



\* B R 1 2 2 0 2 4 0 0 5 3 6 0 A 2 \*

República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,  
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 122024005360-8 A2

(22) Data do Depósito: 18/09/2015

(43) Data da Publicação Nacional:  
19/12/2017

(54) **Título:** MÉTODOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE UM PACIENTE COM CÂNCER DE BEXIGA QUE É RESPONSIVO AO TRATAMENTO COM UM INIBIDOR DO FGFR E KIT

(51) **Int. Cl.:** C12Q 1/68.

(30) **Prioridade Unionista:** 26/09/2014 US 62/056,159.

(71) **Depositante(es):** JANSSEN PHARMACEUTICA N.V..

(72) **Inventor(es):** JAYAPRAKASH KARKERA; SUSO JESUS PLATERO.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2015050996 de 18/09/2015

(87) **Publicação PCT:** WO 2016/048833 de 31/03/2016

(85) **Data da Fase Nacional:** 18/03/2024

(62) **Pedido original do dividido:** BR112017006088-4 - 18/09/2015

(57) **Resumo:** MÉTODOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE UM PACIENTE COM CÂNCER DE BEXIGA QUE É RESPONSIVO AO TRATAMENTO COM UM INIBIDOR DO FGFR E KIT. A presente invenção refere-se a métodos para a identificação de um paciente com câncer que será responsivo ao tratamento com um inibidor do receptor do fator de crescimento de fibroblasto (FGFR) e métodos para o tratamento de pacientes com câncer. Os métodos envolvem a avaliação de uma amostra biológica obtida do paciente quanto à presença de um ou mais mutantes de FGFR a partir de um painel de genes FGFR mutantes. Kits e iniciadores para a identificação da presença de um ou mais genes FGFR mutantes em uma amostra biológica são também apresentados na presente invenção.

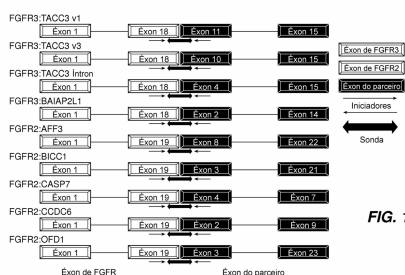


FIG. 1

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para  
**"MÉTODOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE UM PACIENTE COM  
CÂNCER DE BEXIGA QUE É RESPONSIVO AO TRATAMENTO COM  
UM INIBIDOR DO FGFR E KIT".**

Dividido do BR112017006088-4, depositado em 18.09.2015.

REFERÊNCIA REMISSIVA A PEDIDOS RELACIONADOS

[001] Este pedido reivindica a prioridade do pedido provisório U.S. nº 62/056.159, depositado em 26 de setembro de 2014, cuja descrição está aqui incorporada em sua totalidade, a título de referência.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

[002] O presente pedido contém uma listagem de sequências que foi submetida eletronicamente em formato ASCII e está aqui incorporada a título de referência, em sua totalidade. A referenciada cópia ASCII, criada em quinta-feira, 6 de agosto de 2015, tem o nome de 103693.000782\_SL.txt e tamanho de 66.185 bytes.

CAMPO DA TÉCNICA

[003] São apresentados aqui métodos para a identificação de um paciente com câncer que seja responsivo ao tratamento com um inibidor do receptor de fator de crescimento de fibroblastos e métodos de tratamento do mesmo.

ANTECEDENTES

[004] A identificação de anomalias genéticas pode ser útil na seleção da(s) terapia(s) adequada(s) para pacientes com câncer. Isto também é útil para pacientes com câncer que não respondem à principal opção terapêutica (terapia de linha de frente) para aquele tipo de câncer, particularmente se não houver padrão de tratamento aceito para terapia de segunda linha e subsequente. Os receptores do fator de crescimento de fibroblastos (FGFRs) são uma família de receptores de tirosina quinase envolvidos na regulação da sobrevivência, proliferação, migração e diferenciação celular. Alterações de FGFR foram

observadas em alguns tipos de câncer. Até hoje, não há terapias aprovadas que sejam eficazes em pacientes com alterações de FGFR.

