y n son como se definen aquí, S es azufre y cada Cys proporciona una porción –SH- para el enlace disulfuro.

55

Según una realización particular, el vehículo polimérico según la fórmula (VII) como se definió anteriormente puede comprender al menos un componente aminoácido (AA) o (AA)_x, como se define anteriormente. Tal componente aminoácido (AA) o (AA)_x puede estar contenido en cada parte del vehículo polimérico según la fórmula (VIII) anterior y, por tanto, puede estar unido a todos los componentes del vehículo polimérico según la fórmula (VIII). Es particularmente preferente que el componente aminoácido (AA) o (AA)_x esté presente como un ligando o como parte del componente repetitivo [S-P²-S] dentro de la fórmula (VIII) del vehículo polimérico. El componente aminoácido (AA) o (AA)_x contiene preferiblemente o está flanqueado (por ejemplo

terminalmente) por al menos un grupo que contiene -SH, lo que permite introducir este componente (AA) o (AA)_x mediante un enlace disulfuro en el vehículo polimérico de acuerdo con la fórmula (VIII) como se define aquí. Tal grupo que contiene -SH puede ser cualquiera que contenga -SH (o, por supuesto, un azufre de un enlace disulfuro), por ejemplo un residuo cisteína. En el caso específico de que el grupo que contiene -SH represente una cisteína, el componente aminoácido (AA)_x también puede leerse como -Cys-(AA)_x- o -Cys-(AA)_x-Cys-, donde Cys representa cisteína y proporciona el grupo -SH necesario para un enlace disulfuro. El grupo que contiene -SH también se puede introducir en el componente aminoácido (AA) usando cualquiera de las modificaciones o reacciones mostradas arriba para los componentes P¹, P² o P³. En el caso específico de que el componente aminoácido (AA)_x esté unido a dos componentes del vehículo polimérico de acuerdo con la fórmula (VIII), se prefiere que (AA) o (AA)_x contengan al menos dos grupos -SH-, por ejemplo al menos dos cisteínas, preferiblemente en sus extremos terminales. Esto es particularmente preferente cuando (AA) o (AA)_x son parte del componente repetitivo [S-P²-S]_n. Alternativamente, el componente aminoácido (AA) o (AA)_x se introduce en el vehículo polimérico de acuerdo con la fórmula (VIII) como se define aquí mediante cualquier reacción de adición química posible. Por tanto, el componente aminoácido (AA) o (AA)_x contiene al menos un grupo funcional adicional, lo que permite su unión a un componente adicional como se define aquí, por ejemplo el componente P¹ o P³, P², L o un componente aminoácido adicional (AA) o (AA)_x, etc. Tales grupos funcionales pueden seleccionarse de funcionalidades que permiten la unión de componentes adicionales, por ejemplo funcionalidades como se definen aquí, por ejemplo por formación de amida (por ejemplo ácidos carboxílicos, ácidos sulfónicos, aminas, etc.), por adición de Michael (por ejemplo grupos maleimida, α-β carbonilos insaturados, etc.), por química clic (por ejemplo azidas o álcalis), metátesis alqueno/alquino (por ejemplo alquenos o alquinos), formación de imina o hidrozona (aldehídos o cetonas, hidrazinas, hidroxilaminas, aminas), reacciones de complejación (avidina, biotina, proteína G) o componentes que permiten reacciones de sustitución de tipo S_n (por ejemplo halocanos, tioles, alcoholes, aminas, hidrazinas, hidrazidas, ésteres de ácido sulfónico, sales oxifosfonio) u otros grupos químicos que pueden utilizarse en la unión de otros componentes.

El componente aminoácido (AA) o (AA)_x en el vehículo polimérico de fórmula (VIII) también puede aparecer como un componente aminoácido repetitivo mixto [(AA)_x]_z, donde el número de componentes aminoácido (AA) o (AA)_x se define además por el entero z. En este contexto, z se puede seleccionar de un intervalo de alrededor de 1 a 30, preferiblemente de un intervalo de alrededor de 1 a 15, más preferiblemente 1 a 10 o 1 a 5 y aún más preferiblemente seleccionado de un número seleccionado de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15, o se puede seleccionar de un intervalo formado por cualquiera de dos de los valores antes mencionados.

De acuerdo con una alternativa específica y particularmente preferida, el componente aminoácido (AA) o (AA)_x, preferiblemente escrito como S-(AA)_x-S o [S-(AA)_x-S] se puede usar para modificar el componente P², particularmente el contenido del componente S-P²-S en el componente repetitivo [S-P²-S]_n del portador polimérico de la fórmula (VIII) anterior. Esto se puede representar en el contexto del portador polimérico completo de acuerdo con la fórmula (VIII) por ejemplo por la siguiente fórmula (VIIIa):



donde x, S, L, AA, P¹, P² y P³ son preferiblemente como se definen aquí. En la fórmula (VIIIa) anterior, cualquiera de los componentes simples [S-P²-S] y [S-(AA)_x-S] puede ocurrir en cualquier orden en la subfórmula {[S-P²-S]_a[S-(AA)_x-S]_b}. El número de componentes simples [S-P²-S] y [S-(AA)_x-S] en la subfórmula {[S-P²-S]_a[S-(AA)_x-S]_b} está determinado por los enteros a y b, donde a + b = n. n es un entero y se define como antes para la fórmula (VIII).

a es un número entero, típicamente seleccionado, independientemente del entero b, de un rango de aproximadamente 1 a 50, preferiblemente de un rango de aproximadamente 1, 2 o 3 a 30, más preferiblemente de un rango de aproximadamente 1, 2, 3, 4 o 5 a 25, o un rango de aproximadamente 1, 2, 3, 4, o 5 a 20, o un rango de aproximadamente 1, 2, 3, 4, o 5 a 15, o un rango de aproximadamente 1, 2, 3, 4 o 5 a 10, incluyendo, por ejemplo, un rango de aproximadamente 3 a 20, 4 a 20, 5 a 20, o 10 a 20, o un rango de aproximadamente 3 a 15, 4 a 15, 5 a 15, o 10 a 15, o un rango de aproximadamente 6 a 11 o 7 a 10. Con mayor preferencia, a está en un rango de aproximadamente 1, 2, 3, 4 o 5 a 10, más preferiblemente en un rango de aproximadamente 1, 2, 3 o 4 a 9, en un rango de aproximadamente 1, 2, 3, o 4 a 8, o en un rango de aproximadamente 1, 2 o 3 a 7.

b es un número entero, típicamente seleccionado, independientemente del número entero a, de un rango de aproximadamente 0 a 50 o 1 a 50, preferiblemente de un rango de aproximadamente 0, 1, 2 o 3 a 30, más preferiblemente de un rango de aproximadamente 0, 1, 2, 3, 4 o 5 a 25, o un rango de aproximadamente 0, 1, 2, 3, 4, o 5 a 20, o un rango de aproximadamente 0, 1, 2, 3, 4, o 5 a 15, o un rango de aproximadamente 0, 1, 2, 3, 4, o 5 a 10, incluyendo por ejemplo un rango de aproximadamente 3 a 20, 4 a 20, 5 a 20, o 10 a 20, o un rango de aproximadamente 3 a 15, 4 a 15, 5 a 15, o 10 a 15, o un rango de aproximadamente 6 a 11 o 7 a 10. Con mayor preferencia, b está en un rango de aproximadamente 1, 2, 3, 4 o 5 a 10, más preferiblemente

en un rango de aproximadamente 1, 2, 3 o 4 a 9, en un rango de aproximadamente 1, 2, 3, o de 4 a 8, o en un rango de aproximadamente 1, 2 o 3 a 7.

5 En este contexto, se prefiere particularmente que el ARN, preferiblemente el ARNm de la composición aquí descrita, esté complejado al menos parcialmente con un compuesto catiónico o policatiónico y/o con un
 10 vehículo polimérico, preferiblemente proteínas o péptidos catiónicos. En este contexto, se hace referencia a la descripción de las WO 2010/037539 y WO 2012/113513. Parcialmente significa que solo una parte del ARN está complejada con un compuesto catiónico y que el resto del ARN está (comprendido en la composición) en forma no compleja ("libre"). Preferiblemente, la relación ARN complejado:ARN libre (en la composición) se
 15 selecciona de un intervalo de aproximadamente 5:1 (p/p) a aproximadamente 1:10 (p/p), más preferiblemente de un intervalo de aproximadamente 4:1 (p/p) a aproximadamente 1:8 (p/p), incluso más preferiblemente de un rango de aproximadamente 3:1 (p/p) a aproximadamente 1:5 (p/p) o 1:3 (p/p), y con total preferencia, la relación ARN complejado:ARN libre en la composición se selecciona de una relación de aproximadamente 1:1 (p/p).

20 El denominado "componente (adyuvante)", que puede usarse junto con el ARN, preferiblemente ARNm en la composición aquí descrita, se prepara preferiblemente de acuerdo con un primer paso complejando al menos un ARN(m) del componente (adyuvante) con un compuesto catiónico o policatiónico y/o con un vehículo polimérico, preferiblemente como se define aquí, en una proporción específica, para formar un complejo estable. En este contexto, es altamente preferente que no quede ningún compuesto catiónico o policatiónico o
 25 vehículo polimérico libre o solo una cantidad despreciablemente pequeña del mismo en el componente (adyuvante) después de complejar el ARN(m). Por consiguiente, la proporción entre el ARN(m) y el compuesto catiónico o policatiónico y/o el vehículo polimérico del componente (adyuvante) se selecciona típicamente en un intervalo en el que el ARN(m) está completamente complejado y no hay compuesto catiónico o policatiónico o vehículo polimérico libre o solo una cantidad despreciablemente pequeña del mismo permanece en la composición. Preferiblemente, la relación del componente (adyuvante), es decir la relación entre el ARN(m) y
 30 el compuesto catiónico o policatiónico y/o vehículo polimérico, preferiblemente como se define aquí, se selecciona de un intervalo de aproximadamente 6:1 (p/p) a aproximadamente 0,25:1 (p/p), más preferiblemente de aproximadamente 5:1 (p/p) a aproximadamente 0,5:1 (p/p), incluso más preferiblemente de aproximadamente 4:1 (p/p) a aproximadamente 1:1 (p/p) o de aproximadamente 3:1 (p/p) a aproximadamente 2:1 (p/p). Alternativamente, la relación entre el ARN(m) y el compuesto catiónico o policatiónico y/o vehículo polimérico,
 35 preferiblemente como se define aquí, en el componente (adyuvante), también se puede calcular en base a la relación nitrógeno/fosfato (ratio N/P) de todo el complejo. En el contexto de la presente descripción, una relación N/P está preferiblemente en el rango de aproximadamente 0,1-10, preferiblemente en un rango de aproximadamente 0,3-4 y con total preferencia en un rango de aproximadamente 0,5-2 o 0,7-2 con respecto la relación ARN:compuesto catiónico o policatiónico y/o vehículo polimérico, preferiblemente como se define aquí,
 40 en el complejo, y con especial preferencia en el intervalo de aproximadamente 0,7-1,5, siempre que el compuesto catiónico o policatiónico del complejo sea una proteína o péptido catiónico o policatiónico y/o el vehículo polimérico sea como se define aquí. Dichas relaciones, en particular las relaciones en peso y/o N/P también se pueden aplicar a las relaciones entre al menos un ARN como se define aquí y un polímero catiónico o policatiónico o un vehículo polimérico como se define aquí usado para formar complejos con al menos un ARN.

45 En este contexto, la relación N/P es una medida de la carga iónica del componente catiónico (cadena lateral) del compuesto catiónico o policatiónico o, en particular, cuando las propiedades catiónicas del compuesto catiónico son debidas a nitrógenos (por ejemplo de las cadenas laterales de aminoácidos), la relación N/P expresa la relación entre los átomos de nitrógeno básicos y los residuos fosfato en la cadena principal de nucleótidos, considerando que los átomos de nitrógeno (cadena lateral) en el compuesto catiónico contribuyen a las cargas positivas y el fosfato del esqueleto fosfato del ácido nucleico contribuye a la carga negativa. La relación N/P se define como la relación nitrógeno/fosfato (relación N/P) de todo el complejo de ácido nucleico y compuesto catiónico o policatiónico. Esto es típicamente ilustrativo para el contenido/cantidad de compuestos catiónicos y característico para el contenido/cantidad de ácidos nucleicos unidos o complejados. Se puede
 50 calcular en base a que, por ejemplo, 1 µg de ARN típicamente contiene aproximadamente 3 nmol de residuos fosfato, siempre que el ARN tenga una distribución estadística de bases. Además, de 1 nmol de péptido típicamente contiene aproximadamente x nmol de residuos nitrógeno, dependiendo del peso molecular y del número de sus aminoácidos (catiónicos).

55 De acuerdo con una realización particularmente preferente, la composición aquí descrita comprende un complejo de carga de vehículo polimérico que comprende o que consiste en

- a) como vehículo, un vehículo polimérico formado por componentes catiónicos reticulados con disulfuro preferiblemente como se definió anteriormente, más preferiblemente de acuerdo con la fórmula VII, VIIa, VIIb o VIII y
- b) como carga, al menos una molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN inmunoestimulador,

con especial preferencia un ARN que comprende una secuencia de ARN de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072,

preferiblemente para su uso como medicamento, más preferiblemente para su uso como agente inmunoestimulante o adyuvante, preferiblemente para el tratamiento de cáncer o de enfermedades tumorales, donde el complejo de carga del vehículo polimérico se administra preferiblemente vía intratumoral.

En una realización preferente, la composición que contiene ARN aquí descrita comprende un complejo de carga de vehículo polimérico, que comprende:

- a) como vehículo, un vehículo polimérico formado por componentes catiónicos reticulados con disulfuro, preferiblemente como se definió anteriormente, más preferiblemente de acuerdo con la fórmula VII, VIIa, VIIb o VIII, y
 - b) como carga, al menos una primera molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN inmunoestimulador, más preferiblemente un ARN que comprende una secuencia de ARN de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072,
- para su uso como agente inmunoestimulante o como adyuvante, y al menos una segunda molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN y más preferiblemente un ARNm que codifica al menos una proteína o un péptido, con total preferencia como se describe anteriormente para codificar ARN, y donde la composición se administra preferiblemente vía intratumoral.

En una realización preferente, la presente descripción se refiere a un complejo de carga de vehículo polimérico que comprende:

- a) como vehículo, un vehículo polimérico formado por componentes catiónicos reticulados con disulfuro, preferiblemente como se definió anteriormente, más preferiblemente de acuerdo con la fórmula VII, VIIa, VIIb o VIII, y
 - b) como carga, al menos una primer molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN inmunoestimulador, más preferiblemente un ARN que comprende una secuencia de ARN de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072,
- para su uso como agente inmunoestimulante o como adyuvante,

donde el complejo de carga vehículo polimérico se administra en combinación con al menos una segunda molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN y más preferiblemente un ARNm que codifica al menos una proteína o un péptido, en especial como se describe anteriormente para codificar ARN, y

donde el complejo de carga de vehículo polimérico y la segunda molécula de ácido nucleico se administran preferiblemente vía intratumoral.

Dichas combinaciones preferentes de al menos un primer ácido nucleico, preferiblemente un ARN inmunoestimulador, y al menos un segundo ácido nucleico, preferiblemente un ARN, y más preferiblemente un ARNm que codifica al menos una proteína o péptido se describen anteriormente en el contexto de "combinaciones de codificación y ARN no codificante".

Como se usa aquí, el término "primera molécula de ácido nucleico" se refiere a una molécula nucleica que se usa como carga en el complejo de carga de vehículo polimérico y, por tanto, está asociada al vehículo polimérico. El término "segunda molécula de ácido nucleico", como se usa aquí, se refiere típicamente a un ácido nucleico que no es parte del complejo de carga del vehículo polimérico y que codifica al menos un péptido o proteína.

En el contexto de la presente descripción, los agentes inmunoestimulantes o adyuvantes se entienden como compuestos que preferiblemente son eficientes para inducir una respuesta inmune innata, en particular para inducir la citoquina antiviral IFN-alfa.

Los adyuvantes o agentes inmunoestimulantes generalmente actúan vía su capacidad para inducir una respuesta inmune innata. El sistema inmune innato forma el sistema dominante de defensa del huésped en la mayoría de los organismos y comprende barreras como las barreras humorales y químicas que incluyen, por ejemplo, la inflamación, el sistema del complemento y barreras celulares. El sistema inmune innato generalmente se basa en un pequeño número de receptores, llamados receptores de reconocimiento de patrones. Reconocen patrones moleculares conservados que distinguen organismos extraños, como virus, bacterias, hongos y parásitos, de las células del huésped. Dichos patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) incluyen ácidos nucleicos virales, componentes de paredes bacterianas y fúngicas, proteínas flagelares y otros. La primera familia de receptores de reconocimiento de patrones (receptores PAMP) estudiada en detalle fue la familia de receptores tipo Toll (TLR). Los TLR son proteínas transmembrana que reconocen ligandos del medio extracelular o del lumen de los endosomas. Después de la unión del ligando, transducen la

señal a través de proteínas adaptadoras citoplasmáticas, lo que conduce a la activación de una respuesta de defensa del huésped y conlleva la producción de péptidos antimicrobianos, quimioquinas y citoquinas proinflamatorias, citoquinas antivirales, etc. (véase, por ejemplo Meylan, E., J. Tschopp, y col. (2006), Nature 442 (7098): 39-44). Otros componentes relevantes del sistema inmune incluyen, por ejemplo TLR endosomales, receptores citoplasmáticos, interferones tipo I y receptores citoplasmáticos. Por tanto, los agentes inmunoestimulantes o adyuvantes se definen aquí preferiblemente como inductores de una respuesta inmune innata, activando los receptores de reconocimiento de patrones (receptores PAMP). Aquí, se genera una cascada de señales, que por ejemplo puede provocar la liberación de citoquinas (por ejemplo IFN-alfa) que apoya la respuesta inmune innata. Por consiguiente, es preferiblemente una característica de un agente inmunoestimulador o adyuvante unirse a dichos receptores y activar dichos receptores PAMP. Idealmente, como agente o adyuvante, además, apoya la respuesta inmune adaptativa, por ejemplo cambiando la respuesta inmune de manera que se active la clase preferida de células Th. Dependiendo de la enfermedad o trastorno a tratar, puede preferirse un cambio a una respuesta inmune basada en Th1 o, en otros casos, puede preferirse un cambio a una respuesta inmune Th2. Además, los adyuvantes generalmente se definen como compuestos que pueden aumentar y/o modular la inmunogenicidad intrínseca de un antígeno. El término "agente inmunoestimulante" típicamente no incluye agentes, por ejemplo antígenos (de cualquier estructura química), que provocan una respuesta inmune adaptativa/citotóxica, por ejemplo una respuesta inmune "humoral" o "celular"; en otras palabras, provoca respuestas inmunes (y confiere inmunidad por sí mismo) que se caracterizan por una respuesta específica a las propiedades estructurales de un antígeno reconocido por las células inmunes competentes. Por el contrario, "agente inmunoestimulante" es típicamente un agente/compuesto/complejo que no desencadena una respuesta inmune adaptativa por sí mismo, pero que puede potenciar inesperadamente dicha respuesta inmune adaptativa de forma inespecífica, por ejemplo activando receptores "PAMP" y, por tanto, desencadenando la liberación de citoquinas que apoyan la respuesta inmune adaptativa real. En consecuencia, cualquier inmunoestimulación por agentes (por ejemplo antígenos) que evoquen una respuesta inmune adaptativa por sí mismos (que confiere inmunidad por sí mismos directa o indirectamente) normalmente se reivindica con la frase "agente inmunoestimulante".

También se entiende que el término "adyuvante" no comprende agentes que confieran inmunidad por sí mismos. En consecuencia, los adyuvantes no confieren inmunidad por sí mismos, sino que ayudan al sistema inmunitario de diversas maneras a mejorar la respuesta inmunitaria específica de antígeno, por ejemplo promoviendo la presentación de un antígeno al sistema inmune. Aquí, un adyuvante puede preferiblemente por ejemplo modular la respuesta inmune específica de antígeno, por ejemplo modificando la respuesta específica de antígeno basada en Th2 dominante a una respuesta específica de antígeno más basada en Th1 o viceversa. Por consiguiente, los términos "agente inmunoestimulante" y "adyuvante" en el contexto de la presente descripción se entienden típicamente como agentes, compuestos o complejos que no confieren inmunidad por sí mismos, sino que apoyan exclusivamente la respuesta inmune de manera no específica (en contraste a una respuesta inmune específica de antígeno) por efectos que modulan la respuesta inmune específica de antígeno (respuesta inmune celular y/o humoral adaptativa) mediante medidas inespecíficas, por ejemplo expresión/secreción de citoquinas, presentación mejorada del antígeno, cambio de la naturaleza de los brazos de la respuesta inmune, etc. En consecuencia, los agentes que evocan inmunidad por sí mismos típicamente no son contemplados por los términos "adyuvante" o "agente inmunoestimulante".

El uso del complejo de carga de vehículo polimérico, opcionalmente en combinación con una segunda molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN, permite proporcionar un medicamento más eficiente y/o más seguro. Ventajosamente, el complejo de carga portador polimérico es adecuado para la administración *in vivo* de ácidos nucleicos, en particular para compactar y estabilizar un ácido nucleico con el fin de transfectar el ácido nucleico, tal como reducir uno o más efectos secundarios negativos de los polímeros de alto peso molecular como se discutió anteriormente, como pobre biodegradabilidad o alta toxicidad, aglomeración, baja actividad de transfección *in vivo*, etc. El complejo de carga de vehículo polimérico también proporciona una transferencia mejorada del ácido nucleico *in vivo*, en particular vía intratumoral, incluyendo estabilidad del suero, estabilidad de la sal, eficiencia de absorción, activación reducida del complemento, liberación de ácido nucleico, etc. Tal complejo de carga de vehículo polimérico además puede apoyar la inducción y el mantenimiento de una respuesta inmune adaptativa iniciando o estimulando una respuesta inmune innata paralela. En particular, se ha encontrado que se puede obtener una respuesta inmune adaptativa mejorada cuando el complejo de carga de vehículo polimérico se administra en combinación con una segunda molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN que codifica una proteína o péptido, o cuando el complejo de carga de vehículo polimérico se formula conjuntamente en una composición farmacéutica con una segunda molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN que codifica una proteína o péptido, preferiblemente un péptido o proteína antigénico. Se ha demostrado que es particularmente beneficioso a este respecto administrar la composición aquí descrita, que comprende el complejo de carga de vehículo polimérico, opcionalmente en combinación con la segunda molécula de ácido nucleico como se define aquí, vía intratumoral. Además, el complejo de carga de vehículo polimérico puede tener una estabilidad de almacenamiento mejorada, en particular durante la liofilización.

En realizaciones particulares, el complejo de carga de vehículo polimérico como se define anteriormente mejora la respuesta inmune contra una proteína o péptido que está codificado por una segunda molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN, más preferiblemente un ARNm, que se administra en combinación con el complejo de carga de vehículo polimérico, preferiblemente mediante la administración vía intratumoral.

- 5 El complejo de carga de vehículo polimérico y/o la segunda molécula de ácido nucleico que codifica un péptido o proteína se proporcionan preferiblemente junto con un vehículo y/o vehículo farmacéuticamente aceptable. En el contexto de la presente descripción, un vehículo farmacéuticamente aceptable incluye típicamente un material líquido o no líquido que se mezcla con el complejo de carga de vehículo polimérico y/o con la segunda molécula de ácido nucleico. Si el complejo de carga del vehículo polimérico y/o la segunda molécula de ácido nucleico se proporcionan en forma líquida, el vehículo será típicamente agua libre de pirógenos, solución salina isotónica o soluciones acuosas tamponadas, por ejemplo soluciones tamponadas fosfato, citrato, etc. La solución Ringer o Ringer-Lactato es particularmente preferente como base líquida.

- 10 La frase "administrado en combinación" tal como se usa aquí se refiere a una situación en la que el complejo de carga de vehículo polimérico se administra a un sujeto antes, concomitantemente o después de la administración de la segunda molécula de ácido nucleico que codifica una proteína o péptido al mismo sujeto. Preferiblemente, el intervalo de tiempo entre la administración del complejo de carga de vehículo polimérico y la al menos una segunda molécula de ácido nucleico, preferiblemente un ARN que codifica una proteína o péptido, es inferior a aproximadamente 48 horas, más preferiblemente inferior a aproximadamente 24 horas, 12 horas, 6 horas, 4 horas, 2 horas, 1 hora, con total preferencia inferior a aproximadamente 30 minutos, 15 minutos o 5 minutos. En una realización particularmente preferida, la frase "administrado en combinación" se refiere a la administración concomitante del complejo de carga de vehículo polimérico y la al menos una segunda molécula de ácido nucleico, es decir, la administración simultánea de ambos componentes o la administración de ambos componentes dentro de un marco de tiempo que típicamente comprende menos de 5 minutos. La frase "administrado en combinación" no solo se refiere a una situación en la que el complejo de carga del vehículo farmacéutico está en contacto físico con al menos una segunda molécula de ácido nucleico o formulado junto con dicha segunda molécula de ácido nucleico. La frase "administrado en combinación" como se usa aquí comprende también la administración separada del complejo de carga de vehículo polimérico y la segunda molécula de ácido nucleico (por ejemplo mediante dos inyecciones separadas), siempre que el intervalo de tiempo entre las dos administraciones no exceda el intervalo definido anteriormente.
- 15 Alternativamente, el complejo de carga de vehículo polimérico y la segunda molécula de ácido nucleico pueden administrarse en combinación, mezclando el complejo de carga de vehículo polimérico y la segunda molécula de ácido nucleico antes de la administración, y administrando la mezcla a un sujeto. Cuando el complejo de carga de vehículo polimérico se formula junto con la segunda molécula de ácido nucleico o cuando se usa una composición como se define aquí, el complejo de carga de vehículo polimérico y la segunda molécula de ácido nucleico pueden administrarse además, independientemente entre sí, en combinación, a través de cualquiera de las vías de administración como se describen aquí.