### SUMÁRIO

[005] São apresentados na presente invenção métodos para identificação de um paciente com câncer que seja responsivo ao tratamento com um inibidor do receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR) compreendendo: avaliar uma amostra biológica obtida do paciente para um mutante de FGFR a partir de um painel de genes FGFR mutantes, sendo que o mutante de FGFR é um gene de fusão de FGFR ou um polimorfismo de um nucleotídeo único de FGFR, e sendo que a dita avaliação compreende amplificar cDNA com um par de iniciadores que se ligam e amplificam um ou mais mutantes do de FGFR a partir do painel de genes mutantes; e determinar se o um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes está presente na amostra, sendo que a presença do um ou mais mutantes de FGFR indica que o paciente será responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR.

[006] São apresentados, também, métodos para o tratamento de câncer em um paciente compreendendo: avaliar uma amostra biológica obtida do paciente quanto à presença de um ou mais mutantes de FGFR a partir do painel de genes FGFR mutantes; e o tratamento do paciente com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra.

[007] Kits e iniciadores para a identificação da presença de um ou mais genes mutantes de FGFR em uma amostra biológica são ainda fornecidos na presente invenção.

### BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[008] O sumário, bem como a descrição detalhada a seguir, é adicionalmente compreendido quando lido em conjunto com os desenhos anexos. Com o propósito de ilustrar os métodos, kits e iniciadores apresentados, são mostradas nos desenhos as modalidades

exemplificadoras dos métodos, kits e iniciadores; entretanto, os métodos, kits e iniciadores não estão limitados às modalidades específicas apresentadas. Nos desenhos:

[009] A **Figura 1** é uma ilustração de genes de fusão de FGFR exemplificadores, sendo que a presença de ao menos um destes indica se um paciente será responsivo ao tratamento com um inibidor de FGFR. Também são ilustrados (setas pequenas) locais de iniciadores exemplificadores para a amplificação dos genes de fusão.

[0010] A **Figura 2**, compreendendo as figuras 2A-2I, representa os resultados do sequenciamento de Sanger de amostras positivas para FFPET para: A) FGFR3:TACC3 v1; B) FGFR3:TACC3 v3; C) FGFR3:íntron TACC3; D) FGFR3:BAIAP2L1; E) FGFR2:AFF3; F) FGFR2:BICC1; G) FGFR2:CASP7; H) FGFR2:CCDC6; e I) FGFR2:OFD1.

[0011] A **Figura 3** ilustra um exemplo de estratégia para qRT-PCR SNP-específica usando um oligonucleotídeo bloqueador de 3' didesóxi do tipo selvagem (WT).

[0012] A **Figura 4** ilustra uma estratégia de validação analítica exemplificadora para detectar SNPs de FGFR. Experimentos foram realizados em linhagens celulares RK3E manipuladas que expressam as fusões de FGFR e diluídas em uma linhagem celular de tipo selvagem não contendo fusões FGFR3/FGFR2.

[0013] A **Figura 5**, compreendendo as figuras 5A a 5D, ilustra a PCR SNP-específica com bloqueador de didesóxi WT para (a) G370C, (B) Y373C, (C) S249C, e (D) R248C.

[0014] A **Figura 6**, compreendendo as figuras 6A a 6I, representa as curvas padrão de eficiência para os ensaios com o gene de fusão de FGFR: A) FGFR3:TACC3 v1; B) FGFR3:TACC3 v3; C) FGFR3:íntron TACC3; D) FGFR3:BAIAP2L1; E) FGFR2:AFF3; F) FGFR2:BICC1; G) FGFR2:CASP7; H) FGFR2:CCDC6; e I) FGFR2:OFD1.

[0015] A **Figura 7** é um exemplo de representação do estado do gene de fusão de FGFR em câncer de bexiga (primário e metastático), NSCLC (adenocarcinoma e escamoso), ovariano, de esôfago (primário e metastático), cabeça e pescoço (H&N primário e metastático), endometrial (metastático), de mama e de próstata.

[0016] A **Figura 8** é um exemplo de representação de gene de fusão de FGFR e do estado da mutação em adenocarcinoma NSCLC e carcinoma de células escamosas.

[0017] A **Figura 9**, compreendendo as figuras 9A a 9D, representa os resultados exemplificadores das amostras de pacientes de fase I. Os ensaios foram realizados com o uso do ensaio de controle de molde sintético (ST), iniciadores para GAPDH (amostra de controle de qualidade) ou iniciadores específicos para: A) fusões de FGFR2:BICC1; B) fusões de FGFR3:TACC3 (éxon 18:éxon 1); C) fusões de FGFR2:CCDC6; ou D) fusões de FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, ou FGFR2:CCDC6. As amostras de pacientes são as seguintes: A - carcinoma urotelial; B - câncer de bexiga; C - colangiocarcinoma; e D - carcinoma adrenal.

[0018] A **Figura 10** representa um delineamento de estudo de fase I exemplificador para um estudo pioneiro em humanos de JNJ-42756493 em pacientes com tumores sólidos avançados.

[0019] A **Figura 11** representa a porcentagem de redução inibitória máxima da soma dos diâmetros das lesões alvo a partir da linha de base com um nível de dosagem maior que ou igual a 6 mg. Os pacientes com tumores sólidos foram tratados com inibidor de FGFR JNJ-42756493 em diferentes doses administradas como um regime diário ou como um regime de dosagem intermitente (7 dias sim-7 dias não). As doses e os tipos de tumor são indicados. A redução no tumor foi medida de acordo com os critérios RECIST. Pacientes cujos tumores carregam translocações e mutações do gene FGFR parecem ser mais sensíveis

ao inibidor de FGFR JNJ-42756493.

[0020] A **Figura 12** ilustra a expressão de várias fusões de FGFR em células RK3E estavelmente transfectadas com a fusão de FGFR indicada.

[0021] A **Figura 13**, compreendendo as figuras 13A a 13B, ilustra os ensaios de formação de colônias em células RK3E transfectadas estavelmente com a fusão de FGFR indicada. (A) câmaras de 6 poços coradas com cristal violeta de cresila a 0,1% e (B) gráfico de barras ilustrando o número de colônias/100 células plaqueadas. Os resultados são representativos de dois experimentos independentes.

[0022] A **Figura 14**, compreendendo as figuras 14A a 14H, ilustra a expressão de exemplos de alvos a jusante em células RK3E estavelmente transfectadas com fusão de FGFR indicada.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DAS MODALIDADES ILUSTRATIVAS

[0023] Os presentes métodos, kits e iniciadores podem ser compreendidos mais prontamente por referência à seguinte descrição detalhada considerada em conjunto com as figuras em anexo, que fazem parte desta descrição. Deve ser compreendido que os métodos, kits e iniciadores revelados não são limitados aos métodos, kits e iniciadores descritos e/ou mostrados aqui, e que a terminologia usada na presente invenção tem o propósito de descrever as modalidades particulares apenas a título de exemplo e não se destina a limitar a invenção reivindicada.

[0024] A referência a um valor numérico específico inclui ao menos aquele valor específico, a menos que o contexto claramente indique em contrário. Quando é expressa uma faixa de valores, uma outra modalidade inclui desde um valor específico e/ou até o outro valor específico. Adicionalmente, a referência aos valores indicados nas faixas incluem todo e cada valor dentro dessa faixa. Todas as faixas são inclusivas e combináveis.

[0025] Deve-se considerar que certas características dos métodos, kits e iniciadores apresentados que são, para maior clareza, aqui descritas no contexto de modalidades separadas, podem também ser fornecidas em combinação em uma única modalidade. Inversamente, várias características dos métodos, kits e iniciadores apresentados que são, por brevidade, descritas no contexto de uma única modalidade, podem também ser fornecidas separadamente ou em qualquer subcombinação.

[0026] Para uso na presente invenção, as formas no singular "um", "uma", "o" e "a" incluem as formas no plural.

[0027] As abreviações a seguir são usadas por todo o relatório descritivo. FGFR (receptor do fator de crescimento de fibroblastos); LLOQ (limite inferior de quantificação); FGFR3:TACC3 (fusão entre os genes que codificam FGFR3 e a proteína de transformação 3 contendo espiral ácida); FGFR3: BAIAP2L1 (fusão entre os genes que codificam FGFR3 e a proteína semelhante à proteína 2 associada ao inibidor de angiogênese cérebro-específico 1); FGFR2: AFF3 (fusão entre os genes que codificam FGFR2 e a família AF4/FMR2, elemento 3); FGFR2: BICC1 (fusão entre os genes que codificam FGFR2 e homólogo C 1 bicaudal); FGFR2: CASP7 (fusão entre os genes que codificam FGFR2 e caspase 7); FGFR2: CCDC6 (fusão entre os genes que codificam FGFR2 e a proteína 6 contendo domínio em espiral); FGFR2: OFD1 (fusão entre os genes que codificam FGFR2 e a proteína 1 da síndrome oral-facial-digital); FFPET (tecido incluído em parafina fixado em formalina); SNP (polimorfismo de nucleotídeo único); NSCLC (câncer de pulmão de células não-pequenas), ct (limiar de ciclo).