- 20 El complejo de carga de vehículo polimérico comprende, como carga, al menos una molécula de ácido nucleico. En el contexto de la presente descripción, dicha molécula de ácido nucleico puede ser cualquier ácido nucleico adecuado, seleccionado por ejemplo de cualquier ADN (monocatenario o bicatenario), preferiblemente, sin limitarse a, por ejemplo ADN genómico, moléculas de ADN monocatenario, moléculas de ADN bicatenario, ADN codificante, cebadores de ADN, sondas de ADN, ADN inmunoestimulador/inmunoestimulante, un oligonucleótido de ADN (corto) (oligodesoxirribonucleótidos (corto)), ADN viral, o pueden seleccionarse por ejemplo de cualquier PNA (ácido nucleico peptídico) o puede seleccionarse por ejemplo de cualquier ARN (monocatenario o bicatenario), preferiblemente, sin limitarse a, un oligonucleótido de ARN (corto) (oligoribonucleótido (corto)), un ARN codificante, un ARN mensajero (ARNm), un ARN viral, replicones, un ARN inmunoestimulador/inmunoestimulante, un ARN interferente pequeño (ARNsi), un ARN antisentido, un micro ARN, un ARN nuclear pequeño (ARNsn), un ARN pequeño horquilla (sh) o riboswitches, ribozimas o aptámeros; etc. La molécula de ácido nucleico del complejo de carga de vehículo polimérico también puede ser un ARN ribosómico (ARNr), un ARN transferente (ARNt), un ARN mensajero (ARNm) o un ARN viral (ARNv).
- 25 Preferiblemente, la molécula de ácido nucleico del complejo de carga de vehículo polimérico es un ARN. Más preferiblemente, la molécula de ácido nucleico del complejo de carga de vehículo polimérico es un ARN monocatenario (lineal), incluso más preferiblemente un ARNm o un ARN inmunoestimulador/inmunoestimulante.

- 30 Además, el ácido nucleico del complejo de carga de vehículo polimérico puede ser una molécula de ácido nucleico monocatenario o bicatenario o un ácido nucleico parcialmente bicatenario o parcialmente monocatenario al menos parcialmente autocomplementarios (ambas moléculas de ácido nucleico monocatenario o parcialmente monocatenario parcialmente dobles o parcialmente simples están formadas típicamente por una molécula de ácido nucleico monocatenario más larga y más corta o por dos moléculas de ácido nucleico monocatenario que tienen aproximadamente la misma longitud, donde una molécula de ácido nucleico monocatenario es en parte complementaria a la otra molécula de ácido nucleico monocatenario y ambas forman así una molécula de ácido nucleico bicatenario en esta región, es decir, una molécula de ácido

nucleico parcialmente bicatenario o parcialmente monocatenario). Preferiblemente, la molécula de ácido nucleico puede ser una molécula de ácido nucleico monocatenario. Además, la molécula de ácido nucleico puede ser una molécula de ácido nucleico circular o lineal, preferiblemente una molécula de ácido nucleico lineal.

- 5 Según una alternativa, la molécula de ácido nucleico del complejo de carga de vehículo polimérico aquí descrito puede ser un ácido nucleico codificante, por ejemplo ADN o ARN. Además, el complejo de carga de vehículo polimérico puede administrarse en combinación con al menos una segunda molécula de ácido nucleico que codifica una proteína o un péptido.

- 10 Según una realización, la al menos una primera molécula de ácido nucleico y la al menos una segunda molécula de ácido nucleico son ambas moléculas de ácido nucleico codificantes. Preferiblemente, la al menos una primera y la al menos una segunda molécula de ácido nucleico codifica cada una un péptido o proteína diferente. En una realización, la primera molécula de ácido nucleico tiene una secuencia que es distinta de la secuencia de la segunda molécula de ácido nucleico, administrándose en combinación con el complejo de carga de vehículo polimérico. Alternativamente, la primera molécula de ácido nucleico y la segunda molécula de ácido nucleico pueden comprender la misma secuencia o ser idénticas.

- 20 En el caso de al menos una primera molécula de ácido nucleico y/o de la segunda molécula de ácido nucleico, dicho ADN o ARN codificante puede ser cualquier ADN o ARN tal como se define aquí. Preferiblemente, dicho ADN o ARN codificante puede ser un ADN o ARN monocatenario o bicatenario, más preferiblemente un ADN o ARN monocatenario, y/o un ADN o ARN circular o lineal, más preferiblemente un ADN o ARN lineal. Además, dicho ADN o ARN codificante puede ser un ADN genómico, un ARN o ADN viral, un replicón, un ADN plasmídico o un ARNm. Incluso más preferiblemente, el ADN o ARN codificante puede ser un ADN o ARN monocatenario (lineal). Con total preferencia, la molécula de ácido nucleico puede ser un ARN mensajero monocatenario lineal (ARNm). Tal ARNm puede aparecer como un ARN mono, di o incluso multicistrónico, es decir, un ARN que porta las secuencias codificantes de una, dos o más proteínas o péptidos. Dichas secuencias de codificación en ARNm di- o multicistrónico pueden estar separadas por al menos una secuencia IRES, por ejemplo tal como se define aquí.

- 30 En una realización preferente, la al menos una segunda molécula de ácido nucleico codifica una proteína terapéuticamente activa o un antígeno como se define aquí, preferiblemente como se describe en el contexto de "ARN codificante". En una realización particularmente preferida, la al menos una segunda molécula de ácido nucleico que se administra en combinación con el complejo de carga de vehículo polimérico codifica un péptido o una proteína que es capaz de provocar una respuesta inmune, preferiblemente una respuesta inmune adaptativa, después de la administración, especialmente vía intratumoral, a un huésped. Alternativamente, la al menos una segunda molécula de ácido nucleico codifica al menos un péptido o proteína terapéuticamente activo, preferiblemente seleccionados del grupo consistente en citoquinas, quimioquinas, productos génicos suicidas, proteínas o péptidos inmunogénicos, inductores de la apoptosis, inhibidores de la angiogénesis, proteínas de choque térmico, antígenos tumorales, inhibidores de β -catenina, activadores de la vía STING, moduladores de puntos de control, activadores inmunes innatos, anticuerpos, receptores negativos dominantes y receptores señuelo, inhibidores de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC), inhibidores de la vía IDO y proteínas o péptidos que se unen inhibidores de la apoptosis.

- 40 En una realización particular, la primera molécula de ácido nucleico del complejo de carga de vehículo polimérico aquí definido y/o la segunda molécula de ácido nucleico administrada en combinación con el complejo de carga de vehículo polimérico pueden contener modificaciones de esqueleto, de azúcar o de bases. Una modificación de esqueleto en relación con la presente descripción es una modificación donde los fosfatos del esqueleto de nucleótidos contenidos en la molécula de ácido nucleico del complejo de carga de vehículo polimérico aquí descrito están modificados químicamente. Una modificación de azúcar en relación con la presente descripción es una modificación química del azúcar de los nucleótidos de la primera molécula de ácido nucleico del complejo de carga de vehículo polimérico aquí descrito y/o de la segunda molécula de ácido nucleico administrada en combinación con el complejo de carga de vehículo polimérico. Además, una modificación de bases en relación con la presente descripción es una modificación química de los residuos base de los nucleótidos de la molécula de ácido nucleico del complejo de carga de vehículo polimérico aquí descrito y/o de la segunda molécula de ácido nucleico administrada en combinación con complejo de carga de vehículo polimérico. Dichas modificaciones se describen anteriormente en el contexto de "Modificaciones de ARN".

- 55 Según una realización adicional, la primera molécula de ácido nucleico del complejo de carga de vehículo polimérico aquí definido y/o la segunda molécula de ácido nucleico administrada en combinación con el complejo de carga de vehículo polimérico pueden contener una modificación de lípidos. Tal ácido nucleico modificado con lípidos típicamente comprende un ácido nucleico como se define aquí. Tal primera molécula de ácido nucleico modificada con lípidos del complejo de carga de vehículo polimérico o la segunda molécula de ácido nucleico modificada con lípidos administrada en combinación con el complejo de carga de vehículo

polimérico típicamente comprende además al menos un enlazador unido covalentemente a esa molécula de ácido nucleico y al menos un lípido unido covalentemente al enlazador respectivo. Alternativamente, la molécula de ácido nucleico modificada con lípidos comprende al menos una molécula de ácido nucleico como se define aquí y al menos un lípido (bifuncional) unido covalentemente (sin enlazador) a esa molécula de ácido nucleico. Según una tercera alternativa, la molécula de ácido nucleico modificada con lípidos comprende una molécula de ácido nucleico como se define aquí, al menos un enlazador unido covalentemente a esa molécula de ácido nucleico y al menos un lípido unido covalentemente al enlazador respectivo, y también al menos un lípido (bifuncional) unido covalentemente (sin enlazador) a esa molécula de ácido nucleico.

Según una realización preferente adicional, el al menos un ARN de la composición aquí descrita está complejado con lípidos para formar uno o más liposomas, lipoplejos o nanopartículas lipídicas. Por tanto, en una realización, la composición aquí descrita comprende liposomas, lipoplejos y/o nanopartículas lipídicas que comprenden al menos un ARN.

Las formulaciones basadas en lípidos han sido cada vez más reconocidas como uno de los sistemas de suministro de ARN más prometedores debido a su biocompatibilidad y a su facilidad de producción a gran escala. Los lípidos catiónicos han sido ampliamente estudiados como materiales sintéticos para el suministro de ARN. Después de la mezcla, los ácidos nucleicos se condensan con lípidos catiónicos para formar complejos lípidos/ácidos nucleicos conocidos como lipoplejos. Estos complejos lipídicos pueden proteger el material genético de la acción de las nucleasas y suministrarlo a las células interactuando con la membrana celular cargada negativamente. Los lipoplejos se pueden preparar mezclando directamente lípidos cargados positivamente a pH fisiológico con ácidos nucleicos cargados negativamente.

Los liposomas convencionales consisten en una bicapa lipídica que puede estar compuesta de lípidos catiónicos, aniónicos o (fosfo)lípidos neutros y colesterol, que encierra un núcleo acuoso. Tanto la bicapa lipídica como el espacio acuoso pueden incorporar compuestos hidrófobos o hidrófilos, respectivamente. Las características y el comportamiento de los liposomas *in vivo* pueden modificarse por la adición de un recubrimiento polimérico hidrófilo, por ejemplo polietilenglicol (PEG), a la superficie del liposoma, para conferir estabilización estérica. Además, los liposomas se pueden usar para una diana específica uniendo ligandos (por ejemplo anticuerpos, péptidos y carbohidratos) a su superficie o al extremo terminal de las cadenas de PEG unidas (Front Pharmacol. 2015, 1 de diciembre; 6: 286).

Los liposomas son sistemas de suministro coloidales basados en lípidos y basados en tensioactivos compuestos por una bicapa de fosfolípidos que rodea un compartimento acuoso. Pueden presentarse como vesículas esféricas y pueden variar en tamaño desde 20 nm hasta unas pocas micras. Los liposomas catiónicos basados en lípidos pueden formar complejos con ácidos nucleicos cargados negativamente mediante interacciones electrostáticas, dando como resultado complejos con biocompatibilidad, baja toxicidad y la posibilidad de producción a gran escala, requerida para aplicaciones clínicas *in vivo*. Los liposomas pueden fusionarse con la membrana plasmática para su absorción; una vez dentro de la célula, los liposomas se procesan por la vía endocítica y el material genético se libera desde el endosoma/portador al citoplasma. Los liposomas se han percibido durante mucho tiempo como vehículos de administración de fármacos debido a su biocompatibilidad superior, dado que los liposomas son básicamente análogos a las membranas biológicas y pueden prepararse a partir de fosfolípidos naturales y sintéticos (Int J Nanomedicine. 2014; 9: 1833-1843).

Los liposomas catiónicos han sido tradicionalmente los sistemas de administración no virales más comúnmente utilizados para los oligonucleótidos, incluyendo ADN plasmídico, oligos antisentido y ARNs/ARN de horquilla pequeña -ARNsh. Los lípidos catiónicos, como DOTAP (1,2-dioleoil-3-trimetilamonio)propano) y DOTMA (N-[1-(2,3-dioleoiloxi)propil]-N,N,N-trimetilamonio-metil-sulfato) pueden formar complejos o lipoplejos con ácidos nucleicos cargados negativamente para formar nanopartículas por interacción electrostática, proporcionando una alta eficiencia de transfección *in vitro*. Además, se han desarrollado nanoliposomas neutros basados en lípidos para la administración de ARN, por ejemplo nanoliposomas neutros basados en 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfatidilcolina (DOPC) (Adv Drug Deliv Rev. 2014 Feb; 66: 110-116).

Por tanto, en una realización, el al menos un ARN de la composición aquí descrita está complejado con lípidos catiónicos y/o lípidos neutros y forma así liposomas, nanopartículas lipídicas, lipoplejos o nanoliposomas neutros basados en lípidos.

Los compuestos catiónicos o policatiónicos preferentes que pueden usarse como agente de transfección o complejación pueden incluir polisacáridos catiónicos, por ejemplo quitosano, polibreno, polímeros catiónicos, por ejemplo polietilenoimina (PEI), lípidos catiónicos, por ejemplo DOTMA: cloruro de [1-(2,3-dioleoiloxi)propil]-N,N,N-trimetilamonio, DMRIE, di-C14-amidina, DOTIM, SAINT, DC-Chol, BGTC, CTAP, DOPC, DODAP, DOPE: Dioleoil fosfatidiletanol amina, DOSPA, DODAB, DOIC, DMEPC, DOGS: Dioctadecilamidoglicilispermina, DIMRI: bromuro de dimiristo-oxipropil-dimetilhidroxietil-amonio, DOTAP: dioleoiloxi-3-(trimetilamonio)-propano, DC-6-14: cloruro de O,O-ditetradecanoil-N-(α -trimetilamonioacetil)-dietanolamina, CLIP1: cloruro de rac-[(2,3-dioctadeciloxipropil)(2-hidroxietil)]-dimetilamonio, CLIP6: rac-[2(2,3-

5 dihexadeciloxipropil-oximetiloxi)etil]-trimetilamonio, CLIP9: rac-[2(2,3-dihexadeciloxipropil-oxisucciniloxi)etil]-
 10 trimetilamonio, oligofectamina, o polímeros catiónicos o policationicos, por ejemplo poliaminoácidos
 modificados, como β -aminoácido-polímeros o poliamidas invertidas, etc., polietilenos modificados, tal como
 PVP (poli(bromuro de N-etil-4-vinilpiridinio)), etc., acrilatos modificados, como pDMAEMA (poli(dimetilaminoetil
 metilacrilato)), etc., amidoaminas modificadas tal como pAMAM (poli(amidoamina)), etc., polibetaaminoéster
 modificado (PBAE), tal como diamina y polímeros 1,4-butanodiol-diacrilato-co-5-amino-1-pentanol modificados,
 etc., dendrímeros, como dendrímeros de polipropilamina o dendrímeros basados en pAMAM, etc., poliimina(s),
 tal como PEI: poli(etilenimina), poli(propilenimina), etc., polialilamina, polímeros basados en estructura de
 azúcar, tal como polímeros basados en ciclodextrina, polímeros basados en dextrano, quitosano, etc.,
 10 polímeros basados en estructuras silano, tal como copolímeros PMOXA-PDMS, etc., polímeros en bloque que
 consisten en una combinación de uno o más bloques catiónicos (por ejemplo seleccionados de un polímero
 catiónico como se mencionó arriba) y de uno o más bloques hidrofílicos o hidrofóbicos (por ejemplo
 polietilenglicol); etc.

Compuestos farmacéuticamente activos adicionales:

15 Además, la composición aquí descrita puede comprender al menos un componente/compuesto
 farmacéuticamente activo adicional. Alternativamente o además, el al menos un componente/compuesto
 farmacéuticamente activo adicional puede administrarse conjuntamente de forma concomitante con la
 composición. Por tanto, el al menos un componente/compuesto farmacéuticamente activo adicional se puede
 20 administrar en combinación con al menos un ARN de la composición aquí descrita o con la composición que
 contiene ARN aquí descrita.

Las frases "administrado en combinación", coadministración o "administración concomitante", tal como se usan
 aquí, se refieren a una situación en la que la composición aquí descrita o un ingrediente de la misma se
 administra a un sujeto antes, concomitantemente o después de la administración de un componente
 farmacéuticamente activo adicional al mismo sujeto. El intervalo de tiempo entre la administración de la
 25 composición aquí descrita o un ingrediente de la misma y el al menos un segundo componente
 farmacéuticamente activo depende de la naturaleza y del efecto biológico del componente farmacéuticamente
 activo particular y puede ser determinado por un médico. Preferiblemente, el intervalo de tiempo es inferior a
 aproximadamente 48 horas, más preferiblemente inferior a aproximadamente 24 horas, 12 horas, 6 horas, 4
 horas, 2 horas, 1 hora, lo más preferiblemente inferior a aproximadamente 30 minutos, 15 minutos o 5 minutos.
 30 En una realización particularmente preferente, la frase "administrado en combinación" se refiere a la
 administración concomitante de la composición aquí descrita o de un ingrediente de la misma y al menos un
 segundo componente farmacéuticamente activo, es decir, la administración simultánea de ambos compuestos
 o la administración de ambos compuestos dentro de un marco de tiempo que generalmente comprende menos
 de 5 minutos. La frase "administrado en combinación" no solo se refiere a una situación en la que la composición
 35 aquí descrita o un ingrediente de la misma está en contacto físico con el al menos un segundo componente
 farmacéuticamente activo o formulado junto con dicho segundo componente farmacéuticamente activo. La
 frase "administrado en combinación" como se usa aquí comprende también la administración separada de la
 composición aquí descrita o de un ingrediente de la misma y el segundo componente farmacéuticamente activo
 (por ejemplo, mediante dos inyecciones separadas). Alternativamente, la composición aquí descrita o un
 40 ingrediente de la misma y el segundo componente farmacéuticamente activo se pueden administrar en
 combinación, mezclando la composición o un ingrediente de la misma y el segundo componente
 farmacéuticamente activo antes de la administración y administrando la mezcla a un sujeto. Cuando la
 composición aquí descrita o un ingrediente de la misma se formula junto con el segundo componente
 farmacéuticamente activo o cuando se usa una composición como se define aquí, la composición o un
 45 ingrediente de la misma y el segundo componente farmacéuticamente activo pueden administrarse
 adicionalmente, independientemente entre sí, en combinación, por cualquiera de las vías de administración
 como se describen aquí.

Un componente/compuesto farmacéuticamente activo a este respecto es un compuesto que tiene un efecto
 terapéutico para curar, mejorar o prevenir una indicación o enfermedad particular, a saber, una enfermedad
 50 tumoral o cancerosa. Dichos compuestos incluyen, sin limitación, péptidos o proteínas, preferiblemente como
 se definen aquí, ácidos nucleicos, preferiblemente como se definen aquí, compuestos orgánicos o inorgánicos
 (terapéuticamente) activos de bajo peso molecular (peso molecular inferior a 5.000, preferiblemente inferior a
 1.000), azúcares, antígenos o anticuerpos, preferiblemente como se definen aquí, agentes terapéuticos ya
 conocidos en la técnica anterior, células antigénicas, fragmentos celulares antigénicos, fracciones celulares,
 55 componentes de la pared celular (por ejemplo polisacáridos), patógenos (virus, bacterias, etc.) modificados,
 atenuados o desactivados (por ejemplo químicamente o por irradiación), adyuvantes, etc.

En una realización preferida, la composición aquí descrita comprende adicionalmente al menos un
 componente/compuesto farmacéuticamente activo adicional, donde el al menos un componente
 farmacéuticamente activo adicional se selecciona de citoquinas, quimioquinas, productos génicos suicidas,

5 proteínas o péptidos inmunogénicos, inductores de la apoptosis, inhibidores de la angiogénesis, proteínas de choque térmico, antígenos tumorales, inhibidores de β -catenina, activadores de la vía STING, moduladores de puntos de control, activadores inmunes innatos, anticuerpos, receptores negativos dominantes y receptores señuelo, inhibidores de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC), inhibidores de la vía IDO, proteínas o péptidos que se unen a inhibidores de la apoptosis, agentes antibacterianos, agentes antivirales, adyuvantes, agentes quimioterapéuticos e inhibidores de quinasas.

10 Alternativamente o además, el al menos un componente farmacéuticamente activo adicional puede administrarse conjuntamente de forma concomitante con al menos un ARN de la composición que contiene ARN o la composición aquí descrita o puede usarse en combinación con al menos un ARN de la composición que contiene ARN o de la composición aquí descrita

15 En este contexto, pueden emplearse como componente farmacéuticamente activo adicional citoquinas basadas en proteínas, quimiocinas, productos génicos suicidas, proteínas o péptidos inmunogénicos, inductores de la apoptosis, inhibidores de la angiogénesis, proteínas de choque térmico, antígenos tumorales, inhibidores de β -catenina, activadores de la vía STING, moduladores de puntos de control, activadores inmunes innatos, anticuerpos, receptores negativos dominantes y receptores señuelo, inhibidores de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC), inhibidores de la vía IDO y proteínas o péptidos que se unen a inhibidores de apoptosis, o fragmentos y variantes de los mismos como se describen anteriormente en el contexto de "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o fragmentos o variantes de los mismos pueden usarse como componente farmacéuticamente activo adicional.

20 1. Citoquinas:

En este contexto, se pueden usar citoquinas basadas en proteínas o fragmentos y variantes de las mismas como se describen anteriormente en el contexto del "ARN codificante" como componente farmacéuticamente activo adicional. Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o fragmentos o variantes de las mismas pueden usarse como componente farmacéuticamente activo adicional.

25 Preferiblemente la citoquina es una interleuquina (IL). Se pueden seleccionar una o más interleuquinas, por ejemplo de la siguiente lista: IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra (antagonista), IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10; IL-11, IL-12, IL-13, IL14, IL-15, IL16, IL-17A, IL-17B, EL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL28A/B, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-35. Además, la citoquina puede ser una o más citoquinas seleccionadas de la familia TNF, por ejemplo de la siguiente lista: TNF, especialmente TNF α , LT α , LT β , LIGHT, TWEAK, APRIL, BAFF, TL1A, GITRL, OX40L, CD40L (CD154), FASL, 30 CD27L, CD30L, 4-1BBL, TRAIL, ligando RANK. Otros ejemplos de citoquinas preferentes pueden seleccionarse de la siguiente lista: ligando FLT3, G-CSF, GM-CSF, IFN $\alpha/\beta/\omega$, IFN γ , LIF, M-CSF, MIF, OSM, Factor de células madre, TGF β 1, TGF β 2, TGF β 3, ligando TSLP.

35 Son particularmente preferentes las citoquinas seleccionadas de la siguiente lista: IL-12, IL-15, IL-2, IFN γ , TNF α , IL-18, IFN α , IL-1 β , IL-32, IL-7, IL-21, IL- 8, GM-CSF.

En este contexto, son particularmente preferentes las citoquinas mostradas en la Tabla 1 anterior.

40 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072, y se combina con al menos una citoquina como se ha definido anteriormente, preferiblemente IL-2, IL-12, CD40L o IL-15 o un fragmento o variante de la misma.

1. Quimioquinas

45 En este contexto, pueden usarse como componente farmacéuticamente activo adicional quimioquinas basadas en proteínas, o fragmentos y variantes de las mismas como se describe anteriormente en el contexto de "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o fragmentos o variantes de las mismas pueden usarse como componente farmacéuticamente activo adicional.

50 Quimioquinas preferentes pueden seleccionarse de la siguiente lista: CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9/10, CCL11, CCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, XCL1, XCL2, CX3CL1. En este contexto, son particularmente preferentes las quimioquinas descritas en la Tabla 2 anterior.

En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos una quimioquina como se ha definido anteriormente o un fragmento o variante de la misma.

2. Enzimas suicidas

- 5 En este contexto, se pueden usar como componente farmacéuticamente activo adicional enzimas suicidas basadas en proteínas, o fragmentos y variantes de las mismas como se describe anteriormente en el contexto de "codificación de ARN". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o fragmentos o variantes de las mismas pueden usarse como componente farmacéuticamente activo adicional.

10 La enzima suicida es preferiblemente una enzima metabolizadora de nucleótidos. Preferiblemente, la enzima suicida se usa en combinación con un profármaco que es un sustrato de la enzima suicida y que la enzima suicida convierte en un compuesto citotóxico. Se pueden seleccionar una o más enzimas suicidas preferentes de la siguiente lista: timidina-quinasa, preferiblemente una timidina-quinasa viral, más preferiblemente timidina-quinasa del virus del Herpes simplex, timidina-quinasa de Varicella zoster; timidina-quinasa vegetal, preferiblemente timidina-quinasa de tomate; citosina-desaminasa, preferiblemente citosina-desaminasa bacteriana o de levadura; desoxinucleósido-quinasa, preferiblemente de *Drosophila melanogaster*; desoxicitidina-quinasa, preferiblemente de mamífero, purina-nucleósido-fosforilasa, preferiblemente purina-nucleósido-fosforilasa bacteriana. En este contexto, son particularmente preferentes las enzimas suicidas (productos génicos suicidas) descritas en las Tablas 3 y 4 anteriores.

20 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos una enzima suicida como se ha definido anteriormente o un fragmento o variante de la misma.

3. Proteínas o péptidos inmunogénicos

25 En este contexto, como componente farmacéuticamente activo adicional se pueden usar proteínas o péptidos inmunogénicos basados en proteínas, o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto del "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales.

30 La proteína o péptido inmunogénico es preferiblemente un antígeno patógeno para utilizar una inmunidad preexistente contra dichos antígenos en el tratamiento de enfermedades tumorales y/o cancerosas. La respuesta inmune de la memoria se activa y el sistema inmunitario se fortalece para atacar a las células tumorales.

Ejemplos preferentes de proteínas o péptidos inmunogénicos para esta realización son proteínas o péptidos de patógenos generalizados, es decir, patógenos con los que cada organismo, en particular mamíferos, preferiblemente humanos, tiene una alta probabilidad de infectarse al menos una vez en su vida. Éstos incluyen, por ejemplo, cualquier proteína o péptido estructural o no estructural de:

- 35
- virus de la influenza tipo A o B o cualquier otro ortomixovirus (influenza tipo C),
 - picornavirus, como rinovirus o virus de la hepatitis A,
 - togavirus, como alfavirus o rubivirus, por ejemplo Sindbis, Semliki-Forest o rubeolavirus (virus del sarampión),

40

 - virus de la rubéola (virus del sarampión alemán),
 - coronavirus, en particular subtipos HCV-229E o HCV-OC43,
 - rabdovirus, como el virus de la rabia,
 - paramixovirus, como el virus de las paperas,
 - reovirus, como rotavirus del grupo A, B o C,

45

 - hepadnavirus, como el virus de la hepatitis B,
 - papovirus, como los virus del papiloma humano (VPH) de cualquier serotipo, especialmente de 1 a 75,
 - adenovirus, en particular los tipos 1 a 47,
 - virus del herpes, como el virus del herpes simple 1, 2 o 3,

50

 - citomegalovirus (CMV), preferiblemente CMVpp65,
 - Virus de Epstein Barr (VEB),
 - virus vaccinia y
 - bacteria *Chlamydomphila pneumoniae* (*Chlamydia pneumoniae*).

Otros ejemplos de proteínas o péptidos inmunogénicos preferentes son proteínas o péptidos de patógenos que

rara vez infectan un organismo. Estas proteínas o péptidos incluyen, por ejemplo, cualquier proteína o péptido estructural o no estructural de:

- 5 – Flavivirus, como el virus del dengue tipo 1 a 4, el virus de la fiebre amarilla, el virus del Nilo Occidental, el virus de la encefalitis japonesa
- virus de la hepatitis C
- calicivirus,
- filovirus, como el virus del Ébola,
- bornavirus
- 10 – bunyavirus, como el virus de la fiebre del Valle del Rift,
- arenavirus, como el LCMV (virus de la coriomeningitis linfocítica) o los virus de la fiebre hemorrágica,
- retrovirus, como el VIH y
- parvovirus

15 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente según las SEQ. ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos una proteína o péptido inmunogénico como se ha definido anteriormente, preferiblemente con nucleoproteína de influenza (NP) o un fragmento o variante de la misma.

4. Inductores de la apoptosis:

20 En este contexto, como componente farmacéuticamente activo adicional pueden usarse inductores de la apoptosis basados en proteínas, o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto de "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales.

25 Preferiblemente, un inductor de la apoptosis se selecciona del grupo consistente en la familia Bcl-2 y la proteína supresora de tumores p53 y ligandos de receptores de muerte transmembrana, especialmente la superfamilia de genes del receptor TNF (factor de necrosis tumoral), agonistas de receptores pro-apopticos y Beclin-1.

Un inductor de apoptosis particularmente preferente en el contexto de la presente descripción es Beclin-1 (derivado del gen BECN1).

30 Se pueden seleccionar otros ejemplos preferentes de inductores de la apoptosis de la siguiente lista: Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik, Blk, Citocromo c, Caspasas, especialmente Caspasa 3, Caspasa 6, Caspasa 7, Caspasa 8, Caspasa 9, dominio de muerte, especialmente de Fas, preferiblemente FasL, TNF α , Apo2L/TRAIL, agonista de DR4 y/o DR5, Apo3L, anticuerpo agonista DR4, anticuerpo agonista DR5, proteína quinasa R (PKR) (preferiblemente PKR activa constitutiva), granzima B.

En este contexto, son particularmente preferentes los inductores de la apoptosis descritos en las Tablas 5 y 6 anteriores.

35 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente según las SEQ. ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos un inductor de apoptosis como se ha definido anteriormente, o un fragmento o variante del mismo.

5. Inhibidores de la angiogénesis

40 En este contexto, como componente farmacéuticamente activo adicional pueden usarse inductores de angiogénesis basados en proteínas, o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto de "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales.

45 Ejemplos preferentes de inhibidores de la angiogénesis según la presente descripción se pueden seleccionar de la siguiente lista: interferón alfa (IFN- α), IFN- β (interferón beta), interferón gamma (IFN- γ), CXCL9, CXCL10, interleuquina 12 (IL-12), factor plaquetario 4 (PF-4), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), tirosina-quinasa 1 tipo fms soluble (sFLT-1), quinasa hepática fetal 1 (FLK-1), angiostatina, endostatina, vasostatina, Canstatina, tumstatina, fragmento de prolacina de 16 kD, inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 (TIMP-1), inhibidor tisular de metaloproteinasas 2 (TIMP-2), inhibidor tisular de metaloproteinasas 3 (TIMP-3), trombospondina 1 (TSP-1), trombospondina 2 (TSP-2), Maspina, PEX, receptor soluble de tirosina-proteína-quinasa 1 (sTie1), receptor de angiopoyetina-1 soluble 2 (sTie2), angiopoyetina-1, angiopoyetina-2, receptor 2 del factor de crecimiento endotelial antivascolar (VEGFR2) anticuerpos (por ejemplo Alacizumab, Ramucirumab), anticuerpo contra el

factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (por ejemplo Brolucizumab, Ranibizumab, Bevacizumab) y anticuerpo anti-receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 1 (VEGFR1) (por ejemplo Icrucumab).

En este contexto, son particularmente preferentes los inhibidores de la angiogénesis descritos en la Tabla 7 anterior.

- 5 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos un inhibidor de angiogénesis como se ha definido anteriormente, o un fragmento o variante del mismo.

6. Proteínas de choque térmico:

- 10 En este contexto, como componente farmacéuticamente activo adicional se pueden usar proteínas de choque térmico basadas en proteínas, o fragmentos y variantes de las mismas como se describe anteriormente en el contexto del "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales.

- 15 Preferiblemente, la proteína de choque térmico se puede seleccionar de la siguiente lista: HSP27, HSP47 (serpina H1), HSP60, HSP70, HSC70, GRP78 (BiP), HSP90, HSP110, GRP94 (gp96), GRP170 (ORP150), PDI/PDIA, CRT/CALR.

En este contexto, son particularmente preferentes las proteínas de choque térmico descritas en la Tabla 8 anterior.

- 20 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulante, preferentemente según las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos una proteína de choque térmico como se ha definido anteriormente, o un fragmento o variante de la misma.

7. Antígenos tumorales:

- 25 En este contexto, como componente farmacéuticamente activo adicional se pueden usar antígenos tumorales basados en proteínas, o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto del "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales.

En este contexto, son particularmente preferentes los antígenos tumorales descritos en la Tabla 9 anterior.

- 30 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos un antígeno tumoral como se ha definido anteriormente, o un fragmento o variante del mismo.

8. Inhibidores de β -catenina

- 35 En este contexto, como componente farmacéuticamente activo adicional pueden usarse inhibidores de β -catenina basados en proteínas, o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto de "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales.

Inhibidores de β -catenina preferentes particulares según la presente descripción comprenden derivados de TAT-NLS-BLBD-6, axin-1, TCF-4, GSK-3b, DKK-1, Dvl-1 o fragmentos de los mismos.

40 Inhibidores químicos de β -catenina

- 45 El al menos un ingrediente farmacéutico activo adicional que puede estar contenido en la composición aquí descrita y/o que puede administrarse conjuntamente o que puede combinarse con la composición puede ser un inhibidor químico de β -catenina. Los inhibidores químicos de β -catenina son conocidos en la técnica. Preferiblemente, el inhibidor químico de β -catenina se selecciona de la siguiente lista: PKF118-310, CGP049090, PKF115-584, PKF222-815, PKF118-744, ICG001, CCT036477, XAV939, acilhidrazonas (HQBA), moléculas con esqueletos 2,3,6-trisustituídos de núcleo pirido[2,3-b]pirazina, ácido carnósico, CCT031374, iCRT-3,5,14, NC043, ibuprofina, aspirina.

La siguiente tabla 13 resume ejemplos de inhibidores moleculares de la señalización de β -catenina pequeños que son particularmente preferentes en este contexto.

Tabla 13: inhibidores de β -catenina

Inhibidor	Diana	Referencia
PKF118-310, CGP049090, PKF115-584, PKF222-815 and PKF118-744	Interacción beta-catenina-TCF	Lepourcelet et al., 2004. Cancer Cell 5:91-102
ICG001	Interacción beta-catenina-TCF	Emami et al., 2004. Proc Natl Acad Sci USA 101: 12682-7
CCT036477	Interacción beta-catenina-TCF	Ewan et al., 2010. Cancer Res. 70:5963-73
XAV939	Tanquirasa	Huang et al., 2009. Nature 461:614-20
acilhidrazonas (HQBA)	Quelantes de hierro	Song et al., 2011. Cancer Res. 71:7628-39; Coombs et al., 2012. Oncogene 31:213-25
moléculas con esqueletos núcleo pirido[2,3]pirazina 2,3,6-trisustituídos	beta-catenina	Gong et al., 2011. Bioorg Med Chem. 19:5639-47
Ácido carnósico	beta-catenina/BCL9	de la Roche et al., Nat Commun. 3:680
CCT031374	beta-catenina	Thorne et al., 2010. Nat Chem Biol. 6:829-36
iCRT-3,5,14, NC043	Interacción beta-catenina-TCF	Wang et al., 2011. Cell Res. 21:730-40; Gonsalves et al., 2011. Proc Natl Acad Sci USA 108:5954-63
Ibuprofina, aspirina	Inhibidores Cox2	Greenspan et al., 2011. Cancer Prev Res. 4:161-71

- 5 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos un inhibidor de β -catenina como se ha definido anteriormente, o un fragmento o variante del mismo.

9. Activadores de la vía STING

- 10 En este contexto, se pueden usar como componente farmacéuticamente activo adicional activadores basados en proteínas de la ruta STING, o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto del "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales. Preferiblemente, el al menos un activador (estimulador) de la ruta STING se elige entre una proteína activadora o una proteína constitutivamente activa de la ruta STING, preferiblemente DDX41, STING, cGAS, IRF3, TBK1 o STAT6 o un fragmento o variante de la misma.
- 15

Activadores químicos de la vía STING

En una realización preferida adicional, el componente farmacéuticamente activo adicional opcional puede seleccionarse de activadores químicos de la ruta STING que se seleccionan preferiblemente de dinucleótidos cíclicos y análogos de xantenona.

- 20 La Tabla 14 muestra ejemplos de agonistas químicos STING. Otros ejemplos de agonistas de STING se describen en el documento WO2014189805.

Tabla 14: Activadores de la vía STING

Tipo de activador STING	
Dinucleótidos cíclicos	3'3'-cGAMP, 2'3'-cGAMP, 2'2'-cGAMP, c-di-APM, c-di-GMP, c-di-IMP, c-di-UMP
Análogos de xantenona	DMXAA, ácido 5,6-dimetilxantenona-4-acético

- 25 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulante, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos un activador de la ruta STING como se ha definido anteriormente, o un fragmento o variante del mismo.

10. Moduladores de punto de control

En este contexto, pueden usarse como componente farmacéuticamente activo adicional moduladores de puntos de control basados en proteínas, o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto del "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales.

En realizaciones preferidas, el modulador de punto de control es un modulador de B71/CD80, B7-2/CD86, B7-H1/PD-L1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, B7-H7/HHLA2, BTLA, CD28, CD28H/IGPR-1, CTLA-4, ICOS, PD-1, PD-L2/B7-DC, PDCD6, VISTA/B7-H5/PD-1H, BTN1A1/Butirofilina, BTN2A1, BTN2A2/Butirofilina 2A2, BTN3A1/2, BTN3A2, BTN3A3, BTNL2/2 similar a Butirofilina, BTNL3, BTNL4, BTNL6, BTNL8, BTNL9, BTNL10, CD277/BTN3A1, LAIR1, LAIR2, CD96, CD155/PVR, CRTAM, DNAM-1/CD226, Nectina-2/CD112, Nectina-3, TIGIT, LILRA3/CD85e, LILRA4/CD85g/ILT7, LILRB1/CD85j/ILT2, LILRB2/CD85d/ILT4, LILRB3/CD85a/ILT5, LILRB4/CD85k/ILT3, 41BB/TNFRSF9/CD137, Ligando 4-1BB/TNFSF9, BAFF/BLyS/TNFSF13B, BAFF R/TNFRSF13C, CD27/TNFRSF7, Ligando CD27/TNFSF7, CD30/TNFRSF8, Ligando CD30/TNFSF8, CD40/TNFRSF5, Ligando CD40/TNFSF5, DR3/TNFRSF25, GITR/TNFRSF18, Ligando GITR/TNFSF18, HVEM/TNFRSF14, LIGHT/TNFSF14, Linfotoxina alfa/TNF-beta, OX40/TNFRSF4, Ligando OX40/TNFSF4, RELT/TNFRSF19L, TACI/TNFRSF13B, TL1A/TNFSF15, TNF-alfa, TNF RII/TNFRSF1B, 2B4/CD244/SLAMF4, BLAME/SLAMF8, CD2, CD2F 10/SLAMF9, CD48/SLAMF2, CD58/LFA-3, CD84/SLAMF5, CD229/SLAMF3, CRACC/SLAMF7, NTB-A/SLAMF6, SLAM/CD150, TIM1/KIM-1/HAVCR, TIM-3, TIM-4, CD7, CD96, CD160, CD200, CD300a/LMIR1, CRTAM, DAP12, Dectina-1/CLEC7A, DPPIV/CD26, EphB6, Integrina alfa 4 beta 1, Integrina alfa 4 beta 7/LPAM1, LAG-3, TIM-1/KIM-1/HAVCR, TIM-4, TSLP R, o cualquier combinación de los mismos.

Preferiblemente, el modulador de punto de control se selecciona de anticuerpos agonistas, anticuerpos antagonistas, ligandos, receptores negativos dominantes y receptores señuelo o combinaciones de los mismos.

Preferiblemente, el anticuerpo agonista se selecciona de la siguiente lista: anti-4-1BB, anti-OX40, anti-GITR, anti-CD28, anti-CD27, anti-CD-40, anti-ICOS, anti-TNFRSF25 y anti-LIGHT.

Preferiblemente, el anticuerpo antagonista se selecciona de la lista de anti-CTLA4, anti-PD1, anti-PD-L1, anti-Vista, anti-Tim-3, anti-LAG-3 y anti-BTLA.

Son particularmente preferidos los anticuerpos anti-CTLA-4 ipilimumab (Yervoy®), tremelimumab y AGEN-1884.

Son particularmente preferidos los anticuerpos anti-PD1 Nivolumab (MDX-1106/BMS-936558/ONO-4538), (Brahmer et al., 2010. J Clin Oncol. 28(19):3167-75; PMID: 20516446); Pidilizumab (CT-011) (Berger et al., 2008. Clin Cancer Res. 14(10):3044-51; PMID: 18483370); Pembrolizumab (MK-3475, SCH 900475); AMP-224, y MEDI0680 (AMP514).

Son particularmente preferidos los anticuerpos anti-PD-L1 MDX-1105/BMS-936559 (Brahmer et al. 2012. N Engl J Med. 366(26):2455-65; PMID: 22658128); atezolizumab (MPDL3280A/RG7446); durvalumab (MEDI4736); y avelumab (MSB0010718).

De acuerdo con la presente descripción, los moduladores de punto de control de acuerdo con la Tabla 15 son particularmente preferentes.

Tabla 15: Anticuerpos dirigidos contra proteínas de punto de control inmunitario

Nombre	Diana
Urelumab	4-1BB/CD137
PF-05082566	4-1BB/CD137
8H9	B7-H3
Enoblituzumab	B7-H3
Ipilimumab	CD152/CTLA-4
Ticilimumab (= tremelimumab)	CD152/CTLA-4
Tremelimumab	CD152/CTLA-4
Varlilumab	CD27
Teneliximab	CD40
Vorsetuzumab mafodotin	CD70
Lirilumab	KIR2D
GSK-3174998	OX40
MEDI-6469	OX40

MEDI-6383	OX40
MEDI-0562	OX40
PF-04518600	OX40
RG-7888	OX40
PF-06801591	PD-1
BGBA-317	PD-1
MEDI-0680	PD-1
MK-3475	PD-1
Nivolumab	PD-1
PDR-001	PD-1
Pembrolizumab	PD-1
Pidilizumab	PD-1
REGN-2810	PD-1
SHR-1210	PD-1
TSR-042	PD-1
MDX-1106	PD-1
Merck 3745	PD-1
CT-011	PD-1
MEDI-0680	PD-1
PDR001	PD-1
REGN2810	PD-1
BGB-108	PD-1
BGB-A317	PD-1
AMP-224	PD-1
Atezolizumab	PD-L1 (CD274)
Avelumab	PD-L1 (CD274)
BMS-936559	PD-L1 (CD274)
Durvalumab	PD-L1 (CD274)
MEDI-4736	PD-L1 (CD274)
MPDL33280A	PD-L1 (CD274)
YW243.55.S70	PD-L1 (CD274)
MDX-1105	PD-L1 (CD274)
MSB0010718C	PD-L1 (CD274)

5 En una realización preferida adicional, el modulador del punto de control es un receptor señuelo (por ejemplo, un receptor soluble). Preferiblemente, el receptor señuelo es un receptor PD1 soluble. En una realización particularmente preferida, la secuencia de ARN que codifica un receptor PD1 soluble comprende una secuencia de ARN de acuerdo con la SEQ ID NO: 389

En una realización preferida adicional, el modulador de punto de control es un ligando de una proteína de punto de control inmune. Preferiblemente, el ligando es el ligando CD40 (CD40L).

10 En una realización particularmente preferida, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos un modulador de punto de control como se definió anteriormente, preferiblemente seleccionado de un anticuerpo anti-CTLA4, un anticuerpo anti-PD1, un anticuerpo anti-PD-L1, un ligando CD40 o un receptor PD1 soluble, o un fragmento o variante del mismo.

11. Activadores inmunes innatos

15 En este contexto, como componente farmacéuticamente activo adicional se pueden usar activadores inmunes innatos basados en proteínas o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto del "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales.

20 En este contexto, los activadores inmunes innatos pueden seleccionarse de mamíferos, en particular proteínas adyuvantes humanas, que típicamente comprenden cualquier proteína o péptido humano capaz de provocar una respuesta inmune innata (en un mamífero), por ejemplo como reacción de la unión de un ligando TLR exógeno a un TLR. Más preferiblemente, las proteínas adyuvantes humanas se seleccionan del grupo consistente en proteínas que son componentes y ligandos de las redes de señalización de los receptores de reconocimiento de patrones incluyendo TLR, NLR y RLH, que incluyen TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, 25 TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11; NOD1, NOD2, NOD3, NOD4, NOD5, NALP1, NALP2, NALP3, NALP4,

5 NALP5, NALP6, NALP6, NALP7, NALP7, NALP8, NALP9, NALP10, NALP11, NALP12, NALP13, NALP14, I
 IPAF, NAIP, CIITA, RIG-I, MDA5 y LGP2, transductores de señal de la señalización TLR que incluyen proteínas
 adaptadoras que incluyen, por ejemplo, Trif y Cardif; componentes de la señalización de GTPasas pequeñas
 (RhoA, Ras, Rac1, Cdc42, Rab, etc.), componentes de la señalización PIP (PI3K, Src-quinasas, etc.),
 10 componentes de la señalización dependiente de MyD88 (MyD88, IRAK1, IRAK2, IRAK4, TIRAP, TRAF6, etc.),
 componentes de la señalización independiente de MyD88 (TICAM1, TICAM2, TRAF6, TBK1, IRF3, TAK1,
 IRAK1, etc.); quinasas activadas, incluyendo, por ejemplo, Akt, MEKK1, MKK1, MKK3, MKK4, MKK6, MKK7,
 ERK1, ERK2, GSK3, PKC quinasas, PKD quinasas, GSK3 quinasas, JNK, p38MAPK, TAK1, IKK, y TAK1;
 factores de transcripción activados incluyendo, por ejemplo, NF- κ B, c-Fos, c-Jun, c-Myc, CREB, AP-1, Elk-1,
 10 ATF2, IRF-3, IRF-7.

15 Las proteínas adyuvantes de mamíferos, en particular humanas, pueden seleccionarse además del grupo
 consistente en proteínas de choque térmico, tales como HSP10, HSP60, HSP65, HSP70, HSP75 y HSP90,
 gp96, fibrinógeno, dominio A extra de repetición TypIII de fibronectina; o componentes del sistema del
 complemento, incluyendo C1q, MBL, C1r, C1s, C2b, Bb, D, ASP-1, MASP-2, C4b, C3b, C5a, C3a, C4a, C5b,
 C6, C7, C8, C9, CR1, CR2, CR3, CR4, C1qR, C1INH, C4bp, MCP, DAF, H, I, P y CD59, o genes diana
 inducidos que incluyen, por ejemplo, beta-defensina, proteínas de superficie celular; o proteínas adyuvantes
 humanas que incluyen trif, ligando flt-3, Gp96 o fibronectina, etc., o cualquier homólogo de especies de
 cualquiera de las proteínas adyuvantes humanas anteriores. Además, puede usarse HGMB1 como proteína
 adyuvante.

20 Las proteínas adyuvantes de mamíferos, en particular humanas, pueden comprender además citoquinas que
 inducen o potencian una respuesta inmune innata, incluyendo IL-1 alfa, IL1 beta, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL -
 12, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-21, IL-23, TNFalfa, IFNalfa, IFNbeta, IFNgamma, GM- CSF, G-CSF, M-
 CSF; quimioquinas que incluyen IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1alfa, RANTES, Eotaxin, CCL21; citoquinas que se
 liberan de los macrófagos, incluyendo IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 y TNF-alfa; así como IL-1R1 e IL-1-alfa.

25 Así, en este contexto, es particularmente preferente que el al menos un activador inmunitario innato sea
 preferiblemente una proteína adyuvante, más preferiblemente una proteína adyuvante humana, o un fragmento
 o variante de la misma.

En este contexto, es particularmente preferente que la variante activa constitutiva de una proteína adyuvante
 se use como activador inmune innato, preferiblemente una variante activa constitutiva de RIG-1 (Δ RIGI).

30 En otra realización preferida, el al menos un activador inmune innato es HGMB1, o un fragmento o variante del
 mismo.

En este contexto, son particularmente preferentes los activadores inmunes innatos descritos en la Tabla 11
 anterior.

35 En una realización particularmente preferida, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un
 ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al
 menos un activador inmune innato como se ha definido anteriormente, o un fragmento o variante del mismo.

12. Anticuerpos, receptores señuelo y receptores negativos dominantes.

40 En este contexto, se pueden usar como componente farmacéuticamente activo adicional anticuerpos basados
 en proteínas, receptores señuelo o receptores negativos dominantes o fragmentos y variantes de los mismos
 como se describe anteriormente en el contexto del "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos
 que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como
 componentes farmacéuticamente activos adicionales.