[0028] Para uso na presente invenção, "tratamento" e termos similares referem-se à redução da gravidade e/ou frequência dos sintomas de câncer, eliminação dos sintomas de câncer e/ou da causa subjacente dos ditos sintomas, redução da frequência ou da

probabilidade dos sintomas de câncer e/ou de sua causa subjacente e melhoria ou reparo de danos causados diretamente ou indiretamente pelo câncer.

[0029] "Amostra biológica" refere-se a qualquer amostra de um paciente na qual as células cancerosas podem ser obtidas e o RNA isolado. As amostras biológicas adequadas incluem, mas não se limitam, a sangue, fluido linfático, medula óssea, amostra de tumor sólido ou qualquer combinação das mesmas. Em algumas modalidades, a amostra biológica pode ser FFPET.

[0030] Para uso na presente invenção, "pré-amplificação" refere-se a um procedimento de PCR que é realizado antes da etapa de amplificação de modo a aumentar a quantidade de cDNA molde para a etapa de amplificação. Uma etapa de pré-amplificação pode ser realizada, por exemplo, usando mistura mestre TaqMan® PreAmp(Life Technologies/Applied Biosystems® n° do produto 4391128).

[0031] Para uso na presente invenção, "amplificação" e "amplificar," e termos similares, referem-se à geração de diversas cópias idênticas de uma amostra de ácido nucléico. As técnicas adequadas para a amplificação de uma amostra de ácido nucléico incluem, mas não se limitam, à reação em cadeia da polimerase (PCR) e reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). Em algumas modalidades, a etapa de amplificação compreende RT-PCR.

#### MUTANTES DE FGFR

[0032] Como usado aqui, a expressão "mutante de FGFR" refere-se a um gene de fusão de FGFR, a um polimorfismo de nucleotídeo único de FGFR ou a ambos.

[0033] "Fusão de FGFR" ou "gene de fusão de FGFR" refere-se a um gene que codifica FGFR (por exemplo, ou FGFR2 ou FGFR3), ou a uma porção do mesmo, e um dos parceiros de fusão aqui apresentados, ou porção dos mesmos, criada por uma translocação entre os dois



genes. A presença de um ou mais dos seguintes genes de fusão de FGFR em uma amostra biológica obtida de um paciente pode ser determinada usando os métodos apresentados: FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR2:OFD1 ou qualquer combinação dos mesmos. A tabela 1 fornece os genes de fusão de FGFR e os éxons do parceiro de fusão que são fundidos. A figura 1 fornece uma ilustração dos vários genes de fusão de FGFR. As sequências dos genes de fusão de FGFR individuais são apresentadas na tabela 16.

**TABELA 1**

<b>Gene de fusão</b>	<b>Éxon de FGFR</b>	<b>Éxon do parceiro</b>
FGFR3:TACC3 v1	18	11
FCFR3:TACC3 v3	18	10
FGFR3:íntron TACC3	18	4
FGFR3:BAIAP2L1	18	2
FGFR2:AFF3	19	8
FGFR2:BICC1	19	3
FGFR2:CASP7	19	4
FGFR2:CCDC6	19	2
FGFR2:OFD1	19	3

[0034] "Polimorfismo de nucleotídeo único de FGFR" (SNP) refere-se a um gene de FGFR2 ou de FGFR3 no qual um único nucleotídeo difere entre os indivíduos. Em particular, o "polimorfismo de nucleotídeo único de FGFR" (SNP) refere-se a um gene FGFR3 no qual um único nucleotídeo difere entre os indivíduos. A presença de um ou mais dos seguintes SNPs de FGFR em uma amostra biológica obtida de um paciente pode ser determinada usando os métodos apresentados: FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, FGFR3 Y373C ou qualquer combinação dos mesmos. As sequências dos SNPs de PCR são mencionadas na Tabela 2.