De acuerdo con la presente descripción, los anticuerpos de la Tabla 16 son particularmente preferentes

Tabla 16: Anticuerpos dirigidos contra proteínas asociadas al desarrollo de tumores o cáncer

Nombre	Diana
3F8	GD2
Abagovomab	CA-125 imitación
Abciximab	Glicoproteína plaquetaria GPIIb/IIIa
Adecatumumab	EpCAM (CD326)
Afutuzumab	CD20
Alacizumab pegol	VEGFR2
Alemtuzumab	CD52
Altumomab pentetate	CEA
Amatuximab	mesotelina

ES 2 753 259 T3

Anatumomab mafenatox	5T4
Anetumab ravtansine	mesotelina
Apolizumab	HLA-DR beta
apomab	TRAIL-R2 (CD262)
Arcitumomab	CEA
Ascrinvacumab	ACVRL1
Bavituximab	fosfatidilserina
Bectumomab	CD22
Belimumab	BAFF
Besilesomab	CEA
Bevacizumab	VEGF-A
Bivatuzumab mertansine	CD44v6
Blinatumomab	CD19 x CD3
Brentuximab vedotin	CD30 (TNFRSF8)
Brontictuzumab	NOTCH1
canakinumab	IL-1 β
Cantuzumab mertansine	CanAg
Cantuzumab ravtansine	MUC1 (CD227)
Capromab pendetide	PSMA
Carlumab	MCP-1
Catumaxomab	EpCAM x CD3
cBR-doxorubicin immunoconjugate	CD174 (Lewis Y)
Cetuximab	EGFR (HER1/ERBB1)
Citatumumab bogatox	EpCAM
Cixutumumab	IGF-1R
Clivatuzumab tetraxetan	MUC1 (CD227)
Codrituzumab	glipican 3
Coltuximab ravtansine	CD19
Conatumumab	TRAIL-R2 (CD262)
Dacetuzumab	CD40
Dalotuzumab	IGF-1R
Dalotuzumab	Receptor de tipo insulina factor de crecimiento I
Daratumumab	CD38 (ADP ribosa-hidrolasa cíclica)
Demcizumab	DLL4
Denintuzumab mafodotin	CD19
Denosumab	RANKL
Depatuxizumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Derlotuximab	Complejo histona
Detumomab	desconocido (células linfoma B)
Dinutuximab	B4GALNT1
Drozitumab	TRAIL-R2 (CD262)
Duligotumab	HER3 (ERBB3)
Duligotuzumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Dusigitumab	ILGF2
Ecromeximab	GD3 gangliósido
Edrecolomab	EpCAM
Elgemtumab	ERBB3
Elotuzumab	SLAMF7 (CD319)
Elsilimomab	IL-6
Emactuzumab	CSF1R
Emibetuzumab	HGFR
Emibetuzumab	MET
Enavatuzumab	TNFRSF12A
Enfortumab vedotin	AGS-22M6
Enoticumab	DLL4
Ensituximab	MUC5AC
Epitumomab cituxetan	MUC1 (CD227)
Epratuzumab	CD22
Ertumaxomab	HER2 (ERBB2/neu) x CD3
Etaracizumab	integrina $\alpha 5\beta 3$
Faralimomab	IFNA1

ES 2 753 259 T3

Farletuzumab	FOLR1 alfa
FBTA	CD20 x CD3
Ficlatuzumab	HGFR
Figitumumab	IGF-1R
Flanvotumab	TYRP1(glicoproteína 75)
Fresolimumab	TGF-β
Futuximab	EGFR (HER1/ERBB1)
Galiximab	CD80
Gantumab	IGF-1R
Gemtuzumab ozogamicin	CD33
Girentuximab	Anhidrasa carbónica 9 (CA9/CAIX)
Glembatumumab vedotin	GPNMB
glycooptimized trastuzumab-GEX	HER2 (ERBB2/neu)
Ibritumomab tiuxetan	CD20
Icrucumab	VEGFR-1
Igovomab	MUC16
IMAB362	Claudin-18 (CLDN18.2)
Imgatuzumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Indatuximab ravtansine	SDC1
Indusatumab vedotin	GUCY2C
inebilizumab	CD19
Inotuzumab ozogamicin	CD22
Intetumumab	CD51
Iratumumab	CD30 (TNFRSF8)
Isatuximab	CD38
Labetuzumab	CEA
Lenzilumab	CSF2
Lexatumumab	TRAIL-R2 (CD262)
Lifastuzumab vedotin	NaPi2B
Lilotomab satetraxetan	CD37
Lintuzumab	CD33
Lorvotuzumab mertansine	CD56
Lucatumumab	CD40
Lumiliximab	CD23 (IgE receptor)
Lumretuzumab	ERBB3
Mapatumumab	TRAIL-R1 (CD261)
Margetuximab	HER2 (ERBB2/neu)
Matuzumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Mepolizumab	IL-5
Milatuzumab	CD74
Minretumomab	TAG-72
Mirvetuximab soravtansine	FOLR1 alfa
Mitumomab	GD3 (gangliósido)
Mogamulizumab	CCR4
Moxetumomab pasudotox	CD22
Nacolomab tafenatox	C242 antígeno
Naptumomab estafenatox	5T4
Narnatumab	RON
Necitumumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Nesvacumab	ANGPT2 (angiopoyetina 2)
Nimotuzumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Nofetumomab merpentan	EpCAM
binutuzumab	CD20
Ocaratuzumab	CD20
Ofatumumab	CD20
Olaratumab	PDGFRα
Onartuzumab	MET
Ontuxizumab	CD248 (TEM1)
Oportuzumab monatox	EpCAM
Oregovomab	CA-125
Otlertuzumab	CD37
Panitumumab	EGFR (HER1/ERBB1)

ES 2 753 259 T3

Pankomab	MUC1 (glicosilación específica de tumor)
Parsatuzumab	EGFL7
Pasotuxizumab	FOLH1
Patritumab	HER3 (ERBB3)
Pemtumomab	MUC1 (CD227)
Pertuzumab	HER2 (ERBB2/neu)
Pinatuzumab vedotin	CD22
Pintumomab	Antígeno adenocarcinoma
Polatuzumab vedotin	CD79B
Racotumomab	NGcGM3
Radretumab	EDB (extra dominio-B de fibronectina)
Ramucirumab	VEGFR2
Rilotumumab	HGFR
Rituximab	CD20
Robatumumab	IGF-1R
Sacituzumab govitecan	Trop-2 (señal de transductor de calcio asociada a tumor 2/EGP-1)
Samalizumab	CD200 (OX-2 glicoproteína de membrana)
Satumomab pendetide	TAG-72
Seribantumab	ERBB3
Seribantumab	HER3 (ERBB3)
SGN-CDA	CD19
SGN-CDA	CD33
Sibrotuzumab	FAP
Siltuximab	IL-6
Simtuzumab	LOXL2
Sofituzumab vedotin	CA 125
Solitumab	EpCAM
Sonepcizumab	S1P (esfingosina-1-fosfato)
Tacatuzumab tetraxetan	AFP (alfa-fetoproteína)
Taplitumomab paptox	CD19
Tarextumab	Receptor Notch
Tenatumomab	TN-C (tenascina C)
Teprotumumab	CD221
Tetulomab	CD37
TGN	CD28
Tigatuzumab	TRAIL-R2 (CD262)
Lebrikizumab	IL-13
Tocilizumab	IL-6R
Tositumomab	CD20
Tovetumab	CD140a
Tovetumab	PDGFR α
Trastuzumab	HER2 (ERBB2/neu)
Trastuzumab emtansine	HER2 (ERBB2/neu)
TRBS	GD2
Tucotuzumab celmoleukin	EpCAM
Ublituximab	CD20
Ublituximab	MS4A1
Ulocuplumab	CXCR4
Vandortuzumab vedotin	STEAP1
Vantictumab	FZD7
Vanucizumab	Ang-2 (angiopoyetina 2) x VEGF-A
Veltuzumab	CD20
Vesencumab	NRP1
Volociximab	integrina $\alpha 5\beta 1$
Votumumab	CTAA16.88
Zalutumumab	EGFR (HER1/ERBB1)
Zanolimumab	CD4
Zatuximab	HER1 (EGFR/ERBB1)

Preferiblemente, el anticuerpo neutralizante se selecciona de la lista de anti-IL-10 y anti-TGFbeta.

- 5 En una realización particularmente preferida, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos un anticuerpo, preferiblemente un anticuerpo anti-CD73 o al menos un receptor señuelo como se ha definido anteriormente, o un fragmento o variante del mismo.

Además, el al menos un anticuerpo puede seleccionarse preferiblemente de entre anticuerpos anti-CD73 o fragmentos o variantes de los mismos.

En otra realización particularmente preferida, al menos un anticuerpo se elige de un anticuerpo dirigido contra CCR5/CD195 o de un anticuerpo dirigido contra su ligando CCL5/RANTES o fragmentos o variantes del mismo.

- 10 En una realización particularmente preferida, el receptor señuelo es un CCR5 soluble (receptor de quimioquina tipo 5, también conocido como CD195).

En una realización particularmente preferida, el receptor negativo dominante es CCR5 negativo dominante (receptor de quimioquina tipo 5, también conocido como CD195).

13. Inhibidores de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC)

- 15 En este contexto, pueden usarse como componente farmacéuticamente activo adicional inhibidores basados en proteínas de células supresoras derivadas de mieloides (MDSC), o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto de "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales.

- 20 Es particularmente preferente el uso de anticuerpos anti IL-17 e IL-12 como inhibidores de MDSC.

En el contexto de la presente descripción, la inhibición de MDSC se puede lograr mediante la desactivación directa de MDSC (por ejemplo inhibidores químicos de NO (inhibidores de PDE-5, NO-aspirinas, L-NAME), inhibidores de arginasa (inhibidores de PDE-5, inhibidores de COX2, NOHA, L-NAME), inhibidores de ROS (triterpenoides sintéticos), bloqueando la diferenciación de MDSC en células maduras (por ejemplo ATRA, vitamina A, vitamina D3, CpG), bloqueando el desarrollo celular de MDSC (por ejemplo bifosforatos (ácido zolodrónico), moduladores de la señalización celular (inhibidores de JAK2/STAT3, inhibidores multi-quinasa, inhibidores de VEGF) o por agotamiento de MDSC (por ejemplo agentes citotóxicos (gemcitabina, cisplatino, paclitaxel, 5-fluorouracilo) o inhibidores de HSP 90 (17-DMAG)). Por tanto, estos compuestos también pueden usarse como compuestos farmacéuticamente activos adicionales.

- 30 En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos un inhibidor de MDSC como se ya definido anteriormente, o un fragmento o variante del mismo.

14. Inhibidores de la vía IDO

- 35 En este contexto, se pueden usar como componente farmacéuticamente activo adicional inhibidores de la ruta IDO basados en proteínas, o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto del "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos

adicionales.

Inhibidor químico de la vía IDO:

- 40 En una realización preferente adicional, el componente farmacéuticamente activo adicional se puede seleccionar de un inhibidor de la ruta IDO, preferiblemente seleccionado de un inhibidor de molécula pequeña. Preferiblemente, el inhibidor de la ruta IDO se elige de la siguiente lista: Indoximod (isómero D de 1-metiltriptófano) y NLG919.

- 45 En una realización particularmente preferida, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos un inhibidor de la ruta IDO como se definió anteriormente, o un fragmento o variante del mismo.

15. Proteínas o péptidos que se unen a inhibidores de la apoptosis

La apoptosis es un proceso celular estrictamente regulado y la regulación defectuosa de la apoptosis es un sello distintivo del cáncer humano. Se ha perseguido el objetivo de reguladores clave de la apoptosis con el fin de restaurar la apoptosis en células tumorales como una nueva estrategia terapéutica contra el cáncer. XIAP, cIAP1 y cIAP2, miembros de las proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAP), son reguladores críticos de la muerte y supervivencia celular y son dianas atractivas para la nueva terapia contra el cáncer. La proteína SMAC/DIABLO es un antagonista endógeno de XIAP, cIAP1 y cIAP2. En la última década, los intensos esfuerzos de investigación han dado ahora como resultado el diseño y desarrollo de diversos miméticos SMAC de moléculas pequeñas en ensayos clínicos para el tratamiento del cáncer.

En una realización preferente adicional, la composición aquí descrita comprende al menos un ARN que comprende al menos una región codificante que codifica para al menos un péptido o proteína que se une a inhibidores de proteínas apoptóticas (IAP) y, por tanto, sensibiliza las células cancerosas para la muerte apoptótica.

Así, es particularmente preferente que el al menos un ARN de la composición que contiene ARN aquí descrita codifique al menos una proteína o péptido que se une a inhibidores de la apoptosis, tales como los miméticos SMAC.

Particularmente preferidas las proteínas o péptidos que se unen las IAP como se describen aquí comprendiendo Omi/HtrA2, Smac, péptidos derivados de Smac, Smac/DIABLO y XAF1 (factor 1 asociado a XIAP) y fragmentos o variantes de los mismos.

En este contexto, pueden usarse como un componente farmacéuticamente activo adicional proteínas o péptidos que se unen a inhibidores de la apoptosis, o fragmentos y variantes de los mismos como se describe anteriormente en el contexto del "ARN codificante". Alternativamente, los ácidos nucleicos que codifican estas proteínas o péptidos o fragmentos o variantes de las mismas se pueden usar como componentes farmacéuticamente activos adicionales. Por tanto, es particularmente preferente que el componente farmacéuticamente activo adicional se seleccione de proteínas o péptidos que se unen a inhibidores de la apoptosis, tales como los miméticos SMAC. Además, se prefiere particularmente que dichos miméticos de SMAC usados como componente farmacéuticamente activo adicional sean moléculas pequeñas que inhiben los inhibidores de la apoptosis.

En una realización particularmente preferente, el al menos un ARN de la composición que contiene ARN es un ARN inmunoestimulador, preferiblemente de acuerdo con las SEQ ID NO. 5, 394 o 10072 y se combina con al menos una proteína o péptido que se une a inhibidores de la apoptosis como se definió anteriormente, o un fragmento o variante de los mismos.

16. Agente antibacteriano:

Según la presente descripción, el al menos un componente farmacéuticamente activo adicional que puede estar contenido en la composición aquí descrita y/o que puede administrarse conjuntamente puede ser un agente antibacteriano. En este contexto, cualquier agente antibacteriano conocido por el experto en la técnica puede usarse en combinación con los componentes de la composición como se define aquí. Ejemplos no limitativos de agentes antibacterianos incluyen Amicacina, Amoxicilina, Amoxicilina-ácido clavulánico, Anfotericina-B, Ampicilina, Ampicilina-sulbactam, Apramicina, Azitromicina, Aztreonam, Bacitracina, Bencilpenicilina, Caspofungina, Cefaclor, Cefadroxilo, Cefalexina, Cefalotina, Cefazolina, Cefdinir, Cefepima, Cefixima, Cefmenoxima, Cefoperazona, Cefoperazona-sulbactam, Cefotaxima, Cefoxitina, Cefbiroma, Cefpodoxima, Cefpodoxima-ácido clavulánico, Cefpodoxima-sulbactam, Cefbrozil, Cefquinoma, Ceftazidima, Ceftibutina, Ceftiofur, Ceftobiprol, Ceftriaxon, Cefuroxima, Cloranfenicol, Florfenicol, Ciprofloxacina, Claritromicina, Clinafloxacina, Clindamicina, Cloxacilina, Colistina, Cotrimoxazol (Trimtoprima/sulfametoxazol), Dalbavancina, Dalfopristina/Quinopristina, Daptomicina, Dibecacina, Dicloxacilina, Doripenem, Doxiciclina, Enrofloxacin, Ertapenem, Eritromicina, Flucloxacilina, Fluconazol, Flucitosina, Fosfomicina, ácido fusídico, Garenoxacina, Gatifloxacina, Gemifloxacina, Gentamicina, Imipenem, Itraconazol, Kanamicina, Ketoconazol, Levofloxacina, Lincomicina, Linezolid, Loracarbef, Mecillnam (amdinocilina), Meropenem, Metronidazol, Meziocilina, Mezlocilina-sulbactam, Minociclina, Moxifloxacina, Mupirocina, Ácido Nalidixico, Neomicina, Netilmicina, Nitrofurantoina, Norfloxacina, Ofloxacina, Oxacilina, Pefloxacina, Penicilina V, Piperacilina, Piperacilina sulbactam, Piperacilina-tazobactam, Rifampicina, Roxitromicina, Esparfloxacina, Espectinomocina, Espiramicina, Estreptomocina, Sulbactam, Sulfametoxazol, Teicoplanino, Telavancina, Telitromicina, Temocilina, Tetraciclina, Ticarcilina, Ticarcilina-ácido clavulánico, Tigeciclina, Tobramicina, Trimetoprima, Trovafloxacina, Tilosina, Vancomicina, Virginiamicina, y Voriconazol.

17. Agentes antivirales

El al menos un componente/compuesto farmacéuticamente activo adicional que puede estar contenido en la composición aquí descrita y/o que puede administrarse conjuntamente, puede ser un agente antivírico,

- preferiblemente, sin limitación, análogos de nucleósidos (por ejemplo zidovudina, aciclovir, gangciclovir, vidarabina, idoxuridina, trifluridina y ribavirina), foscarnet, amantadina, peramivir, rimantadina, saquinavir, indinavir, ritonavir, alfa-interferones y otros interferones, AZT, t-705, zanamivir (Relenza*) y oseltamivir (Tamiflu*). Otros agentes antivirales incluyen vacunas contra el virus de la influenza, por ejemplo Fluarix* (Glaxo SmithKline), FluMist* (MedImmune Vaccines), Fluvirin* (Chiron Corporation), Flulaval* (GlaxoSmithKline), Afluria* (CSL Biotherapies Inc.), Agriflu* (Novartis) o Fluzone* (Aventis Pasteur).

18. Fármacos

- En algunas realizaciones, el componente/compuesto farmacéuticamente activo adicional puede incluir al menos un fármaco. El término "fármaco" pretende incluir cualquier sustancia que, cuando se introduce o absorbe en el cuerpo de un organismo vivo, altera la función normal del cuerpo o la célula. Ejemplos no limitativos de fármacos adecuados, que incluyen combinaciones y formas alternativas de los fármacos, como formas de sal alternativas, en forma de ácido libre, de base libre, profármacos e hidratos, incluyen:
- 10 analgésicos/antipiréticos (por ejemplo, aspirina, acetaminofen, ibuprofeno, naproxeno sódico, buprenorfina, clorhidrato de propoxifeno, napsilato de propoxifeno, clorhidrato de meperidina, clorhidrato de hidromorfona, morfina, oxycodona, codeína, bitartrato de dihidrocodeína, pentazocina, bitartrato de hidrocodona, levorfanol, diflunisal, salcilito de trolamina, clorhidrato de nalbufina, ácido mefenámico, butorfanol, salcilito de colina, butalbital, citrato de feniltoloxamina, citrato de difenhidramina, metotrimoprazina, clorhidrato de cinnamedrina, y meprobamato); antiasmáticos (por ejemplo cetotifeno y traxanox); antibióticos (por ejemplo neomicina, estreptomina, cloranfenicol, cefalosporina, ampicilina, penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina); antidepresivos
- 15 (por ejemplo nefopam, oxipertina, doxepina, amoxapina, trazodona, amitriptilina, maprotilina, fenelzina, desipramina, nortriptilina, tranilcipromina, fluoxetina, imipramina, pamoato de imipramina, isocarboxazida, trimipramina y protriptilina); antidiabéticos (por ejemplo biguanidas y derivados de sulfonilurea); agentes antifúngicos (por ejemplo griseofulvina, cetoconazol, itraconazol, anfotericina B, nistatina, y candidina); agentes antihipertensivos (por ejemplo propanolol, propafenona, oxiprenolol, nifedipina, reserpina, trimetafano, fenoxibenzamina, clorhidrato de pargilina, deserpidina, diazoxida, monosulfato de guanetidina, minoxidil, rescinnamina, nitroprusido de sodio, serpentina rauwolfia, alseroxilon, y fentolamina); anti-inflamatorios (por ejemplo (no esteroideos) indometacina, cetoprofeno, flurbiprofeno, naproxeno, ibuprofeno, ramifenazona, piroxicam, cortisona (esteroideos), dexametasona, fluzacort, deflazacort, celecoxib, rofecoxib, hidrocortisona, prednisolona, y prednisona); antineoplásicos (por ejemplo ciclofosfamida, actinomicina, bleomicina, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, mitomicina, metotrexato, fluorouracilo, gemcitabina, carboplatino, carmustina (BCNU), metil-CCNU, cisplatino, etopósido, camptotecina y derivados de los mismos, fenesterina, paclitaxel y derivados de los mismos, docetaxel y derivados de los mismos, vinblastina, vincristina, goserelina, leuprolida, tamoxifeno, interferón alfa, ácido retinoico (ATRA), agentes de alquilación de mostaza de nitrógeno y piposulfan); agentes anti-ansiedad (por ejemplo, lorazepam, buspirona, prazepam, clordiazepóxido, oxazepam, dipotasio de clorazepato, diazepam, pamoato de hidroxizina, clorhidrato de hidroxizina, alprazolam, droperidol, halazepam, clormezona, y dantrolena); agentes inmunosupresores (por ejemplo ciclosporina, azatioprina, mizoribina, y FK506 (tacrolimo)); agentes anti-migraña (por ejemplo ergotamina, propanolol, mucato de isometepteno, y dicloralfenazona); sesantes/hipnóticos (por ejemplo barbituratos tales como pentobarbital, pentobarbital, y secobarbital; y benzodiazapinas tales como clorhidrato de flurazepam, triazolam, y midazolam); gents antiangina (por ejemplo bloqueadores adrenérgicos beta; bloqueares de canal de calcio tales como nifedipina, y diltiazem; y nitratos tales como nitroglicerina, dinitrato de isosorbida, tetranitrato de pentearitrol, y tetranitrato de eritritilo); agentes antipsicóticos (por ejemplo haloperidol, succinato de loxapina, eritritilo de loxapina, tioridazina, eritritilo tioridazina, tiotixeno, flufenazina, decanoato de flufenazina, enantato de flufenazina, trifluoperazina, clorpromazina, perfenazina, citrato de litio, y proclorperazina); agentes antimaniacos (por ejemplo carbonato de litio); antiarrítmicos (por ejemplo, tosilato de bretilio, esmolol, verapamil, amiodarona, encamida, digoxina, digitoxina, mexiletina, fosfato de disopiramida, procainamida, sulfato de quinidina, gluconato de quinidina, poligalacturonato de quinidina, acetato de flecamida, tocamida, y lidocaína); agentes antiartríticos (por ejemplo fenilbutazona, sulindaco, penicilanina, salsalato, piroxicam, azatioprina, indometacina, meclofenamato, tiomalato de sodio-oro, cetoprofeno, auranofina, aurotioglucosa, y tolmetina sódica); agentes antigota (por ejemplo, colquicina, y alopurinol); anticoagulantes (por ejemplo, heparina, heparina sódica y warfarina sódica); agentes trombolíticos (por ejemplo urocinasa, estreptocinasa, y alteplasa); agentes antifibrinolíticos (por ejemplo ácido aminocaproico); agentes hemorrológicos (por ejemplo pentoxifilina); agentes antiplaquetas (por ejemplo aspirina); anticonvulsivos (por ejemplo, ácido valproico, divalproex sódico, feniloína, feniloína sódica, clonazepam, primidona, fenobarbital, carbamazepina, amobarbital sódico, metsuximida, metarbital, mefobarbital, mefeniloína, fensuximida, parametadiona, etotoína, fenacemida, secobarbital sódico, dipotasio clorazepato, y trimetadiona); agentes anti-parkinsonianos (por ejemplo, etosuximida); antihistaminas/antipruríticos (por ejemplo hidroxizina, difenhidramina, clorfeniramina, maleato de bronfeniramina, clorhidrato de ciproheptadina, terfenadina, fumarato de clemastina, triprolidina, carbinoxamina, difenilpiralina, fenindamina, azatadina, tripeleminamina, maleato de dexclorfeniramina, metildiazina, y); agentes útiles para regulación del calcio (por ejemplo calcitonina y hormona paratiroidea); agentes antibacterianos (por ejemplo sulfato de amicacina, aztreonam, cloranfenicol, palmitato de cloranfenicol, ciprofloxacina, clindamicina, palmitato de clindamicina, fosfato de clindamicina, metronidazol,

clorhidrato de metronidazol, sulfato de gentamicina, clorhidrato de lincomicina, sulfato de tobramicina, clorhidrato de vancomicina, sulfato de polimixina B, colistimetato sódico, y sulfato de colistina); agentes antivirales (por ejemplo interferón-alfa, beta o gamma, zidovudina, clorhidrato de amantadina, ribavirina, y aciclovir); antimicrobianos (por ejemplo cefalosporinas tales como cefazolina sódica, cefradina cefaclor, cefapirina sódica, ceftizoxima sódica, cefoperazona sódica, cefotetano de disodio, axetil cefuroxima, cefotaxima sódica, monohidrato de cefadroxilo, cefalexina, cefalotina sódica, monohidrato de clorhidrato de cefalexina, nafato de cefamandol, cefoxitina sódica, cefonicid sódica, ceforanida, ceftriaxona sódica, ceftazidima, cefadroxil, cefradina, y cefuroxima sódica; penicilinas tales como ampicilina, amoxicilina, penicilina G benzatina, ciclacilina, ampicilina sódica, potasio de penicilina G, potasio de penicilina V, piperacilina sódica, oxacilina sódica, clorhidrato de bacampicilina, cloxacilina sódica, ticarcilina de disodio, azlocilina sódica, carbenicilina-indanil sódica, procaína de penicilina G, meticilina sódica, y nafcilina sódica; macrólidos tales como, azitromicina, claritromicina, y eritromicinas tales como etilsuccinato de eritromicina, eritromicina, estolato de eritromicina, lactobionato de eritromicina, estearato de eritromicina, y etilsuccinato de eritromicina; y tetraciclinas tales como clorhidrato de tetraciclina, hclato de doxiciclina, y clorhidrato de minociclina); antiinfectivos (por ejemplo, GM-CSF); broncodilatadores (por ejemplo, simpatomiméticos tales como clorhidrato de epinefrina, sulfato de metaproterenol, sulfato de terbutalina, isoetarina, mesilato de isoetarin, clorhidrato de isoetarina, sulfato de albuterol, albuterol, bitolterolmesilato, clorhidrato de isoproterenol, sulfato de terbutalina, bitartrato de epinefrina, sulfato de metaproterenol, epinefrina, y bitartrato de epinefrina; agentes anticolinérgicos tales como bromuro de ipratropio; xantinas tales como aminofilina, difilina, sulfato de metaproterenol, y teofilina; tapizadores de mastocitos tales como cromolina sódica; corticosteroides inhalantes tal como dipropionato de beclometasona (BDP), y monohidrato de dipropionato de beclomehasona; salbutamol; bromuro de ipratropio; budesonido; salmeterol; xinafoato; triamcinolona; nedocromil sódico; flunisolida; propionato de fluticasona; compuestos esteroideos y hormonas (por ejemplo, andrógenos tales como danazol, cipionato de testosterona, fluoximesterona, etiltestosterona, enatato de testosterona, metiltestosterona; estrógenos tales como estradiol, estropipato, y estrógenos conjugados; progestinas tales como acetato de metoxiprogesterona, y acetato de noretindrona; corticosteroides tales como triamcinolona, betametasona, fosfato de betametasona sódica, fosfato de dexametasona sódica, fosfato de dexametasona, prednisona, suspensión de acetato de metilprednisolona, acetato de triamcinolona, metilprednisolona, fosfato de sodio de prednisolona, succinato de sodio de metilprednisolona, succinato de sodio de hidrocortisona, hexacetonido de triamcinolona, hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, prednisolona, acetato de fludrocortisona, acetato de parametasona, tebutato de prednisolona, acetato de prednisolona, fosfato de sodio de prednisolona, y hormonas de la tiroides tales como levotiroxina); agentes hipoglucémicos (por ejemplo, insulina humana, insulina de res purificada, insulina de cerdo purificada, gliburida, metormina, clorpropamida, glipizida, tolbutamida, y tolazamida); agentes hipolipidémicos (por ejemplo clofibrato, desxtrotiroxina sódica, probucol, pravastatina, atorvastatina, lovastatina, y niacina); proteínas (por ejemplo DNasa, alginasa, superóxidoismutasa, y lipasa); ácido nucleicos (por ejemplo, ácidos nucleicos antisentido); agentes útiles para la estimulación de eritropoyesis (por ejemplo, eritropoyetina); agentes antiúlceras/antireflujo (por ejemplo famotidina, cimetidina, y clorhidrato de ranitidina); anti-ausentes /antieméticos (por ejemplo clorhidrato de meclizina, nabilona, proclorperazina, dimenhidrinato, clorhidrato de prometazina, tietilperazina, y escopolamina); así como otros fármacos útiles en las composiciones y métodos aquí descritos, incluyendo mitotano, halonitrosoureas, antroclinas, elipticina, ceftriaxona, cetoconazol, ceftazidima, oxaprozina, valaciclovir, urofolitropina, famciclovir, flutamida, enalapril, itraconazol, buspirona, gabapentina, fosinopril, tramadol, acarbosa, lorazepam, folitropina, omeprazol, fluoxetina, lisinopril, tramadol, levofloxacina, zafirlukast, interferón, hormona de crecimiento, interleucina, eritropoyetina, factor estimulador de ranulocitos, nizatidina, bupropion, perindopril, erbumina, adenosina, alendronato, alprostadilo, benazeprilo, betaxolol, sulfato de bleomicina, dexfenfluramina, diltiazem, fentanilo, flecamid, gemcitabina, acetato de glatirámero, granisetron, lamivudina, mangafodipir de trisodio, mesalamina, fumarato de metoprolol, metronidazol, miglitol, moexipril, monteleukast, acetato de octreotido, olopatadina, paricalcitol, somatropina, succinato de sumatriptano, tacrina, verapamil, nabumetona, trovafloxacina, dolasetron, zidovudina, finasterida, tobramicina, isradipina, tolcapona, enoxaparina, fluconazol, lansoprazol, terbinafina, pamidronato, didanosina, diclofenaco, cisaprida, venlafaxina, troglitazona, fluvastatina, losartan, imiglucerasa, donepezil, olanzapina, valsartan, fexofenadina, calcitonina y bromuro de ipratropio. En algunas realizaciones, el fármaco puede ser soluble en agua. En algunas realizaciones, el fármaco puede no ser soluble en agua

19. Combinación con terapia estándar.

De acuerdo con la presente descripción, el al menos un componente/compuesto farmacéuticamente activo adicional que puede estar contenido en la composición aquí descrita y/o que puede administrarse conjuntamente puede seleccionarse de cualquier terapia estándar utilizada para el tratamiento del tumor particular o de la enfermedad del cáncer, por ejemplo cualquier quimioterapia, modulador de punto de control, inhibidor de quinasa, etc.

Adyuvantes y otros componentes:

El al menos un componente/compuesto farmacéuticamente activo adicional que puede estar contenido en la composición aquí descrita y/o que puede administrarse conjuntamente puede ser un adyuvante. Según una

realización específica, la composición aquí descrita comprender un adyuvante. En este contexto, un adyuvante puede entenderse como cualquier compuesto adecuado para iniciar o aumentar una respuesta inmune del sistema inmune innato, es decir, una respuesta inmune no específica. En otras palabras, cuando se administra, la composición provoca preferiblemente una respuesta inmune innata debido al adyuvante opcionalmente contenido en la misma. Preferiblemente, dicho adyuvante puede seleccionarse de un adyuvante conocido por el experto y adecuado para el presente caso, es decir, apoyando la inducción de una respuesta inmune innata en un mamífero.

Son particularmente preferentes como adyuvantes adecuados para depósito y suministro los compuestos catiónicos o policatiónicos como se definieron anteriormente para el ARN de la composición aquí descrita como vehículo, agente de transfección o de complejación.

Además, la composición aquí descrita puede comprender uno o más adyuvantes adicionales adecuados para iniciar o aumentar una respuesta inmune del sistema inmune innato, es decir, una respuesta inmune no específica, particularmente uniéndose a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). En otras palabras, cuando se administra, la composición farmacéutica provoca preferiblemente una respuesta inmune innata debido al adyuvante opcionalmente contenido en la misma. Preferiblemente, dicho adyuvante puede seleccionarse de un adyuvante conocido por el experto y adecuado para el presente caso, es decir, apoyando la inducción de una respuesta inmune innata en un mamífero.

Además, dicho adyuvante puede seleccionarse de cualquier adyuvante conocido por el experto y adecuado para el presente caso, es decir, apoyar la inducción de una respuesta inmune innata en un mamífero y/o adecuado para depósito y suministro de los componentes de la composición aquí descrita. Son preferentes como adyuvantes adecuados para depósito y suministro los compuestos catiónicos o policatiónicos como se definieron anteriormente. Del mismo modo, el adyuvante puede seleccionarse del grupo consistente en, por ejemplo, compuestos catiónicos o policatiónicos como se definió anteriormente, de quitosano, TDM, MDP, dipéptido de muramilo, pluronics, solución de alumbre, hidróxido de aluminio, ADJUMERTM (polifosfaceno); gel de fosfato de aluminio; glucanos de algas; algamulina; gel de hidróxido de aluminio (alumbre); gel de hidróxido de aluminio sumamente absorbente de proteínas; gel de hidróxido de aluminio de baja viscosidad; AF o SPT (emulsión de escualeno (5%), Tween 80 (0,2%), Pluronic L121 (1,25%), solución salina amortiguada con fosfato, pH 7.4); AVRIDINETM (propanodiamina); BAY R1005TM ((hidroacetato de N-(2-desoxi-2-L-leucilaminob- D-glucopiranosil)-N-octadecil-dodecanoilamida); CALCITRIOLTM (1-alfa,25-dihidroxi-vitamina D3); gel de fosfato de calcio; CAPTM (nanopartículas de fosfato de calcio); holotoxina de cólera, proteína de fusión de cólera toxina-A1-proteína-A-fragmento D, subunidad B de la toxina de cólera; CRL 1005 (copolímero de bloques P1205); liposomas que contienen citoquinas; DDA (bromuro de dimetildioctadecilamonio); DHEA (deshidroepiandrosterona); DMPC (dimiristoilfosfatidilcolina); DMPG (dimiristoilfosfatidilglicerol); complejo de DOC/alumbre (sal de sodio de ácido desoxicólico); adyuvante completo de Freund; adyuvante incompleto de Freund; inulina-gamma; adyuvante Gerbu (mezcla de: i) N-acetilglucosaminil-(P1-4)-N-acetilmuramil-L-alanil-D35 glutamina (GM DP), ii) cloruro de dimetildioctadecilamonio (DDA), iii) complejo de sal de zinc L-prolina (ZnPro-8); GM-CSF; GM DP (N-acetilglucosaminil-(b14)-N-acetilmuramil-L47-alanil-D-isoglutamina); imiquimod (1(2-metilpropil)-1H-imidazo[4,5-c]quinoline-4-amina); ImmTher™ (dipalmitato de N-acetilglucosaminil-N-acetilmuramil-L-Ala-D-isoGlu-L-Ala-glicerol); DRVs (inmunoliposomas preparados de vesículas de deshidratación-rehidratación); interferón gamma; interleucina-1beta; interleucina-2; interleucina-7; interleucina-12; ISCOMS™; ISCOMPREP 7.0.3.™; liposomas; LOXORIBINE™ (7-alil-8-oxoguanosina); adyuvante oral LT 5 (enterotoxina-prototoxina lábil de E.coli); microesferas y micropartículas de cualquier composición; MF59TM; (emulsión de agua de escualeno); MONTANIDE™ ISA 51 (adyuvante de Freund incompleto purificado); MONTANIDE ISA 720TM (adyuvante de aceite metabolizable); MPLTM (lípidio A de 3-Q-desacil-4'-monofosforilo); MTP-PE y liposomas MTP-PE ((N-acetil-L alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-(hidroxifosforilo))-etilamida, sal de monosodio); MURAMETIDE™ (Nac-Mur-L-Ala-D-Gln-OCH3); MURAPALMITINE™ y DMURAPALMITINE™ (Nac-Mur-L-Thr-D-isoGln-sn-gliceroldipalmitoil); NAGO (neuraminidasa-galactosa-oxidasa); nanoesferas o nanopartículas de cualquier composición; NISVs (vesículas de agentes tensioactivos no iónicos); PLEURANTM (β-glucano); PLGA, PGA y PLA (homo- y copolímeros de ácido láctico y ácido glicólico; microesferas/nanoesferas); PLURONIC L121TM; PMMA (polimetilmetacrilato); PODDSTM (microesferas proteinoideas); derivados de polietilen-carbamato; poli-rA: poli-rU (complejo de ácido poliadenílico-ácido poliuridílico); polisorbato 80 (Tween 80); cocleatos proteínicos (Avanti Polar Lipids, Inc., Alabaster, AL); STIMULON™ (QS-21); Quil-A (saponina de QuilA); S-28463 (4-amino-otecdimetil-2-etoximetil-1H-imidazo[4,5-c]quinolina-1-etanol); SAF-1TM ("formulación adyuvante Syntex"); proteoliposomas Sendai y matrices lipídicas que contienen Sendai; Span-85 (triolato de sorbitan); Specol (emulsión de Marcol 52, Span 85 y Tween 85); escualeno o Robane™ (2,6,10,15,19,23-hexametil-tetracosano y 2,6,10,15,19,23-hexametil-2,6,10,14,18,22-tetracosahexano); esteariltirosina (clorhidrato de octadeciltirosina); Theramid™ (N-acetilglucosaminil-N-acetilmuramil-L-Ala-D-isoGlu-L-Aladipalmitoxipropilamida); Teronil-MDP (Termurtide™ o [thr 1]-MDP; N-acetilmuramil-treonil-D-isoglutamina); partículas de Ty (Ty-VLPs o partículas similares a virus); liposomas Walter-Reed (liposomas que contienen lípido A adsorbido en hidróxido de aluminio), y lipopéptidos, incluyendo Pam3Cys, en particular sales de aluminio, tales como Adju-phos, Alhydrogel, Rehydralgel; emulsiones, incluyendo CFA, SAF, IFA, MF59, Provax, TiterMax, Montanida,

Vaxfectina; copolímeros, incluyendo Optivax (CRL1005), L121, Poloaxmer4010), etc.; liposomas, incluyendo Stealth, cocleatos, incluyendo BIORAL; adyuvantes derivados de plantas, incluyendo QS21, Quil A, Iscomatrix, ISCOM; adyuvantes adecuados para la co-estimulación incluyendo Tomatina, biopolímeros, incluyendo PLG, PMM, Inulina, adyuvantes derivados de microbios, incluyendo Romurtida, DETOX, MPL, CWS, Manosa, secuencia de ácido nucleicos CpG, CpG7909, ligandos de TLR 1-10 humanos, ligandos de TLR 1-13 de murino, ISS-1018, 35 IC31, Imidazoquinolinas, Ampligen, Ribi529, IMOxine, IRIVs, VLPs, toxina de cólera, toxina lábil térmica, Pam3Cys, Flagelina, anclaje GPI, LNFPIII/Lewis X, péptidos antimicrobianos, UC-1V150, proteína de fusión RSV, cdiGMP; y adyuvantes adecuados como antagonistas incluyendo neuropéptido de CGRP.

10 Con particular preferencia, un adyuvante puede seleccionarse de adyuvantes que apoyan la inducción de una respuesta inmune a Th1 o la maduración de células T naïve, tales como GM-CSF, IL-12, IFN γ , cualquier ARN como se define aquí, preferiblemente un ARN inmunoestimulador, ADN CpG, etc.

15 Es posible que la composición aquí descrita contenga, además del al menos un ARN como se describió anteriormente, componentes adicionales que se seleccionan del grupo que comprende: antígenos adicionales o ácidos nucleicos que proporcionan antígenos adicionales; un agente inmunoterapéutico adicional; una o más sustancias auxiliares; o cualquier otro compuesto que se sabe que es inmunoestimulante debido a su afinidad de unión (como ligandos) a los receptores humanos tipo Toll; y/o un ácido nucleico adyuvante, preferiblemente un ARN inmunoestimulador (ARNis).

20 La composición aquí descrita puede contener además una o más sustancias auxiliares para aumentar su inmunogenicidad o capacidad inmunoestimuladora, si se desea. Una acción sinérgica del al menos un ARN como se define aquí y de una sustancia auxiliar, que puede estar opcionalmente contenida en la composición aquí descrita, se logra preferiblemente de este modo. Dependiendo de los diversos tipos de sustancias auxiliares, se pueden tener en cuenta diversos mecanismos a este respecto. Por ejemplo, los compuestos que permiten la maduración de células dendríticas (DC), por ejemplo lipopolisacáridos, TNF- α o ligando CD40, forman una primera clase de sustancias auxiliares adecuadas. En general, es posible usar como sustancia
25 auxiliar cualquier agente que influya en el sistema inmune en la forma de una "señal de peligro" (LPS, GP96, etc.) o citoquinas, como GM-CSF, que permiten una respuesta inmune a ser mejorada y/o influenciada de manera específica. Sustancias auxiliares particularmente preferidas son citoquinas, como monoquinas, linfoquinas, interleuquinas o quimioquinas, que promueven aún más la respuesta inmune innata, como IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , GM-CSF, G-CSF, M-CSF, LT- β o TNF- α , factores de crecimiento, como hGH.

30 La composición aquí descrita puede contener cualquier compuesto adicional que se sabe que es inmunoestimulante debido a su afinidad de unión (como ligandos) a los receptores humanos tipo Toll TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, o debido a su afinidad de unión (como ligandos)
35 a los receptores tipo Toll murinos TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, TLR11, TLR12 o TLR13.

Otros aditivos que pueden incluirse en la composición aquí descrita son emulsionantes, por ejemplo Tween; agentes humectantes, por ejemplo laurilsulfato de sodio; agentes colorantes; agentes que imparten sabor, vehículos farmacéuticos; agentes formadores de tabletas; estabilizadores; antioxidantes, conservantes.

40 Composición farmacéutica:

En otro aspecto, la presente descripción también se refiere a una composición farmacéutica que comprende la composición que contiene ARN como se define aquí y un portador y/o vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente, la composición farmacéutica se prepara para la administración intratumoral, preferiblemente mediante inyección en tejido tumoral. Las formas inyectables estériles de la composición farmacéutica aquí
45 descrita pueden ser suspensiones acuosas u oleosas. Estas suspensiones pueden formularse de acuerdo con técnicas conocidas en la técnica, usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados.

Un vehículo farmacéuticamente aceptable incluye típicamente la base líquida o no líquida de una composición que comprende los componentes de la composición aquí descrita. Cuando la composición se proporciona en
50 forma líquida, el vehículo típicamente será agua libre de pirógeno; solución salina isotónica o soluciones tamponadas (acuosas), por ejemplo soluciones tamponadas fosfato, citrato, etc. El tampón de inyección puede ser hipertónico, isotónico o hipotónico con referencia al medio de referencia específico, es decir, el tampón puede tener un contenido en sales más alto, idéntico o más bajo con respecto al medio de referencia específico, donde preferiblemente pueden emplearse tales concentraciones de sales mencionadas anteriormente que no conducen a un daño celular por ósmosis u otros efectos de la concentración. Los medios de referencia son,
55 por ejemplo, líquidos existentes en métodos "in vivo", como sangre, linfa, líquidos citosólicos u otros líquidos corporales, o por ejemplo líquidos que pueden usarse como medios de referencia en métodos "in vitro", como

tampones o líquidos habituales. Dichos tampones o líquidos habituales son conocidos por el experto. La solución Ringer-Lactato es particularmente preferente como base líquida.

- 5 Sin embargo, también pueden emplearse una o más cargas o diluyentes sólidos o líquidos compatibles o compuestos encapsulantes, que son adecuados para la administración a un paciente a tratar, para la composición farmacéutica aquí descrita. El término "compatible", tal como se usa aquí, significa que estos constituyentes de la composición farmacéutica aquí descrita pueden mezclarse con los componentes de la composición farmacéutica de manera que no se produce una interacción que reduzca esencialmente la eficacia farmacéutica de la composición farmacéutica bajo las condiciones típicas de uso

Administración:

- 10 La composición o la composición farmacéutica aquí descritas se pueden administrar por inyección con aguja convencional o inyección de chorro sin aguja en el tejido tumoral. En una realización preferida, la composición o la composición farmacéutica se administra por inyección por chorro. La inyección por chorro se refiere a un método de inyección sin aguja en el que un fluido que comprende la composición y, opcionalmente, otros excipientes adecuados es forzado a través de un orificio, generando así una corriente líquida ultrafina a alta presión capaz de penetrar la piel de los mamíferos. En principio, la corriente líquida forma un agujero en la piel, a través del cual la corriente líquida es empujada hacia el tejido diana, es decir, el tejido tumoral. La inyección por chorro puede usarse para la aplicación intratumoral de la composición aquí descrita.

- 20 La composición aquí descrita puede administrarse mediante inyección de aguja convencional o inyección de chorro sin aguja al lado y/o muy cerca del tejido tumoral. En una realización preferente, la composición farmacéutica se administra mediante inyección por chorro al lado y/o muy cerca del tejido tumoral. La inyección por chorro se refiere a un método de inyección sin aguja en el que un fluido que comprende la composición aquí descrita y, opcionalmente, otros excipientes adecuados es forzado a través de un orificio, generando así una corriente líquida ultrafina a alta presión capaz de penetrar la piel de los mamíferos. En principio, la corriente líquida forma un agujero en la piel, a través del cual la corriente líquida es empujada hacia el tejido diana, es decir, el tejido tumoral. De acuerdo con la presente descripción, la inyección por chorro puede usarse para la aplicación intratumoral (al lado y/o muy cerca del tejido tumoral), en particular para la inyección de la composición aquí descrita.

- 30 En otras realizaciones, la composición o la composición farmacéutica aquí descritas se pueden administrar vía oral, parenteral, por pulverización en inhalación, vía tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantado. El término parenteral como se usa aquí incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intranodal, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional, intracraneal, transdérmica, intradérmica, intrapulmonal, intraperitoneal, intracardial, intraarterial y sublingual.

Otras vías de administración particularmente preferentes son la inyección intradérmica e intramuscular.

- 35 Además, la composición farmacéutica aquí descrita puede comprender componentes adicionales para facilitar la administración y la absorción de los componentes de la composición farmacéutica. Dichos componentes adicionales pueden ser un portador o vehículo apropiado, adyuvantes adicionales para apoyar cualquier respuesta inmune, agentes antibacterianos y/o antivirales.

- 40 Un componente adicional de la composición farmacéutica puede ser un agente inmunoterapéutico, que puede seleccionarse de inmunoglobulinas, preferiblemente IgG, anticuerpos monoclonales o policlonales, suero o sueros policlonales, etc. Preferiblemente, dicho agente inmunoterapéutico adicional puede proporcionarse como un péptido/proteína o puede estar codificado por un ácido nucleico, preferiblemente por un ADN o un ARN, más preferiblemente un ARNm.

- 45 La composición farmacéutica aquí descrita típicamente comprende una "cantidad segura y efectiva" de los componentes de la composición farmacéutica aquí descrita, en particular de la(s) molécula(s) de ARN como se define(n) aquí. Tal como se usa aquí, una "cantidad segura y efectiva" significa una cantidad de la(s) molécula(s) de ARN tal como se define aquí que, como tal, que es suficiente para inducir una modificación positiva del tumor o enfermedad por cáncer de forma significativa. Al mismo tiempo, sin embargo, una "cantidad segura y efectiva" es lo suficientemente pequeña como para evitar efectos secundarios graves y permitir una relación sensata entre ventaja y riesgo. La determinación de estos límites generalmente se encuentra dentro del alcance del juicio médico sensato.

- 50 La composición farmacéutica puede emplearse en humanos y también con fines médicos veterinarios, preferiblemente para fines médicos humanos, como una composición farmacéutica en general.

Vacuna:

Según otro aspecto particularmente preferente, la composición aquí descrita o la composición farmacéutica aquí descrita se pueden proporcionar o usar como una vacuna. Típicamente, dicha vacuna es como se definió anteriormente para composiciones farmacéuticas. Además, dicha vacuna típicamente contiene el al menos un ARN como se define aquí o la composición aquí descrita que comprende una pluralidad de ARN.

5 Preferiblemente, el al menos un ARN codifica al menos un antígeno tumoral o al menos un activador inmunitario como se definió anteriormente. La vacuna también puede comprender un portador, un adyuvante y/o vehículo farmacéuticamente aceptable como se define aquí para la composición farmacéutica. En el contexto específico de la vacuna, la selección de un vehículo farmacéuticamente aceptable se determina en principio por la manera en que se administra la vacuna. La vacuna aquí descrita puede administrarse localmente dentro del tejido

10 tumoral.

La vacuna aquí descrita puede contener además una o más sustancias auxiliares para aumentar su inmunogenicidad o su capacidad inmunoestimuladora, si se desea. Son particularmente preferentes los adyuvantes como sustancias auxiliares o aditivos tal como se definen para la composición farmacéutica.

Kit o kit de partes:

15 En un aspecto adicional, la presente descripción se refiere a un kit o kit de partes que comprende la composición que contiene ARN como se describe anteriormente, o que comprende la composición farmacéutica como se describe anteriormente, o los componentes de la misma y opcionalmente instrucciones técnicas con información sobre la administración y dosificación de los componentes.

Además de los componentes de la composición que contiene ARN aquí descrita, el kit puede contener

20 adicionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable, un adyuvante y al menos un componente adicional, por ejemplo un componente/compuesto farmacéuticamente activo adicional como se define aquí, así como medios para la administración e instrucciones técnicas. Los componentes de la composición y posiblemente los otros componentes adicionales pueden proporcionarse en forma liofilizada. En una realización preferente, antes del uso del kit, el vehículo proporcionado se agrega a los componentes liofilizados en una cantidad

25 predeterminada como está escrito, por ejemplo, en las instrucciones técnicas proporcionadas.

Indicación médica:

La presente descripción además proporciona varias aplicaciones y usos de la composición que contiene ARN aquí descrita, o de la composición farmacéutica, o la vacuna, o el kit o kit de partes como se define aquí. Como

30 aspecto principal de la presente descripción, la composición o la composición farmacéutica o el kit o kit de partes pueden usarse como medicamento, concretamente para el tratamiento de enfermedades tumorales o cancerosas. En este contexto, el tratamiento se lleva a cabo preferiblemente por administración intratumoral, especialmente por inyección en tejido tumoral. Según otro aspecto, también se describe aquí el segundo uso médico de la composición que contiene ARN o de la composición farmacéutica, o de la vacuna, o del kit o kit de partes como se describe anteriormente, donde estos contenidos se usan para la preparación de un

35 medicamento particularmente de aplicación intratumoral (administración) para el tratamiento de enfermedades tumorales o cancerosas.