TABELA 2

Mutante de FGFR3	Sequência
FGFR3 R248C	TCGGACCGCGGCAACTACACCTGCGTCGTGGAGAACAAGTTT GGCAGCATCCGGCAGACGTACACGCTGGACGTGCTGGAG( <b>T</b> )G CTCCCCGCACCGGCCCATCCTGCAGGCGGGGCTGCCGGCCA ACCAGACGGCGGTGCTGGGCAGCGACGTGGAGTTCCACTGC AAGGTGTACAGTGACGCACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAG CACGTGGAGGTGAATGGCAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCAC ACCCTACGTTACCGTGCTCA (SEQ ID n°:1)
FGFR3 S249C	GACCGCGGCAACTACACCTGCGTCGTGGAGAACAAGTTTGGC AGCATCCGGCAGACGTACACGCTGGACGTGCTGGGTGAGGG CCCTGGGGCGGCGCGGGGGTGGGGGCGGCAGTGGCGGTGG TGGTGAGGGAGGGGGTGGCCCCTGAGCGTCATCTGCCCCCA CAGAGCGCT( <b>G</b> )CCCGCACCGGCCCATCCTGCAGGCGGGGCT GCCGGCCAACCAGACGGCGGTGCTGGGCAGCGACGTGGAGT TCCACTGCAAGGTGTACAGTGACGCACAGCCCCACATCCAGT GGCTCAAGCACGTGGAGGTGAATGGCAGCAAGGTGGGCCCG GACGGCACACCCTACGTTACCGTGCTCAAGGTGGGCCACCGT GTGCACGT (SEQ ID n°:2)
FGFR3 G370C	GCGGGCAATTCTATTGGGTTTTCTCATCACTCTGCGTGGCTGG TGGTGCTGCCAGCCGAGGAGGAGCTGGTGGAGGCTGACGAG GCG( <b>T</b> )GCAGTGTGTATGCAGGCATCCTCAGCTACGGGGTGGG CTTCTTCTGTTTCATCCTGGTGGTGGCGGCTGTGACGCTCTGC CGCCTGCGCAGCCCCCCCCAAGAAAGGCCTGGGCTCCCCCAC CGTGCAAGATCTCCCGCTTCCCG (SEQ ID n°:3)
FGFR3 Y373C*	CTAGAGGTTCTCTCCTTGCACAACGTCACCTTTGAGGACGCCG GGGAGTACACCTGCCTGGCGGGCAATTCTATTGGGTTTTCTCA TCACTCTGCGTGGCTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT GGTGGAGGCTGACGAGGGCGGGCAGTGTGT( <b>G</b> )TGCAGGCATC CTCAGCTACGGGGTGGGCTTCTTCTGTTTCATCCTGGTGGTGG GCGGCTGTGACGCTCTGCCGCCTGCGCAGCCCCCCCCAAGAAA GGCCTGGGCTCCCCACCGTGCACAAGATCTCCCGCTTCCCG CTCAAGC (SEQ ID n°:4)

[0035] As sequências correspondem aos nucleotídeos 920 a 1510 de FGFR3 (n° de ID do Genbank NM\_000142.4).

[0036] Os nucleotídeos sublinhados e em negrito representam o SNP.

- Às vezes erroneamente chamado Y375C na literatura.

[0037] Como usado aqui, "painel de genes FGFR mutantes" inclui um ou mais dos mutantes de FGFR acima mencionados. Em algumas

modalidades, o painel de genes FGFR mutantes depende do tipo de câncer do paciente.

[0038] O painel de mutantes de FGFR que é usado na etapa de avaliação dos métodos apresentados se baseia, em parte, no tipo de câncer no paciente. Para pacientes com câncer de bexiga, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0039] Para pacientes com câncer de bexiga metastático, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0040] Para pacientes com câncer de ovário, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0041] Para pacientes com câncer de cabeça e pescoço, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0042] Para pacientes com câncer de cabeça e pescoço metastático, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0043] Para pacientes com câncer de esôfago, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR2:BICC1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C,

FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0044] Para pacientes com câncer de esôfago metastático, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0045] Para pacientes com adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0046] Para pacientes com carcinoma de células escamosas de pulmão de células não pequenas, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0047] Para pacientes com câncer endometrial metastático, um painel de genes FGFR mutantes adequado pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos.

[0048] Para pacientes com câncer de mama, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos.

INICIADORES PARA AMPLIFICAR OS MUTANTES DE FGFR

[0049] O versado na técnica sabe que a amplificação de ácidos nucleicos exige iniciadores de que são complementares, e se ligam a uma região 5' e uma 3' da fita de ácido nucleico que flanqueia a região que se deseja amplificar. Como usado aqui, "par de iniciador" refere-se aos iniciadores de sentido direto e reverso usados em uma etapa de amplificação. Os pares de iniciadores adequados para realizar os métodos apresentados são listados na Tabela 3.

**TABELA 3**

Alvo	Iniciador de sentido direto	Iniciador reverso 5'-3'
FGFR3:TACC3 V1	GACCTGGACCGTGTCTTACC (SEQ ID n°:5)	CTTCCCAGTTCCAGGTTCTT (SEQ ID n°:6)
FGFR3:TACC3 V3	AGGACCTGGACCGTGTCTT (SEQ ID n°:7)	TATAGGTCCGGTGGACAGGG (SEQ ID n°:8)
FGFR3:intron TACC3	GGCCATCCTGCCCC (SEQ ID n°:9)	GAGCAGTCCAGGTCAGCCAG (SEQ ID n°:10)
FGFR3:BAIAP2 L1	CTGGACCGTGTCTTACCGT (SEQ ID n°:11)	GCAGCCCAGGATTGAACTGT (SEQ ID n°:12)
FGFR2:BICC1	TGGATCGAATTCTCACTCTCA CA (SEQ ID n°:13)	GCCAAGCAATCTGCGTATTT G (SEQ ID n°:14)
FGFR2:AFF3	TGGTAGAAGACTTGGATCGAA TTCT (SEQ ID n°:15)	TCTCCCGGATTATTTCTTCAA CA (SEQ ID n°:16)
FGFR2:CASP7	GCTCTTCAATACAGCCCTGAT CA (SEQ ID n°:17)	ACTTGGATCGAATTCTCACTC TCA (SEQ ID n°:18)
FGFR2:CCDC6	TGGATCGAATTCTCACTCTCA CA (SEQ ID n°:19)	GCAAAGCCTGAATTTTCTTGA ATAA (SEQ ID n°:20)
FGFR2:OFD1	AGGGTGCATCAACTCATGAAT TAG (SEQ ID n°:21)	ACTTGGATCGAATTCTCACTC TCA (SEQ ID n°:22)
FGFR3 R248C	GCATCCGGCAGACGTACA (SEQ ID n°:23)	CCCCGCCTGCAGGAT (SEQ ID n°:24)
FGFR3 S249C	GCATCCGGCAGACGTACA (SEQ ID n°:25)	CCCCGCCTGCAGGAT (SEQ ID n°:26)
FGFR3 G370C	AGGAGCTGGTGGAGGCTGA (SEQ ID n°:27)	CCGTAGCTGAGGATGCCTG (SEQ ID n°:28)
FGFR3 Y373C	CTGGTGGAGGCTGACGAG (SEQ ID n°:29)	AGCCACCCCGTAGCT (SEQ ID n°:30)

<b>Alvo</b>	<b>Iniciador de sentido direto</b>	<b>Iniciador reverso 5'-3'</b>
FGFR3 R248C	GTCGTGGAGAACAAGTTTGGC (SEQ ID n°:31)	GTCTGGTTGGCCGGCAG (SEQ ID n°:32)
FGFR3 S249C	GTCGTGGAGAACAAGTTTGGC (SEQ ID n°:33)	GTCTGGTTGGCCGGCAG (SEQ ID n°:34)
FGFR3 G370C	AGGAGCTGGTGGAGGCTGA (SEQ ID n°:35)	CCGTAGCTGAGGATGCCTG (SEQ ID n°:36)
FGFR3 Y373C	GACGAGGCGGGCAGTG (SEQ ID n°:37)	GAAGAAGCCCACCCCGTAG (SEQ ID n°:38)

[0050] São aqui apresentados iniciadores que possuem a sequência de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, ou qualquer combinação das mesmas.

[0051] Também são aqui apresentados conjuntos de iniciadores com as sequências da SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8, SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 e SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38, ou qualquer combinação das mesmas.

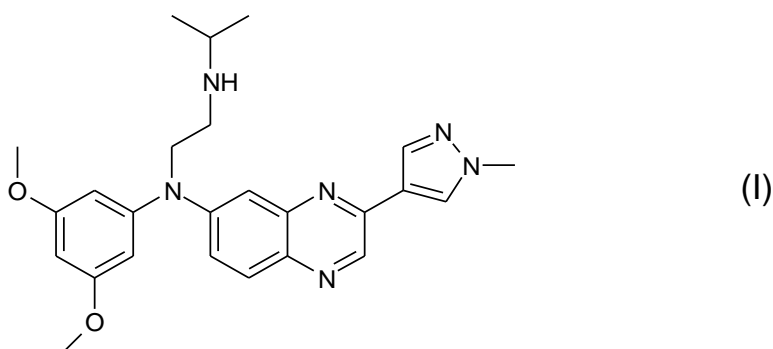
[0052] Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 7 e SEQ

ID NO: 8. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 29 e SEQ ID NO: 30. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter a sequência da SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38. Em algumas modalidades, o conjunto de iniciadores pode ter as sequências de qualquer combinação dos conjuntos de iniciadores acima.