Preferiblemente, las enfermedades como se mencionan aquí se seleccionan de enfermedades tumorales o cancerosas que preferiblemente incluyen por ejemplo, Leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma adrenocortical, cánceres relacionados con SIDA, linfoma relacionado con SIDA, cáncer anal, cáncer de apéndice, astrocitoma, carcinoma de células basales, cáncer del conducto biliar, cáncer de vejiga, cáncer de huesos, osteosarcoma/histiocitoma fibroso maligno, glioma del tallo cerebral, tumor cerebral, astrocitoma cerebelar, astrocitoma cerebral/glioma maligno, ependimoma, meduloblastoma, tumores neuroectodérmicos primitivos suprasensoriales, glioma de la ruta visual e hipotalámico, cáncer de mama, adenomas/carcinomas bronquiales, linfoma de Burkitt, tumor carcinoide de la niñez, tumor carcinoide gastrointestinal, carcinoma del sistema nervioso central primario, linfoma, astrocitoma cerebelar de la niñez, astrocitoma cerebral de la niñez/glioma maligno, cáncer cervical, cánceres de la niñez, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielogenosa crónica, trastornos mieloproliferativos crónicos, cáncer de colon, linfoma de células T cutáneas, tumor de células redondas pequeñas desmoplásicas, cáncer de endometrio, ependimoma, cáncer de esófago, sarcoma de Ewing de la familia de tumores de Ewing, tumor de células germinales extracraneales de la niñez, tumor de células germinales extragonadales, cáncer del conducto biliar extrahepático, melanoma intraocular, retinoblastoma, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico (estómago), tumor carcinoide gastrointestinal, tumor estromal gastrointestinal (GIST), tumor de células germinales extracraneales, extragonadales o de ovario, tumor trofoblástico gestacional, glioma del tallo cerebral, astrocitoma cerebral de la niñez, glioma de la ruta visual e hipotalámico de la niñez, carcinoide gástrico, leucemia de células pilosas, cáncer de cabeza y cuello,

40

45

50

55

cáncer de corazón, cáncer hepatocelular (hígado), linfoma de Hodgkin, cáncer hipofaríngeo, glioma hipotalámico y de la ruta visual de la niñez, melanoma intraocular, carcinoma de células de islotes (páncreas endocrinos), sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón (cáncer de células renales), cáncer de laringe, leucemias, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielogenosa

crónica, leucemia de células pilosas, cáncer de labio y cavidad oral, liposarcoma, cáncer de hígado, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, linfomas, linfoma relacionado con sida, linfoma de Burkitt, linfoma de células T cutáneo, linfoma de Hodgkin, linfomas no Hodgkin, linfoma del sistema nervioso central primario, macroglobulinemia de Waldenström, histiocitoma fibroso maligno de huesos/osteosarcoma, meduloblastoma de la niñez, melanoma, melanoma intraocular (ojos), carcinoma de células de Merkel, mesotelioma maligno adulto, mesotelioma de la niñez, cáncer de cuello escamoso metastásico con cáncer de boca, primario oculto, síndrome de neoplasia endocrino múltiple de la niñez, mieloma múltiple/neoplasma de células plasmáticas, micosis fungoides, síndromes mieloplásicos, enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, leucemia mielogenosa crónica, leucemia mieloide aguda de adulto, leucemia mieloide aguda de la niñez, mieloma múltiple (cáncer de la médula ósea), trastornos mieloproliferativos crónicos, cáncer la cavidad nasal y seno paranasal, carcinoma nasofaríngeo, neuroblastoma, cáncer oral, cáncer orofaríngeo, osteosarcoma/histiocitoma fibroso maligno de huesos, cáncer de ovario, cáncer epitelial ovárico (tumor estromal epitelial superficial), tumor de células germinales de ovario, tumor de potencial maligno bajo de ovario, cáncer pancreático, cáncer pancreático de células de los islotes, cáncer del seno paranasal y cavidad nasal, cáncer de paratiroides, cáncer de pene, cáncer faríngeo, pineoblastoma de la niñez y tumores neuroectodérmicos primitivos suprasensoriales, adenoma de la pituitaria, neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple, blastoma pleuropulmonar, linfoma del sistema nervioso central primario, cáncer de próstata, cáncer rectal, carcinoma de células renales (cáncer de riñón), cáncer de la pelvis renal y uréter, retinoblastoma, rabdosarcoma de la niñez, cáncer de las glándulas salivales, sarcoma de la familia de tumores de Ewing, sarcoma de Kaposi, sarcoma de tejido blando, sarcoma uterino, síndrome de Sézary, cáncer de piel (no de melanoma), cáncer de piel (melanoma), carcinoma de piel de células de Merkel, cáncer intestinal escamoso, carcinoma de células escamosas, cáncer de cuello escamoso metastático con ocultación primaria, tumor neuroectodérmico primitivo supratentorial de la niñez, cáncer testicular, cáncer de garganta, timoma de la niñez y carcinoma tímico, cáncer de tiroides, cáncer de tiroides de la niñez, cáncer de células transicionales de la pelvis renal y uréter, tumor trofoblástico gestacional, cáncer de uretra, cáncer uterino de endometrio, sarcoma uterino, cáncer vaginal, glioma de la ruta visual hipotalámico de la niñez, cáncer de vulva, macroglobulinemia de Waldenström, y tumor de Wilms de la niñez (cáncer de riñón).

Ejemplos especialmente preferentes de tumores o cánceres adecuados para la administración intratumoral son cáncer de próstata, de pulmón, de mama, de cerebro, de cabeza y cuello, de tiroides, de colon, de estómago, de hígado, de páncreas, de ovario, de piel, de vejiga urinaria, útero y cuello uterino.

Según una realización específica, el medicamento puede administrarse al paciente como una dosis única o como varias dosis. En ciertas realizaciones, el medicamento puede administrarse a un paciente como una dosis única, seguida de una segunda dosis más tarde y opcionalmente incluso una tercera, cuarta (o más) dosis posteriores a la misma, etc.

Preferiblemente, la composición aquí descrita se proporciona en una cantidad de al menos 40 µg de ARN por dosis. Más específicamente, la cantidad de ARNm comprendida en una dosis única es típicamente de al menos 200 µg, preferiblemente de 200 µg a 1.000 µg, más preferiblemente de 300 µg a 850 µg, incluso más preferiblemente de 300 µg a 700 µg.

Tratamiento con compuestos adicionales (farmacéuticos):

En una realización particularmente preferente, el sujeto que recibe la composición aquí descrita, o la composición farmacéutica o vacuna, puede ser un paciente con cáncer o un tumor que recibe o ha recibido tratamientos estándar de cáncer. Preferiblemente, el paciente ha logrado una respuesta parcial o una enfermedad estable después de haber recibido tratamientos estándar.

Los tratamientos estándar del cáncer incluyen quimioterapia, radiación, quimiorradiación y cirugía, dependiendo del tipo de cáncer o tumor particular a tratar, aplicándose estos tratamientos individualmente o en combinación.

En algunas realizaciones, el sujeto que recibe la composición, la composición farmacéutica o la vacuna como se describen aquí puede ser un paciente con cáncer o con un tumor que recibió o recibe quimioterapia (por ejemplo quimioterapia de primera o segunda línea), radioterapia, quimiorradiación (combinación de quimioterapia y radioterapia), inhibidores de quinasas, terapia con anticuerpos y/o moduladores de puntos de control (por ejemplo Inhibidores CTLA4, inhibidores de la ruta PD1), o un paciente que ha logrado una respuesta parcial o una enfermedad estable después de haber recibido uno o más de los tratamientos especificados anteriormente.

En otras realizaciones, el sujeto que recibe la composición, la composición farmacéutica o la vacuna puede ser un paciente con cáncer o con un tumor que recibió o recibe un componente/compuesto farmacéuticamente activo adicional como se definió anteriormente. Preferiblemente, el sujeto es un paciente que ha logrado una

respuesta parcial o una enfermedad estable después de haber recibido uno o más de los tratamientos especificados anteriormente.

- Según otro aspecto, también se describe aquí un método de tratamiento de enfermedades tumorales o cancerosas, donde la composición que contiene ARN como se describe anteriormente, o la composición farmacéutica como se describe anteriormente, o la vacuna como se describe anteriormente, o el kit o kit de partes como se describe anteriormente, se aplica preferiblemente vía intratumoral, especialmente mediante inyección en tejido tumoral. Con respecto a otras características del método de tratamiento, se hace referencia a la descripción anterior.

Aplicaciones intratumorales preferentes:

- 10 En este contexto, es particularmente preferente que la aplicación intratumoral de la composición que contiene ARN o de la composición farmacéutica o de la vacuna como se define anteriormente se combine con la aplicación de diferentes agentes/componentes/compuestos farmacéuticamente activos. Son particularmente preferentes anticuerpos (por ejemplo moduladores de puntos de control como anti-CTLA4, anti-OX40, anti-PD1 o anti-PD-L1) o ligandos (por ejemplo CD40L).
- 15 En realizaciones preferentes, son particularmente preferentes las siguientes combinaciones:
- Adyuvante de ARN (i.t.) + anti-CTLA4 como proteína (i.p./i.v.)
 - Adyuvante de ARN (i.t.) + anti-CTLA4 como proteína (i.t.)
 - Adyuvante de ARN (i.t.) + anti-PD1 como proteína (i.p./i.v.)
 - Adyuvante de ARN (i.t.) + anti-PD1 como proteína (i.t.)
 - 20 - Adyuvante de ARN (i.t.) + anti-PD-L1 como proteína (i.p./i.v.)
 - Adyuvante de ARN (i.t.) + anti-PD-L1 como proteína (i.t.)
 - Adyuvante de ARN (i.t.) + anti-CTLA4 como proteína (i.p./i.v.)
 - Adyuvante de ARN (i.t.) + CD40L (i.t.) como proteína o codificado por un ácido nucleico de manera preferente un ARN, de manera más preferente un ARNm
 - 25 - Adyuvante de ARN (i.t.) + ARNm que codifica IL-12 + ARNm que codifica el receptor PD-1 soluble + anti-CD73 (i.p./i.v.)
 - Adyuvante de ARN (i.t.) + ARNm que codifica IL-12 + ARNm que codifica el receptor PD-1 soluble + anti-CD137 (i.p./i.v.)
 - Adyuvante de ARN (i.t.)
- 30 (i.t. = intratumoral, i.p. = intraperitoneal, i.v. = intravenoso)

- En la presente descripción, si no se indica lo contrario, se pueden combinar diferentes características de alternativas y realizaciones entre sí, cuando sea adecuado. Además, el término "que comprende" no se interpretará de manera limitada como limitado a "que consiste en" solamente, si no se menciona específicamente. Más bien, en el contexto de la presente descripción, "que consiste en" es una realización específicamente contemplada por los inventores para que caiga dentro del alcance de "que comprende", siempre que "que comprende" se use aquí.

Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo con fines de claridad de comprensión, será evidente para los expertos en la materia, a la luz de las enseñanzas de esta invención, que pueden hacerse ciertos cambios y modificaciones sin apartarse del espíritu o alcance de las

- 40 reivindicaciones adjuntas.

Los ejemplos y figuras mostrados a continuación son meramente ilustrativos y describen la presente invención de manera adicional. Estas figuras y ejemplos no se interpretarán como limitativos de la presente invención a los mismos.

Breve descripción de las figuras:

- 45 Figura 1: muestra las proporciones de supervivencia de ratones con tumores E.G7-OVA después del tratamiento intratumoral con ARNm que codifica IL-12 (ARNm de IL-12) o con proteína IL-12 recombinante (proteína rIL-12). El experimento se realizó como se describe en el Ejemplo 1. Se muestran curvas de supervivencia de Kaplan-Meier.
- 50 Figura 2: muestra que el tratamiento intratumoral de ratones con una combinación de ARNm de IL-12 (R2763, SEQ ID NO: 1) y el complejo de carga de soporte polimérico (R2391, adyuvante de ARN, preparado como se describe en los métodos) condujo a una disminución significativa del volumen tumoral en comparación con los grupos de control. El experimento se realizó como se describe en el Ejemplo 2. La Figura 2 muestra el volumen tumoral medio el día 21 después de la exposición al tumor (el último día cuando todos los animales

estaban vivos). El análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism versión 5.04 utilizando el test de Mann Whitney.

Figura 3: muestra las proporciones de supervivencia de ratones con tumores CT26 después del tratamiento intratumoral con una combinación de ARNm de IL-12 y el complejo de carga de vehículo polimérico ("adyuvante de ARN") como se describe en el Ejemplo 2 y en la leyenda de la figura 2. Se muestran las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier. El análisis estadístico se realizó con GraphPad Prism versión 5.04 utilizando el test de Log-rank.

Figura 4: muestra las proporciones de supervivencia de ratones con tumores CT26 después del tratamiento intratumoral con ARNm que codifica la nucleoproteína de la influenza. El experimento se realizó como se describe en el Ejemplo 3. Se muestran las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier.

Figura 5: el panel (A) muestra un análisis de la mediana del crecimiento tumoral de ratones que tienen tumores CT26 después del tratamiento intratumoral con ARNm que codifica IL-12, adyuvante de ARN y ARNm que codifica PD-1 soluble. Las respectivas combinaciones de estos compuestos, incluidos los grupos de control, se probaron como se indica en la figura. El experimento se realizó como se describe en el Ejemplo 4. El panel (B) muestra las proporciones de supervivencia de ratones con tumores CT26 después del tratamiento intratumoral con ARNm que codifica IL-12, adyuvante de ARN y ARNm que codifica PD-1 soluble. Las respectivas combinaciones de estos compuestos, incluidos los grupos de control, se probaron como se indica en la figura. El experimento se realizó como se describe en el Ejemplo 4. Se muestran las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier.

Figura 6: muestra las proporciones de supervivencia de ratones con tumores CT26 después del tratamiento intratumoral con ARNm que codifica IL-12, adyuvante de ARN, ARNm que codifica PD-1 soluble y tratamiento intraperitoneal de un anticuerpo anti-CD73. Las respectivas combinaciones de estos compuestos, incluidos los grupos de control, se probaron como se indica en la figura. El experimento se realizó como se describe en el Ejemplo 5. Se muestran las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier.

Figura 7: muestra las proporciones de supervivencia de ratones con tumores CT26 después del tratamiento intratumoral con ARNm que codifica IL-12, adyuvante de ARN, ARNm que codifica PD-1 soluble y tratamiento intraperitoneal de un anticuerpo anti-CD173. Las respectivas combinaciones de estos compuestos, incluidos los grupos de control, se probaron como se indica en la figura. El experimento se realizó como se describe en el Ejemplo 6. Se muestran las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier.

Figura 8: muestra las proporciones de supervivencia de los ratones con tumores CT26 después del tratamiento intratumoral con ARN y el tratamiento intraperitoneal de un anticuerpo anti-PD-1. Las respectivas combinaciones de estos compuestos, incluidos los grupos de control, se probaron como se indica en la figura. El experimento se realizó como se describe en el Ejemplo 7. Se muestran las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier.

Figura 9: muestra las proporciones de supervivencia de ratones con tumores CT26 después del tratamiento intratumoral con ARNm que codifica IL-12, adyuvante de ARN, ARNm que codifica CD40L en comparación con el tratamiento intratumoral con ARNm que codifica IL-12 solo. Las respectivas combinaciones de estos compuestos, incluidos los grupos de control, se probaron como se indica en la figura. El experimento se realizó como se describe en el Ejemplo 8. Se muestran las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier.

Figura 10: muestra la secuencia de ARNm R3571 que codifica CD40L murino (MmCD40L) según la SEQ ID NO. 10.073

Ejemplos

Métodos: Preparación del ARN

1. Preparación de constructos de ADN y ARN

Para los presentes ejemplos, se prepararon secuencias de ADN que codifican los ARN indicados (véase la Tabla 17) y se usaron para las reacciones de transcripción *in vitro* de ARN posteriores.

Tabla 17: Constructos de ARN

ARN	Descripción	5'-UTR	3'-UTR	SEQ ID NO.
R1328	IL-12 murina codifica ARNm (MmIL-12(GC))-sc-Flag)	-	Muag (3'-UTR de alfa-globina)-A64-C30	SEQ ID NO: 1
R491	ARNm codifica luciferasa de Photinus pyralis (pPLuc (GC)) (ARNm irrelevante)	-	Muag (3'-UTR de alfa-globina)-A64-C30	SEQ ID NO: 2
R2763	ARNm codifica IL-12 murina (MmIL-12(GC))	5'-TOP-UTR derivada de proteína ribosomal 32L	albumina-3'-UTR-A64-C30-tallo-bucle de histona	SEQ ID NO: 3
R2244	Luciferasa codifica ARNm (PpLuc(GC))	5'-TOP-UTR derivada de proteína ribosomal 32L	albumina-3'-UTR-A64-C30-tallo-bucle de histona	SEQ ID NO: 4

R2025 R2391	ARN inmunoestimulador no codificante (ARN adyuvante) (SEQ ID NO. 118 de WO2009095226)			SEQ ID NO: 5
R2650 R2651	ARNm codifica para la nucleoproteína de influenza (H1N1(PR8)-NP(GC))	5'-TOP-UTR derivada de proteína ribosomal 32L	albumina-3'-UTR-A64-C30-tallo-bucle de histona	SEQ ID NO: 6
R3971	ARNm codifica solPD-1	5'-TOP-UTR derivada de proteína ribosomal 32L	albumina-3'-UTR-A64-C30-tallo-bucle de histona	SEQ ID NO: 389
R3571	ARNm codifica CD40L murino (MmCD40L)	5'-TOP-UTR derivada de proteína ribosomal 32L	albumina-3'-UTR-A64-C30-tallo-bucle de histona	SEQ ID NO:10073

Los constructos de MmIL-12(GC), Influenza NP(GC), solPD-1 y PpLuc(GC) se prepararon introduciendo una 5'-TOP-UTR derivada de la proteína ribosómica 32L, modificando la secuencia de codificación de tipo salvaje mediante la introducción de una secuencia optimizada por GC para la estabilización, seguida de una secuencia estabilizadora derivada de albúmina-3'-UTR, un tramo de 64 adenosinas (secuencia poli(A)), un tramo de 30 citosinas (secuencia poli(C)) y un tallo-bucle de histona. La mayoría de las secuencias de ADN se prepararon modificando las secuencias de ADN codificantes de tipo salvaje por la introducción de una secuencia optimizada en GC para la estabilización, utilizando un algoritmo *in silico* que aumenta el contenido de GC de la secuencia de codificación respectiva en comparación con la secuencia de codificación de tipo salvaje (en la Tabla 12 indicada como "GC").

Para este ejemplo, se preparó una secuencia de ADN que codifica el ARN inmunoestimulador no codificante (ARNis) R2025 y se usó para reacciones de transcripción de ARN *in vitro* subsiguientes.

2. Transcripción *in vitro* de ARN

Los respectivos plásmidos de ADN preparados según la sección 1 anterior se transcribieron *in vitro* usando polimerasa T7. Las reacciones de transcripción de ARN *in vitro* de IL-12, NP, PpLuc, CD40L y constructos codificantes de PD-1 solubles se realizaron en presencia de un análogo CAP (m7GpppG). El ARNis R2025 se preparó sin análogo CAP. Posteriormente, el ARN se purificó usando PureMessenger® (CureVac, Tubingen, Alemania; WO2008/077592A1).

3. Preparación del complejo de carga polimérico ("adyuvante de ARN")

Se usó el siguiente péptido catiónico como componente catiónico del vehículo polimérico (Cys-Arg₁₂-Cys o CR¹²C) de acuerdo con la SEQ ID NO: 7.

Para la síntesis de los complejos de carga de vehículo polimérico, se mezcló una molécula de ARN con la secuencia de ARN R2025 como se define en la sección 1 anterior con el componente de péptido catiónico CR₁₂C como se definió anteriormente. La cantidad especificada de ARN se mezcló con el componente catiónico respectivo en las relaciones en masa indicadas a continuación, formando así un complejo. Si se usaban componentes catiónicos de polimerización de acuerdo con la presente descripción, la polimerización de los componentes catiónicos tenía lugar simultáneamente a la complejación de la carga de ácido nucleico. Posteriormente, la solución resultante se ajustó con agua a un volumen final de 50 µl y se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se describen más detalles en el documento WO2012013326.

La relación en masa péptido:ARN fue 1:3,7. El complejo de carga de vehículo polimérico está formado por el péptido catiónico disulfuro-reticulado CR₁₂C como vehículo y el inmunoestimulador R2025 como carga de ácido nucleico. Este complejo de carga de transporte polimérico R2025/CR₁₂C (designado R2391) se usó como adyuvante en los siguientes ejemplos (denominado "adyuvante de ARN")

4. Preparación de la formulación de la vacuna que codifica la nucleoproteína de la influenza (H1NKPR8) - NP(GC) (R2651)

El ARNm (R2650) se complejó con protamina por adición de protamina al ARNm en la proporción (1:2) (p/p) (componente adyuvante). Después de la incubación durante 10 minutos, se añadió la misma cantidad de ARNm libre utilizado como ARNm proporcionador de antígeno. Esta formulación de vacuna se denomina aquí R2651 (de acuerdo con el documento WO2010037539). La vacuna se administró en solución lactato de Ringer.

5. Preparación del ARN para la administración.

El ARNm PpLuc desnudo (es decir, no formulado) (R2244, R491), ARNm de IL-12 (R2763, R1328), ARNm de PD-1 soluble (R3971), ARNm de CD40L (R3571) se administraron en solución lactato de Ringer (RiLa). La co-formulación de ARNm desnudos y el complejo de carga de vehículo polimérico "adyuvante de ARN" (R2391) también se administraron en lactato de Ringer (RiLa) después de mezclar ambos componentes directamente antes de la inyección.

Ejemplo 1: aplicación intratumoral de ARNm que codifica para IL-12

Se inocularon 5 ratones hembra C57BL/6 por grupo de tratamiento con 10⁶ células de células E.G7 - OVA 5 días antes del primer tratamiento. Para cada grupo de tratamiento se trataron 5 tumores EG.7-OVA implantados vía subcutánea establecidos (aproximadamente 100 mm³). Los tumores se trataron con 16 µg de ARNm que codifica MmIL-12 (MmIL-12(GC))- sc-Flag (R1328) o 0,5 µg de proteína MmIL-12 en los días d 0, 2, 4, 21, 23 y 25 con 50 µg (1 µg/µl). Como control, los ratones fueron tratados con un ARNm irrelevante (pPLuc) (R491).

El día de estudio 0 se define como el primer día de tratamiento. El crecimiento tumoral se controló con frecuencia (cada 2-3 días). Se sacrificaron los ratones con un volumen > 3 cm³.

Resultados del ejemplo 1:

La Figura 1 muestra que el tratamiento intratumoral con la IL-12 codificada con ARNm (ARNm de IL-12) dio como resultado un aumento significativo de la supervivencia en comparación con el grupo de control. Además, se pudo observar una mayor supervivencia en comparación con la aplicación intratumoral de la proteína IL-12 recombinante (proteína rIL-12).

Ejemplo 2: Tratamiento intratumoral con ARNm que codifica IL-12 en combinación con un ARN inmunoestimulante (ARN adyuvante)

La siguiente tabla 18 resume los constructos de ARN utilizados para el ejemplo 2.

Tabla 18: Constructos de ARN par el ejemplo 2

ARN	Descripción	Figura	SEQ ID NO
R2763	ARNm codifica IL-12 murina	1	SEQ ID NO. 1
R2244	ARNm codifica luciferasa (PpLuc)	2	SEQ ID NO. 2
R2025	ARN inmunoestimulador no codificante	3	SEQ ID NO. 3

Ratones Balb/c (n = 6 o 7, ver tabla 14) fueron inyectados subcutáneamente (sc) con 1x10⁶ células CT26 (línea celular de carcinoma de colon) por ratón (en un volumen de 100 µl PBS) en el flanco derecho el día 0 del experimento. El día 9 después de la exposición al tumor, los ratones se clasificaron de acuerdo con el tamaño tumoral para obtener grupos con un volumen tumoral medio de aproximadamente 60 mm³. La terapia intratumoral (i.t.) comenzó el día 9 y continuó con 4 inyecciones adicionales cada 3-4 días. Se inyectó a los ratones una combinación de IL-12 codificada con ARNm (25 µg de R2763) + adyuvante de ARN* (25 µg de R2391) (grupo A). Para controlar la inflamación local debida a la aplicación de ARN o al procedimiento de inyección, se inyectó a los ratones un ARNm de control que codifica luciferasa (PpLuc, R2244, grupo B) o tampón (RiLa, grupo C), respectivamente. Los ratones no tratados sirvieron como control adicional (grupo D).

El crecimiento del tumor se controló midiendo el tamaño del tumor en tres dimensiones usando un calibrador. El volumen tumoral se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$volumen(mm^3) = \frac{longitud(mm) \times \pi \times ancho^2(mm^2)}{6}$$

Los días 9, 11, 14, 17 y 21 del experimento, los ratones fueron inyectados intratumoralmente (i.t.) con ARN de acuerdo con la tabla 19 a continuación. El volumen para la inyección intratumoral fue de 50 µl.

40

45

Tabla 19: grupos de animales

Grupo	Sexo cepa	Nº ratones	ARN	Dosis por ratón	Vía, volumen
A	BALB/c hembra	7	R2763, R2391	25 µg de cada ARN	i.t., 50 µl
B	BALB/c hembra	7	R2244	50 µg	i.t., 50 µl
C	BALB/c hembra	6	RiLa	-	i.t., 50 µl
D	BALB/c hembra	6	-	-	-

Resultados del ejemplo 2

5 La Figura 2 muestra que el tratamiento intratumoral con la combinación de IL-12 codificada con ARNm (R2763) y adyuvante de ARN* (R2391) dio como resultado una disminución estadísticamente significativa del volumen tumoral el día 21 después de la estimulación tumoral en comparación con todos los grupos de control.

La Figura 3 muestra que el tratamiento intratumoral con la combinación de IL-12 codificada con ARNm (R2763) y adyuvante de ARN* (R2391) dio como resultado un aumento estadísticamente significativo de la supervivencia en comparación con los tres grupos de control (grupo A versus grupo B *p = 0,0104, grupo A vs.

10 grupo C **p = 0,0035, grupo A vs. Grupo D *p = 0,0263).

Ejemplo 3: Vacunación de ratones con ARNm que codifica la nucleoproteína de la influenza (NP) y posterior tratamiento intratumoral con ARNm que codifica NP

15 El objetivo de este experimento fue probar si se puede aprovechar una respuesta inmune preexistente contra un tumor establecido. Con este fin, los ratones se vacunaron primero con RNaActive (formulación de vacuna compleja con protamina) que codifica la nucleoproteína de la influenza (NP) (R2651), que induce un alto nivel de respuestas de células T anti-NP CD8+, luego se desafiaron con células tumorales CT26, seguido de tratamiento intratumoral con ARN desnudo que codifica NP (R2650).