INIBIDORES DE FGFR PARA USO NOS MÉTODOS APRESENTADOS

[0053] Os inibidores de FGFR adequados para uso nos métodos apresentados são aqui fornecidos.

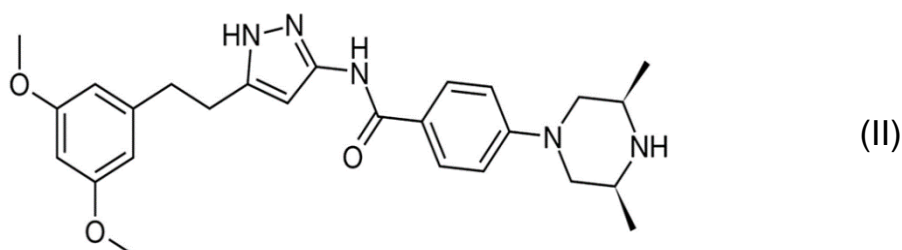
[0054] Em algumas modalidades, se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR descrito na pub. U.S. N° 2013/0072457 A1 (aqui incorporada por referência), incluindo qualquer forma tautomérica ou estereoquimicamente isomérica dos mesmos, e um *N*-óxido dos mesmos, um sal farmacologicamente aceitável dos mesmos ou um solvato dos mesmos (os grupos R adequados também são apresentados na pub. U.S. n° 2013/0072457 A1). Em alguns aspectos, por exemplo, o paciente pode ser tratado com *N*-(3,5-dimetóxi-fenil)-*N'*-(1-metiletil)-*N*-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina (mencionado neste documento como "JNJ-42756493" ou "JNJ493"):



inclusive um *N*-óxido do mesmo, um sal farmacologicamente aceitável do mesmo ou um solvato do mesmo. Em alguns aspectos, o sal farmacologicamente aceitável é o sal de HCl. Em alguns aspectos, o paciente pode ser tratado com uma base de JNJ493.

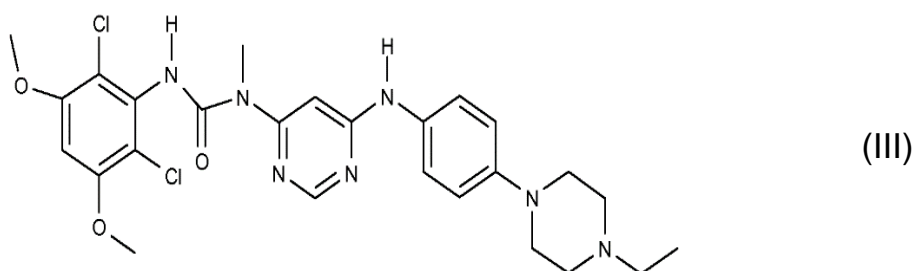
[0055] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é *N*-[5-[2-(3,5-dimetoxifenil)etil]-2H-pirazol-3-il]-4-(3,5-dimetilpiperazin-1-il) benzamida (AZD4547), conforme descrito em Gavine, P.R., *et al.*, AZD4547: An Orally Bioavailable, Potent, and Selective Inhibitor of the Fibroblast Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Family, *Cancer Res.* 15 de abril de 2012 72; 2045:





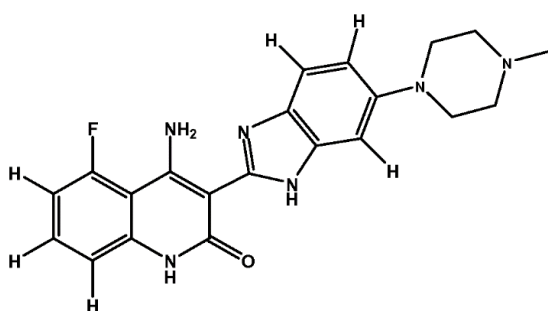
inclusive, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou estereoquimicamente isomérica do mesmo, um N-óxido do mesmo, um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou um solvato do mesmo.