20 27 ratones Balb/c se vacunaron vía intradérmica (id) con 40 µg de H1N1 (PR8) -NP(GC) RNaActive (R2651) (2 x 50 µl) o tampón Ringer-Lactate (RiLa) como control el día 0, 7 y 16 del experimento. El día 14, todos los ratones se expusieron vía subcutánea (s.c.) a 1 x 10⁶ células CT26 por ratón (en un volumen de 100 µl PBS) en el flanco derecho. El día 22, los ratones fueron asignados a los diferentes grupos como se muestra en la Tabla 20.

25 El día 23, siete días después del segundo refuerzo, comenzó la aplicación intratumoral (it) de 50 µg de ARNm H1N1 (PR8)-NP(GC) desnudo (R2650) (solo grupo C) y continuó durante cuatro inyecciones adicionales (el día 25, día 28, día 31 y día 35). El volumen para la inyección intratumoral fue de 50 µl. Un cronograma de tratamiento detallado se muestra en la Tabla 21.

El crecimiento del tumor se controló midiendo el tamaño del tumor en tres dimensiones usando un calibrador. El volumen tumoral se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$volumen(mm^3) = \frac{longitud(mm) \times \pi \times ancho^2(mm^2)}{6}$$

30

Tabla 20: Grupos de animales

Grupo	Sexo cepa	Nº ratones	ARNm i.d.	ARNm i.t.
A	BALB/c hembra	9	RiLa	-
B	BALB/c hembra	9	R2651 (40 µg)	-
C	BALB/c hembra	9	R2651 (40 µg)	R2650 (50 µg)

Tabla 21: Esquema de vacunación

Día	Tratamiento
0	Vacunación todos los grupos i.d.
7	Vacunación todos los grupos i.d.
14	Reto tumoral todos los grupos (1x10 ⁶ cél./ratón)
16	Vacunación todos los grupos i.d.
23	Vacunación grupo C i.t.
25, 28, 31, 35	Vacunación grupo C i.t.

Resultados del ejemplo 3

35 La Figura 4 muestra que la inmunidad preexistente (inducida en este modelo por la vacuna NP) aumentó el tiempo medio de supervivencia (MST) de los ratones que recibieron la aplicación intratumoral de ARNm

codificado por NP en comparación con los ratones que fueron tratados solo con tampón (MST = 28 vs. MST = 21, respectivamente).

Ejemplo 4: Tratamiento intratumoral con un ARN inmunoestimulante ("adyuvante de ARN") y un ARNm que codifica PD-1 soluble y un ARNm que codifica IL-12

- 5 La Tabla 22 resume el tratamiento como se usa en el presente ejemplo. Los adyuvantes de ARN y los constructos de ARNm que codifican IL-12 y PD-1 soluble se administraron vía intratumoral (i.t.). En ratones CT26 con tumor desafiado, se analizaron las tasas de supervivencia y la mediana del crecimiento tumoral.

Tabla 22: Grupos, tratamiento y dilución de ARN

Grupo	Nº ratones	Tratamiento i.t. (25 µg para cada componente)	Programa vacunación
A	10	IL-12 + ARN adyuvante + PD-1 soluble	2x semana
B	10	IL-12	2x semana
C	10	ARN adyuvante	2x semana
D	10	RiLa	2x semana

- 10 Estimulación tumoral y administración de la composición aquí descrita

60 Los ratones Balb/c se expusieron vía subcutánea a 1×10^6 células CT26 por ratón (volumen en 100µl PBS) en el flanco derecho el día 0 del experimento. El día 8, los ratones se clasificaron según el tamaño del tumor. Según el tamaño del tumor, la primera vacunación tuvo lugar el día 8 o 9 (los tumores deben tener un tamaño de aproximadamente 40-50 mm³). Los ratones fueron vacunados con diferentes combinaciones de ARNm y ARN adyuvante de acuerdo con la tabla anterior. Se realizaron seis vacunas. El volumen para la inyección intratumoral fue de 50 µl.

- 15 Los ratones fueron inyectados de acuerdo con el esquema indicado en la Tabla 22. La mediana del crecimiento tumoral se determinó de acuerdo con el ejemplo 3. Los resultados del experimento se muestran en la Figura 5, donde la Figura 5A muestra el efecto de la composición aquí descrita sobre el crecimiento tumoral y la Figura 5B muestra el efecto de la composición aquí descrita sobre la supervivencia.
- 20

Resultados:

- 25 Los resultados de la Figura 5A muestran que la composición aquí descrita que comprende un ARNm que codifica IL-12 y un ARNm que codifica PD-1 soluble en combinación con ARN-adyuvante (grupo "A" según la Tabla 22) disminuyó fuertemente el volumen tumoral medio en comparación con los otros tratamientos (grupos BD según la Tabla 22). Además, los resultados de la Figura 5B muestran que la composición aquí descrita que comprende un ARNm que codifica IL-12 y un ARNm que codifica PD-1 soluble en combinación con un adyuvante de ARN (grupo "A" según la Tabla 22) aumentó fuertemente la supervivencia de los ratones con tumor en comparación con los otros tratamientos (grupos BD según la Tabla 22).

- 30 **Ejemplo 5: Tratamiento intratumoral con ARNm que codifica IL-12 en combinación con un ARN inmunoestimulador ("adyuvante de ARN") y un ARNm que codifica sol PD-1 y anticuerpo anti-CD73**

La Tabla 23 resume el tratamiento tal como se utiliza en el presente ejemplo. Además de los constructos de ARN adyuvante y ARNm que codifican IL-12 y PD-1 soluble (administrado vía intratumoral (i.t.)), se coadministra un anticuerpo anti CD73 (BioXCell) vía intraperitoneal (i.p.). En ratones CT26 con tumor, se analizaron las tasas de supervivencia.

- 35 Tabla 23: Grupos, tratamiento y dilución de ARN

Grupo	Nº ratones	Tratamiento i.t. (25 µg para cada componente)	Tratamiento i.p.	Programa vacunación
A	10	IL-12 + ARN adyuvante + PD-1 soluble	a-CD73	2x semana
B	10	IL-12 + ARN adyuvante + PD-1 soluble	IgG2a de rata	2x semana
C	10	RiLa	a-CD73	2x semana
D	10	RiLa	IgG2a de rata	2x semana

Desafío tumoral y administración de la composición aquí descrita:

- 40 El desafío tumoral se realizó de acuerdo con los experimentos previos (véase el Ejemplo 4). Los ratones fueron inyectados de acuerdo con el esquema indicado en la Tabla 23.

Los resultados del experimento se muestran en la Figura 6.

Resultados:

La Figura 6 muestra que el tratamiento intratumoral con IL-12 codificado con ARNm (R2763), sol-PD-1 codificado con ARNm (R3971) y ARN adyuvante (R2391) en combinación la administración i.p. de anticuerpos anti CD73 (Grupo "A" según la Tabla 23) dio como resultado un aumento estadísticamente significativo de la supervivencia en comparación con el grupo de control relevante, que solo recibió un anticuerpo anti CD73 (Grupo "C" según la Tabla 23) y un aumento de la tasa de supervivencia en comparación con el tratamiento con IL-12 + ARN adyuvante + soluble PD-1 y un anticuerpo de control (Rat IgG2a; BioXCell) (Grupo "B" de acuerdo con la Tabla 23).

10 Ejemplo 6: Tratamiento intratumoral con ARNm que codifica IL-12 en combinación con un ARN inmunoestimulador ("adyuvante de ARN") y un anticuerpo anti-CD137

La Tabla 24 resume el tratamiento como se usa en el presente ejemplo. Además del adyuvante de ARN y los constructos de ARNm que codifican IL-12 y PD-1 soluble (administrado vía intratumoral (i.t.)), se administró conjuntamente un anticuerpo anti CD137 (BioXCell) vía intraperitoneal (i.p.). En ratones CT26 con tumor desafiado, se analizaron las tasas de supervivencia.

15 Tabla 24: Grupos, tratamiento y dilución de ARN

Grupo	Nº ratones	Tratamiento i.t. (25 µg)	Tratamiento i.p.	Programa vacunación
A	10	IL-12 + ARN adyuvante + PD-1 soluble	a-CD137	2x semana
B	10	IL-12 + ARN adyuvante + PD-1 soluble	IgG2a de rata	2x semana
C	10	RiLa	a-CD137	2x semana
D	10	RiLa	IgG2a de rata	2x semana

Desafío tumoral y administración de la composición aquí descrita:

El desafío tumoral se realizó de acuerdo con los experimentos previos (véase el Ejemplo 4).

Los ratones fueron inyectados de acuerdo con el esquema indicado en la Tabla 24.

20 Los resultados del experimento se muestran en la Figura 7.

Resultados:

La Figura 7 muestra que el tratamiento intratumoral con IL-12 codificado con ARNm (R2763) sol-PD-1 (R3971) y adyuvante de ARN® (R2391) en combinación con la administración i.p. del anticuerpo anti CD-137 (Grupo "A" de acuerdo con la Tabla 24) resultó en un aumento significativo de la supervivencia en comparación con el grupo de control relevante, que solo recibió el anticuerpo anti CD-137 (Grupo "C" de acuerdo con la Tabla 24) y en un aumento de la tasa de supervivencia en comparación con el tratamiento con IL-12 + ARN adyuvante + PD-1 soluble y un anticuerpo de control (Rat IgG2a, BioXCell) (Grupo "B" de acuerdo con la Tabla 24).

25 Ejemplo 7: Tratamiento con un ARN inmunoestimulador ("adyuvante de ARN") en combinación con un inhibidor de punto de control anticuerpo anti PD-1

30 La Tabla 25 resume el tratamiento como se usa en el presente ejemplo. Además del adyuvante de ARN (administrado i.t.), se administró un inhibidor de punto de control anti PD-1 (BioXCell) i.p. En ratones CT26 con tumor desafiado, se analizaron las tasas de supervivencia.

Tabla 25: Grupos, tratamiento y dilución de ARN/dilución de anticuerpos

Grupo	Constructo	Anticuerpo	Cantidad de ARN (µg)	Programa vacunación
A	RiLa (i.t.)	-		2x semana
B	ARN adyuvante (i.t.)	Control Ab (i.p.) (100 µg)	25	2x semana
C	ARN adyuvante (i.t.)	Anti-PD-1 (i.p.) (200 µg)	25	2x semana
D	RiLa (i.t.)	Anti-PD-1 (i.p.) (200 µg)	-	2x semana

35 Desafío tumoral y administración de la composición inventiva:

El desafío tumoral se realizó de acuerdo con los experimentos previos (véase el Ejemplo 4).

Los ratones fueron inyectados de acuerdo con el esquema indicado en la Tabla 25.

Los resultados del experimento se muestran en la Figura 8.

Resultados:

- 5 La Figura 8 muestra que el tratamiento intratumoral (i.t.) con RNAdjuvant® (R2391) en combinación con la administración i.p. del anticuerpo anti PD-1 (Grupo "C" de acuerdo con la Tabla 25) produjo un aumento de la supervivencia en comparación con el grupo de control relevante, que solo recibió el anticuerpo anti PD-1 inhibidor del punto de control (Grupo "D" de acuerdo con la Tabla 25) y en un aumento de la tasa de supervivencia en comparación con el tratamiento con ARN adyuvante y un anticuerpo de control (anti-hámster IgG, BioXCell) (Grupo "B" de acuerdo con la Tabla 25).

10 **Ejemplo 8: Tratamiento intratumoral con un ARN inmunoestimulador ("adyuvante de ARN") y un ARNm que codifica el ligando CD40 (CD40L) y un ARNm que codifica IL-12**

La Tabla 26 resume el tratamiento tal como se utiliza en el presente ejemplo. El ARN adyuvante y los constructos de ARNm que codifican IL-12 y CD40L de murino se administraron intratumoralmente (i.t.). En los ratones estimulados con tumor CT26, se analizaron las tasas de supervivencia.

Tabla 26: Grupos, tratamiento y dilución de ARN

Grupo	Nº de ratones	Tratamiento i.t. (25 µg por ARN)	Programa de vacunación
A	8	IL-12 + ARN adyuvante + CD40L	2x semana
B	8	IL-12	2x semana
C	8	RiLa	2x semana

15 Desafío tumoral y administración de la composición aquí descrita:

El desafío tumoral se realizó de acuerdo con los experimentos previos (véase el Ejemplo 4).

Los ratones fueron inyectados de acuerdo con el esquema indicado en la Tabla 26.

Los resultados del experimento se muestran en la Figura 9.

Resultados:

- 20 Los resultados de la Figura 9 muestran que la composición aquí descrita que comprende un ARNm que codifica IL-12 y un ARNm que codifica CD40L en combinación con un ARN adyuvante (grupo "A" según la tabla 26) aumentó fuertemente la mediana de supervivencia de ratones con tumor desafiado en comparación con los otros tratamientos (grupos B-C según la tabla 26).

REIVINDICACIONES

1. Composición que contiene ARN para su uso en el tratamiento o la profilaxis de enfermedades tumorales y/o cancerosas, donde la composición que contiene el ARN comprende al menos un ARN codificante, comprendiendo al menos una región codificante que codifica al menos una citoquina, o un fragmento o variante de la misma,
5 donde la citoquina es interleuquina -12 (IL-12),
donde el fragmento o la variante tiene la misma función biológica o actividad específica en comparación con la proteína nativa de longitud completa,
donde el al menos un ARN codificante es un ARNm,
10 donde la composición que contiene ARN se aplica intratumoralmente y
donde el paciente ha recibido o recibe un modulador de punto de control seleccionado de un inhibidor de CTLA4 y un inhibidor de la ruta PD-1.
2. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 1, donde modulador de punto de es un anticuerpo anti-CTLA4, un anticuerpo anti-PD-1 o un anticuerpo anti-PD-L1.
- 15 3. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 1 o 2, donde la composición que contiene el ARN se aplica por inyección dentro de un tejido tumoral.
4. Composición que contiene ARN para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la composición comprende al menos un ARN adicional seleccionado del grupo consistente en ARN codificante y ARN no codificante.
- 20 5. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 4, donde el ARN codificante comprende al menos una región codificante que codifica para al menos un péptido o proteína y preferentemente se selecciona del grupo consistente en ARNm, ARN retroviral y ARN replicón.
6. Composición que contiene ARN para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el ARN codificante es ARNm.
- 25 7. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 5 o 6, donde el al menos un péptido o proteína se selecciona o se deriva del grupo consistente en citoquinas, quimioquinas, productos génicos suicidas, proteínas o péptidos inmunogénicos, inductores de la apoptosis, inhibidores de la angiogénesis, proteínas de choque térmico, antígenos tumorales, inhibidores de β -catenina, activadores de la ruta STING, moduladores de punto de control, activadores inmunitarios innatos, anticuerpos, receptores negativos dominantes y receptores señuelo, inhibidores de células supresoras derivadas mieloides (MDSC), inhibidores de la rutaIDO y proteínas y péptidos que se unen a inhibidores de la apoptosis.
- 30 8. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde la citoquina es una interleuquina, preferentemente seleccionada de la siguiente lista: IL-1 α , IL-1 β , IL-1ra, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL14, IL-15, IL-16, IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL27, IL-28A/B, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-35.
- 35 9. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde la citoquina es un miembro de la familia TNF, preferentemente seleccionada de la siguiente lista: TNF, especialmente TNF α , LT α , LT β , LIGHT, TWEAK, APRIL, BAFF, TL1A, GITRL, OX40L, CD40L, FASL, CD27L, CD30L, 4-1BBL, TRAIL, ligando RANK.
- 40 10. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde la citoquina se selecciona de la siguiente lista: ligando FLT3, G-CSF, GM-CSF, IFN $\alpha/\beta/\omega$, IFN γ , LIF, M-CSF, MIF, OSM, Factor de Células Madre, TGF β 1, TGF β 2, TGF β 3, ligando TSLP.
- 45 11. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde la quimioquina se selecciona elige de la siguiente lista: CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9/10, CCL11, CCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, XCL1, XCL2,
50 CX3CL1.
12. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde el producto génico suicida es una enzima suicida, preferentemente una enzima metabolizante de nucleótidos.

13. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 12, donde la enzima metabolizante de nucleótidos se selecciona de la siguiente lista: timidina-quinasa, preferentemente timidina-quinasa del virus Herpes simplex, citosina-desaminasa, preferentemente bacteriana, o citosina desaminasa de levadura, desoxinucleósido-quinasa, preferentemente desoxinucleósido-quinasa de *Drosophila melanogaster*, desoxicitidina-quinasa, preferentemente una desoxicitidinaquinasa de mamífero, purina-nucleósido-fosforilasa, preferentemente una purina-nucleósido-fosforilasa bacteriana.
14. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7 o 12 o 13, donde el al menos un ARN codifica para al menos una conexina y para al menos un producto génico suicida.
15. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7 o 12 o 13, donde la composición de ARN comprende al menos un ARN que codifica al menos un producto génico suicida y donde la composición de ARN se utiliza en combinación con un ARN adicional que codifica para al menos una conexina y/o con una proteína de la familia de la conexina o partes o fragmentos de la misma.
16. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde la proteína o el péptido inmunogénicos es una proteína o un péptido de un patógeno, preferentemente de un patógeno viral o bacteriano.
17. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 16, donde la proteína o el péptido inmunogénico es al menos una proteína o un péptido de un virus o bacteria patógeno de la siguiente lista: virus de la influenza tipo A o B o cualquier otro ortomixovirus (influenza tipo C), picornavirus, tal como rinovirus o virus de la hepatitis A, togavirus, tal como alfavirus o rubivirus, por ejemplo Sindbis, Bosque Semliki o rubeolavirus, virus de rubeola, coronavirus, en particular subtipos HCV-229E o HCV-OC43, rabdovirus, como virus de la rabia, paramixovirus, como virus de paperas, reovirus, como rotavirus del grupo A, B o C, hepadnavirus, como virus de la hepatitis B, papovirus, como virus de papiloma humano de cualquier serotipo, adenovirus, en particular tipo 1 a 47, virus de herpes, como virus de Herpes simplex 1, 2 o 3, citomegalovirus, preferentemente CMVpp65, virus de Epstein-Barr, virus vaccinia, bacteria *Chlamydomphila pneumoniae*, flavivirus, como virus del dengue tipo 1 a 4, virus de la fiebre amarilla, virus del Oeste del Nilo, virus de la encefalitis Japonesa, virus de la hepatitis C, calcivirus, filovirus, como virus de Ébola, bornavirus, bunyavirus, como virus de la fiebre del Valle del Rift, arenavirus, como virus de coriomeningitis linfocítica o virus de fiebre hemorrágica, retrovirus, como VIH, parvovirus.
18. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 16 o 17, donde el péptido o la proteína inmunogénicos se deriva de la nucleoproteína de la influenza.
19. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde el inductor de la apoptosis se selecciona del grupo consistente en la familia Bcl-2, proteína supresora tumoral p53, ligandos de los receptores de muerte transmembrana, especialmente la superfamilia del gen de receptor TNF, agonista del receptor pro-apoptótico y beclina-1.
20. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7 o 19, donde el inductor de la apoptosis se selecciona de la siguiente lista: Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik, Blk, Citocromo C, caspasas, especialmente caspasa 3, caspasa 6, caspasa 7, caspasa 8, caspasa 9, Dominio de muerte, especialmente Fas, preferentemente FasL, TNF α , Apo2L/TRAIL, agonista de DR4 y/o DR5, Apo3L, anticuerpo agonista DR4, anticuerpo agonista DR5, proteína quinasa R (PKR), granzima B.
21. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde el inhibidor de la angiogénesis se selecciona de la siguiente lista: IFN- α , IFN- β , IFN- γ , CXCL9, CXCL10, IL-12, PF-4, TNF- α , sFLT-1, FLK-1, angiostatina, endostatina, vasostatina, canstatina, tumstatina, fragmento de prolacina de 16 kD, TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TSP-1, TSP-2, maspina, PEX, sTie1, sTie2, angiopoyetina-1, angiopoyetina-2, anticuerpo anti-VEGFR2, anticuerpo anti-VEGF y anticuerpo anti-VEGFR1.
22. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde la proteína de choque térmico se selecciona de la siguiente lista: HSP27, HSP47, HSP60, HSP70, HSC70, GRP78, HSP90, HSP110, GRP94, GRP170, PDI/PDIA, CRT/CALR.
23. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde el antígeno tumoral se selecciona de la siguiente lista: 1A01_HLA-A/m; 1A02; 5T4; ACRBP; AFP; AKAP4; alfa-actinina-4/m; alfa-metilacil-coenzima_A_racemasa; ANDR; ART-4; ARTC1/m; AURKB; B2MG; B3GN5; B4GN1; B7H4; BAGE-1; BASI; BCL-2; bcr/abl; beta-catenina/m; BING-4; BIRC7; BRCA1/m; BY55; calreticulina; CAMEL; CASPA; Caspase_8; catepsina_B; catepsina_L; CD1A; CD1B; CD1C; CD1D; CD1E; CD20; CD22; CD276; CD33; CD3E; CD3Z; CD4; CD44_Isoforma_1; CD44_Isoforma_6; CD52; CD55; CD56; CD80; CD86; CD8A; CDC27/m; CDE30; CDK4/m; CDKN2A/m; CEA; CEAM6; CH3L2; CLCA2; CML28;

- CML66; COA-1/m; proteína tipo coactosina; colágeno_XXIII; COX-2; CP1B1; CSAG2; CT-₉/BRD6; CT45A1; CT55; CTAG2 Isoforma LAGE-1A; CTAG2 Isoforma LAGE-1B; CTCFL; Cten; cidina_B1; ciclina_D1; cyp-B; DAM10; DEP1A; E7; EF1A2; EFTUD2/m; EGFR; EGLN3; ELF2/m; EMMPRIN; EpCam; EphA2; EphA3; ErbB3; ERBB4; ERG; ETV6; EWS; EZH2; FABP7; FCGR3A_Version_1; FCGR3A_Version_2; FGF5; FGFR2; fibronectina; FOS; FOXP3; FUT1; G250; GAGE-1; GAGE-2; GAGE-3; GAGE-4; GAGE-5; GAGE-6; GAGE7b; GAGE-8_(GAGE-2D); GASR; GnT-V; GPC3; GPNMB/m; GRM3; HAGE; hepsina; Her2/neu; HLA-A2/m; homeobox_NKX3.1; HOM-TES85; HPG1; HS71A; HS71B; HST-2; hTERT; ICE; IF2B3; IL-10; IL-13Ra2; IL2-RA; IL2-RB; IL2-RG; IL-5; IMP3; ITA5; ITB1; ITB6; kallikrein-2; kallikrein-4; KI20A; KIAA0205; KIF2C; KK-LC-1; LDLR; LGMN; LIRB2; LY6K; MAGA5; MAGA8; MAGAB; MAGE-_{B1}; MAGE-_{E1}; MAGE-A1; MAGE-A10; MAGE-A12; MAGE-A2; MAGE-A3; MAGE-A4; MAGE-A6; MAGE-A9; MAGE-B10; MAGE-B16; MAGE-B17; MAGE-B2; MAGE-B3; MAGE-B4; MAGE-B5; MAGEB6; MAGE-C1; MAGE-C2; MAGE-C3; MAGE-D1; MAGE-D2; MAGE-D4; MAGE-E1_(MAGE1); MAGE-E2; MAGEF1; MAGE-H1; MAGEL2; mamaglobina_A; MART-1/melan-A; MART-2; MC1_R; M-CSF; mesotelina; MITF; MMP1_1; MMP7; MUC-1; MUM-1/m; MUM-2/m; MYO1A; MYO1B; MYO1C; MYO1D; MYO1E; MYO1F; MYO1G; MYO1H; NA17; NA88-A; Neo-PAP; NFYC/m; NGEP; N-myc; NPM; NRCAM; NSE; NUF2; NY-ESO-1; OA1; OGT; OS-9; osteocalcina; osteopontina; p53; PAGE-4; PAI-1; PAI-2; PAP; PATE; PAX3; PAX5; PD1L1; PDCD1; PDEF; PECA1; PGCB; PGFRB; Pim-1_Kinase; Pin-1; PLAC1; PMEL; PML; POTE; POTEF; PRAME; PRDX5/m; PRM2; proteína; proteinasa-3; PSA; PSB9; PSCA; PSGR; PSM; PTPRC; RAB8A; RAGE-1; RARA; RASH; RASK; RASN; RGS5; RHAMM/CD168; RHOC; RSSA; RU1; RU2; RUNX1; S-100; SAGE; SART-₁; SART-2; SART-3; SEPR; SERPINB5; SIA7F; SIA8A; SIAT9; SIRT2/m; SOX10; SP17; SPNXA; SPXN3; SSX-1; SSX-2; SSX3; SSX-4; ST1A1; STAG2; STAMP-1; STEAP-1; survivina; survivina-2B; SYCP1; SYT-SSX-1; SYT-SSX-2; TARP; TCRg; TF2AA; TGFbeta1; TGFR2; TGM-4; TIE2; TKTL1; TPI/m; TRGV11; TRGV9; TRPC1; TRP-p8; TSG10; TSPY1; TVC_(TRGV3); TX101; tirosinasa; TYRP1; TYRP2; UPA; VEGFR1; WT1; XAGE1.
24. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde el inhibidor de catenina- β se selecciona de la siguiente lista: TAT-NLS-BLBD-6, axina-1, TCF-4, GSK-3b, DKK-1, Dvl-1.
25. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde el activador de la ruta STING (estimulador de genes de interferón) es una proteína de activación o una proteína constitutivamente activa de la ruta STING, preferentemente de DDX41, STING, cGAS, IRF3, TBK1 o STAT6.
26. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde el modulador de punto de control es un modulador de B7-1/CD80, B7-2/CD86, B7-H1/PD-L1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, B7-H7/HHLA2, BTLA, CD28, CD28H/IGPR-1, CTLA-4, ICOS, PD-1, PD-L2/B7-DC, PDCD6, VISTA/B7-H5/PD-1H, BTN1A1/Butirofilina, BTN2A1, BTN2A2/Butirofilina 2A2, BTN3A1/2, BTN3A2, BTN3A3, BTNL2/tipo Butirofilina-2, BTNL3, BTNL4, BTNL6, BTNL8, BTNL9, BTNL10, CD277/BTN3A1, LAIR1, LAIR2, CD96, CD155/PVR, CRTAM, DNAM-1/CD226, Nectina-2/CD112, Nectina-3, TIGIT, LILRA3/CD85e, LILRA4/CD85g/ILT7, LILRB1/CD85j/ILT2, LILRB2/CD85d/ILT4, LILRB3/CD85a/ILT5, LILRB4/CD85k/ILT3, 4-1BB/TNFRSF9/CD137, ligando 4-1BB/TNFRSF9, BAFF/BLyS/TNFRSF13B, BAFF R/TNFRSF13C, CD27/TNFRSF7, ligando CD27/TNFRSF7, CD30/TNFRSF8, ligando CD30/TNFRSF8, CD40/TNFRSF5, ligando CD40/TNFRSF5, DR3/TNFRSF25, GITR/TNFRSF18, ligando GITR/TNFRSF18, HVEM/TNFRSF14, LIGHT/TNFRSF14, Linfotoxina-alfa/TNF-beta, OX40/TNFRSF4, ligando OX40/TNFRSF4, RELT/TNFRSF19L, TACI/TNFRSF13B, TL1A/TNFRSF15, TNF-alfa, TNF RII/TNFRSF1B, 2B4/CD244/SLAMF4, BLAME/SLAMF8, CD2, CD2F-10/SLAMF9, CD48/SLAMF2, CD58/LFA-3, CD84/SLAMF5, CD229/SLAMF3, CRACC/SLAMF7, NTB-A/SLAMF6, SLAM/CD150, TIM-1/KIM-1/HAVCR, TIM-3, TIM-4, CD7, CD96, CD160, CD200, CD300a/LMIR1, CRTAM, DAP12, Dectin-1/CLEC7A, DPPIV/CD26, EphB6, integrina alfa 4 beta 1, integrina alfa 4 beta 7/LPAM-1, LAG-3, TIM-1/KIM-1/HAVCR, TIM-4, TSLP R, o cualquier combinación de los mismos.
27. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7 o 26, donde el modulador de punto de control se selecciona del grupo consistente en un anticuerpo agonista, un anticuerpo antagonista, un receptor negativo dominante, un receptor señuelo y un ligando.
28. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 27, donde el anticuerpo antagonista se dirige contra PD-1, PD-L1 o CTLA-4.
29. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 27, donde el anticuerpo agonista se dirige contra OX-40.
30. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 27, donde el receptor señuelo es un receptor de PD-1 soluble.

31. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7, donde el anticuerpo es un anticuerpo agonista, un anticuerpo antagonista o un anticuerpo neutralizante.
32. Composición que contiene ARN para su uso según la reivindicación 7 o 31, donde el anticuerpo se dirige contra un antígeno tumoral o contra un antígeno asociado a tumor.

5

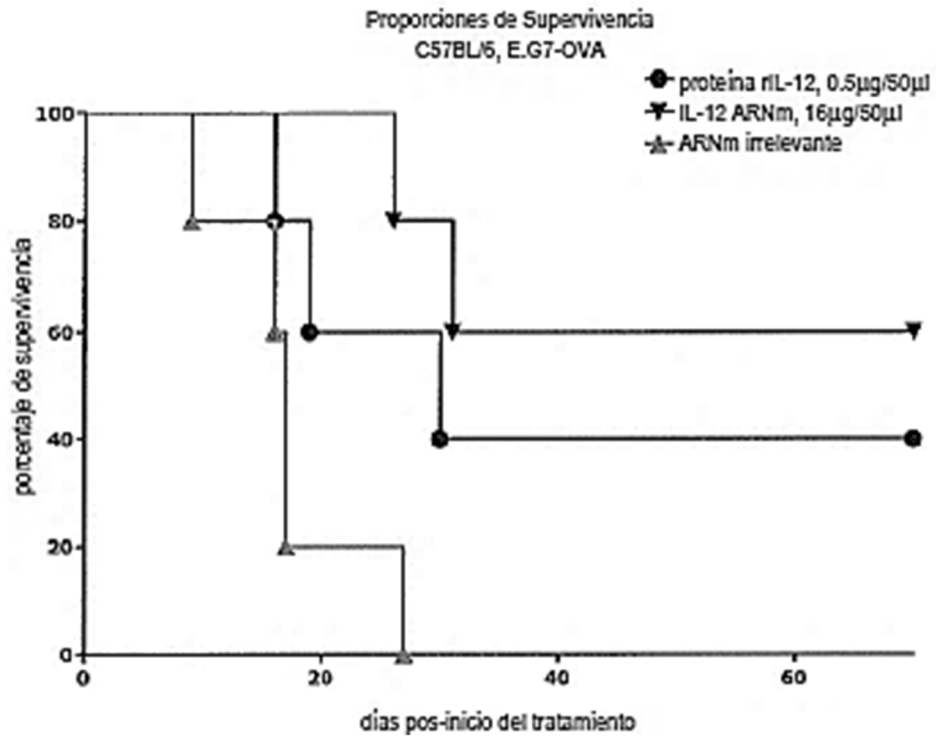


Fig. 1

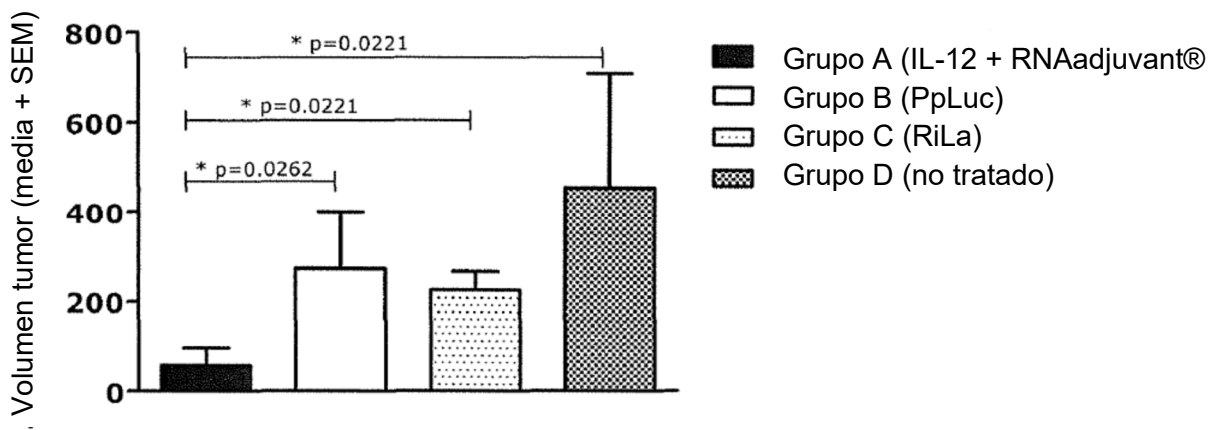


Fig. 2

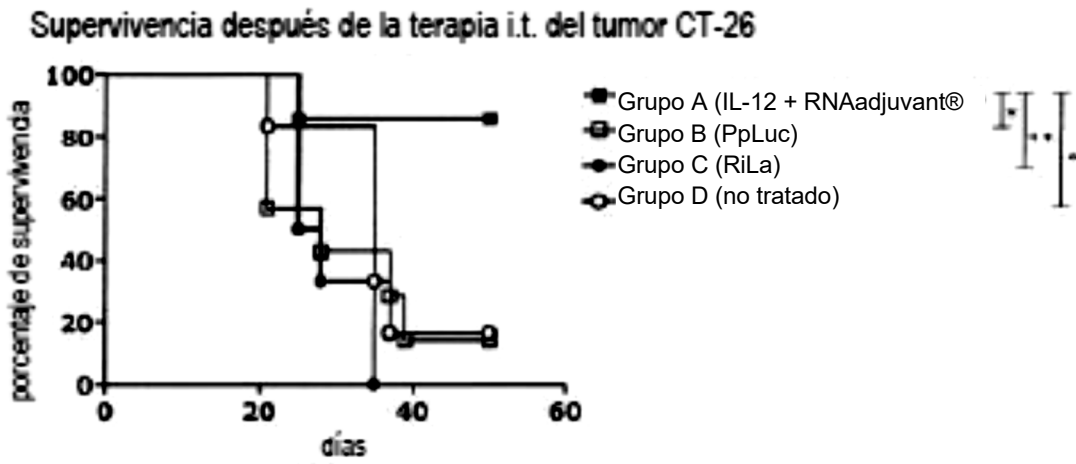


Fig. 3

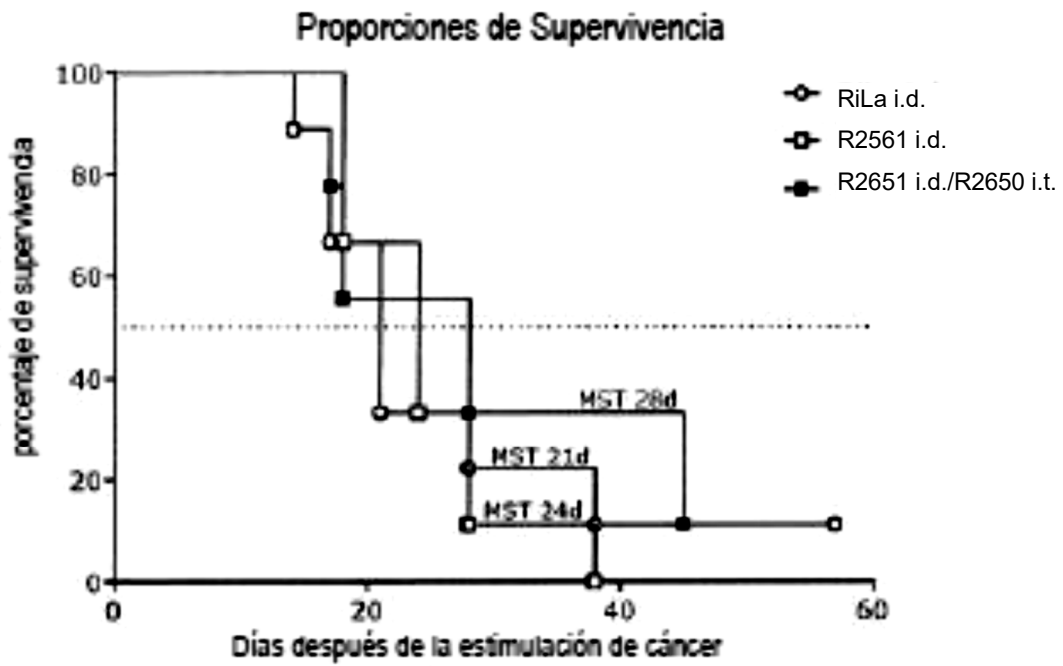


Fig. 4

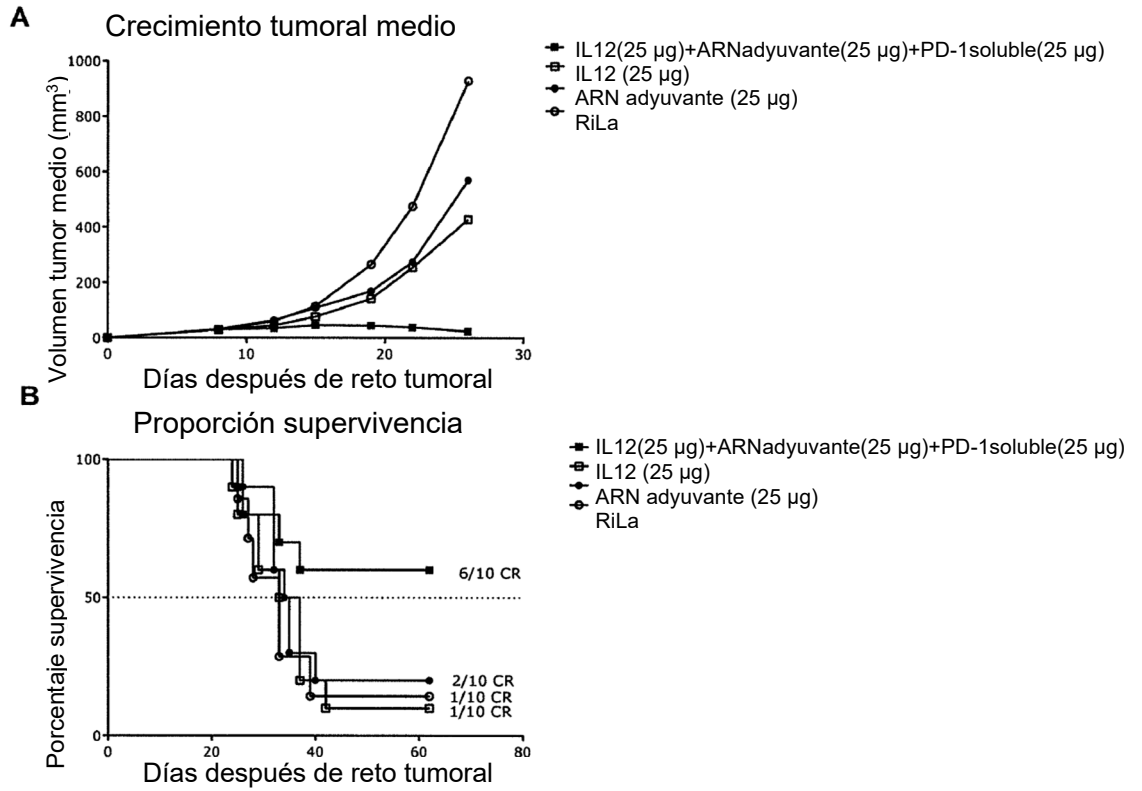


Fig. 5

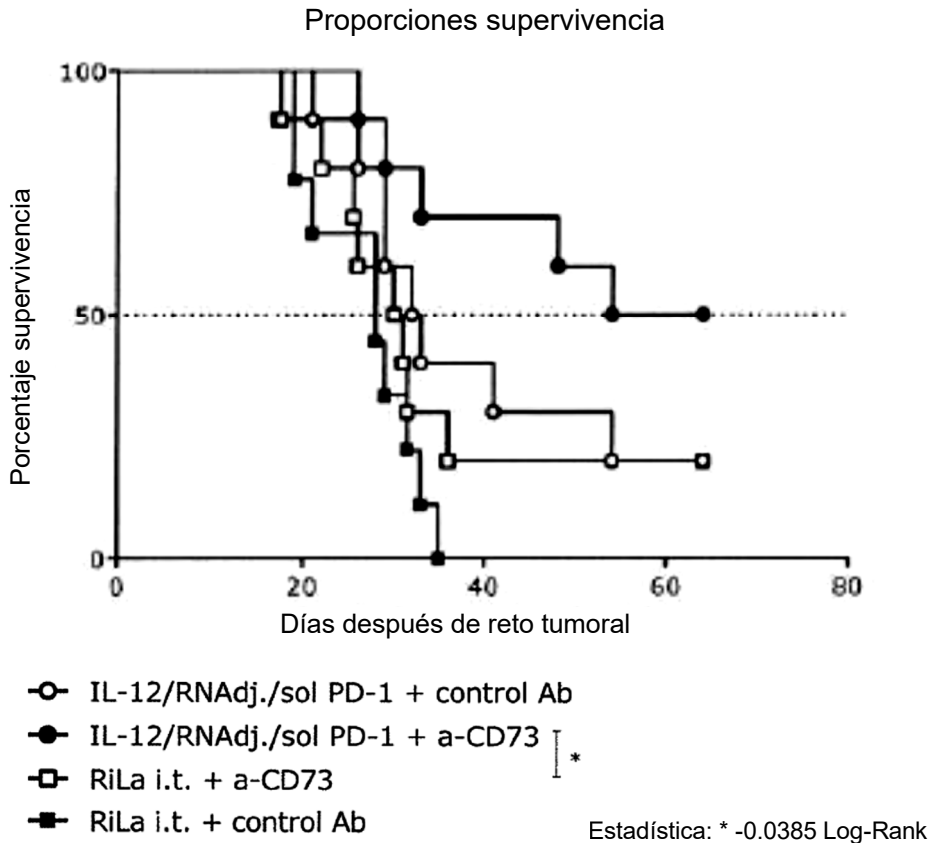


Fig. 6

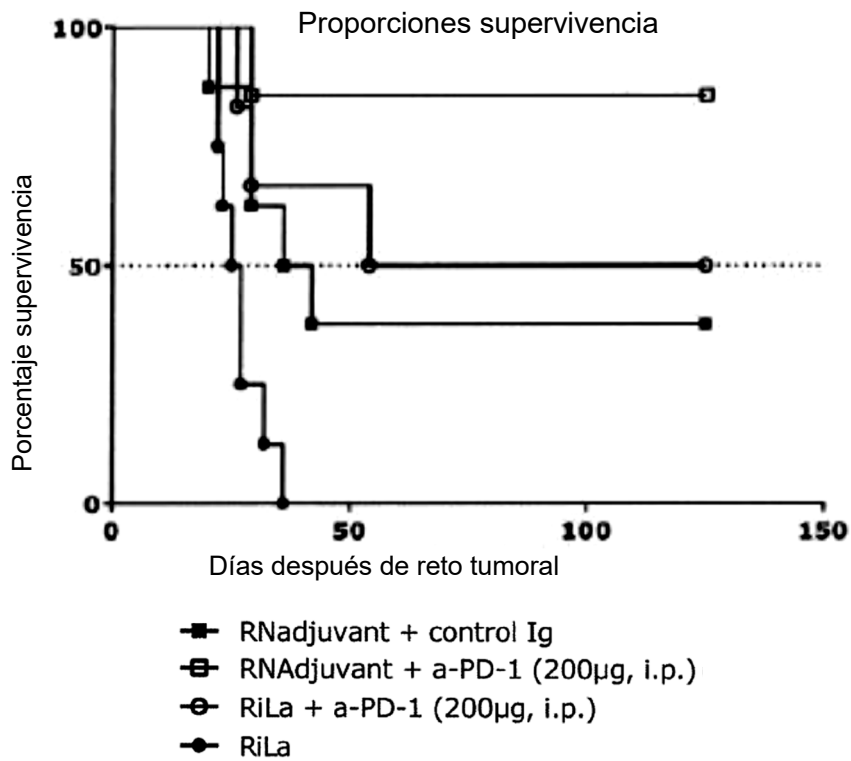
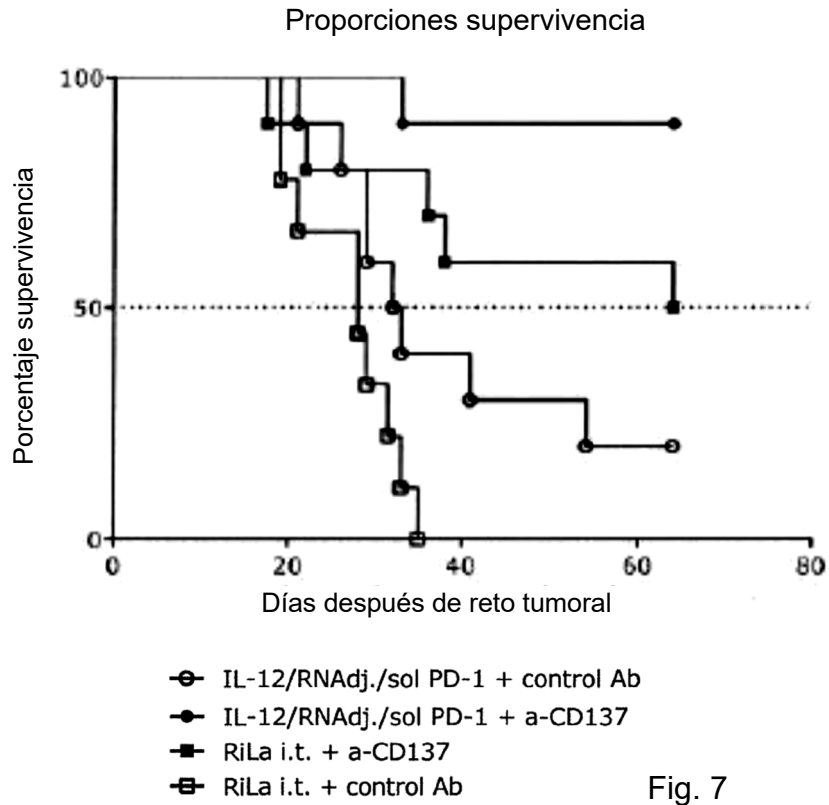


Fig. 8

Proporciones supervivencia después de tratamiento i.t.

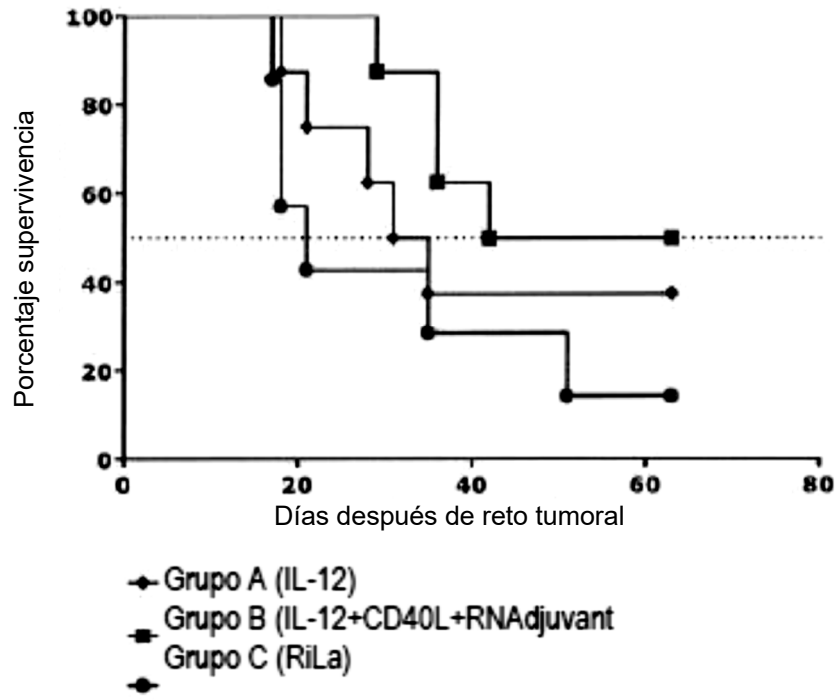


Fig. 9

Secuencia de ARNm que codifica CD40L murino (R3571)

GGGGCGCUGCCUACGGAGGUGGCAGCCAUCUCCUUCUCGGCAUCAAGCUUACCAUGAUCG
AGACCUACAGCCAGCCCUCGCGGGAGCGUGGCCACCGGCCUGCCCGCCUCCAUGAAGA
UCUUCAUGUACCUCUGACGGUCUUCUGAUCACCCAGAUGAUCGGGAGCGUGCUCUUCG
CGGUGUACCUGCACCGCCGGCUGGACAAGGUCGAGGAGGAGGUGAACCUCCACGAGGACU
UCGUGUUCAUCAAGAAGCUGAAGCGCUGCAACAAGGGCGAGGGGUGCCUGAGCCUCCUGA
ACUGCGAGGAGAUGC GGCGCCAGUUCGAGGACCUGGUCAAGGACAUCACCCUCAACAAGG
AGGAGAAGAAGGAGAACUCCUUCGAGAUGCAGCGGGGCGACGAGGACCCCCAGAUCGCCG
CCCACGUGGUGAGCGAGGCCAACUCCAACGCCGCGAGCGUCCUGCAGUGGGCCAAGAAGG
GGUACUACACCAUGAAGUCCAACCUGGUGAUGCUCGAGAACGGCAAGCAGCUGACGGUGA
AGCGCGAGGGCCUGUACUACGUCUACACCCAGGUGACCUUCUGCAGCAACCGGGAGCCCU
CCAGCCAGCGCCCGUUCAUCGUGGGGCUCUGGCUGAAGCCUCCAGCGGCUCGAGCGGA
UCCUGCUCAAGGCCGCCAACACCCACAGCUCAGCCAGCUGUGCGAGCAGCAGAGCGUCC
ACCUGGGCGGCGUGUUCGAGCUCAGGCCGGGGGCCUCCGUGUUCGUAACGUGACGGAGG
CCAGCCAGGUGAUCCACCGCGUCGGGUUCUCCAGCUUCGGCCUGCUGAAGCUCUGAGGAC
UAGUGCAUCACAUUUAAAAGCAUCUCAGCCUACCAUGAGAAUAAGAGAAAGAAAAUGAAG
AUCAAUAGCUUAUUCUUCUUCUUUUUCUUUUUCGUUGGUGUAAAGCCAACCCUGUCUAA
AAAACAUAUUUUUUUUAUUAUUUUGCCUCUUUUUCUCUGUGCUUCAUUUAUUAAAAAU
GGAAAGAACCUAGAUCUAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAUGCAUCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCAAA
GGCUCUUUUCAGAGCCACCAGAAU

Fig. 10