[0056] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é 3-(2,6-dicloro-3,5-dimetóxi-fenil)-1-{6-[4-(4-etil-piperazin-1-il)-fenilamino]-pirimid-4-il}-1-metil-urea (NVP-BGJ398), como descrito na Publ. Inter. n° WO2006/000420:



inclusive, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou estereoquimicamente isomérica do mesmo, um N-óxido do mesmo, um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou um solvato do mesmo.

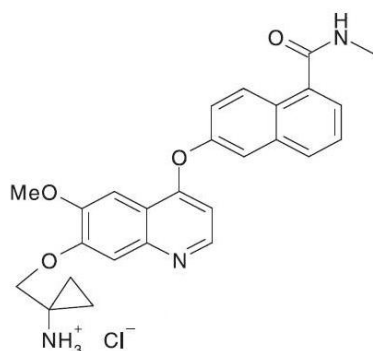
[0057] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é 4-amino-5-fluoro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzimidazol-2-il]-1H-quinolin-2-ona (dovitinibe), conforme descrito na publicação internacional n° WO2006/127926:



(IV)

inclusive, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou estereoquimicamente isomérica do mesmo, um N-óxido do mesmo, um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou um solvato do mesmo.

[0058] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é 6-(7-((1-aminociclopropil)-metóxi)-6-metoxiquinolin-4-ilóxi)-N-metil-1-naftamida (AL3810) (lucitanibe; E-3810), conforme descrito em Bello, E. *et al.*, E-3810 Is a Potent Dual Inhibitor of VEGFR and FGFR that Exerts Antitumor Activity in Multiple Preclinical Models, *Cancer Res* 15 de fevereiro de de 2011 71(A)1396-1405 e na publicação internacional n° WO2008/112408:



(V)

inclusive, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou estereoquimicamente isomérica do mesmo, um N-óxido do mesmo, um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou um solvato do mesmo.

[0059] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com

um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é um anticorpo anti-FGFR2 conforme descrito em WO2013/076186.

[0060] Os inibidores de FGFR adequados adicionais incluem BAY1163877 (Bayer), BAY1179470 (Bayer), TAS-120 (Taiho), ARQ087 (ArQule), ASP5878 (Astellas), FF284 (Chugai), FP-1039 (GSK/FivePrime), Blueprint, LY-2874455 (Lilly), RG-7444 (Roche) ou qualquer combinação dos mesmos, incluindo, quando quimicamente possível, quaisquer formas tautoméricas ou esteroquimicamente isoméricas dos mesmos, N-óxidos dos mesmos, sais farmacologicamente aceitáveis dos mesmos ou solvatos dos mesmos.

[0061] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é BAY1163877 (Bayer), incluindo, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou esteroquimicamente isomérica do mesmo, N-óxido do mesmo, um sal farmacologicamente aceitável do mesmo ou solvato do mesmo.

[0062] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é BAY1179470 (Bayer), incluindo, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou esteroquimicamente isomérica do mesmo, N-óxido do mesmo, um sal farmacologicamente aceitável do mesmo ou solvato do mesmo.

[0063] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é TAS-120 (Taiho), incluindo, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou esteroquimicamente isomérica do mesmo, N-óxido do mesmo, um sal

farmaceuticamente aceitável do mesmo ou solvato do mesmo.

[0064] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é ARQ087 (ArQule), incluindo, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou esteroquimicamente isomérica do mesmo, N-óxido do mesmo, um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou solvato do mesmo.

[0065] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é ASP5878 (Astellas), incluindo, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou esteroquimicamente isomérica do mesmo, N-óxido do mesmo, um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou solvato do mesmo.

[0066] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é FF284 (Chugai), incluindo, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou esteroquimicamente isomérica do mesmo, N-óxido do mesmo, um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou solvato do mesmo.

[0067] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é FP-1039 (GSK/FivePrime), incluindo, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou esteroquimicamente isomérica do mesmo, N-óxido do mesmo, um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo ou solvato do mesmo.

[0068] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem

presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é Blueprint, incluindo, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou esteroquimicamente isomérica do mesmo, N-óxido do mesmo, um sal farmacologicamente aceitável do mesmo ou solvato do mesmo.

[0069] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é LY-2874455 (Lilly), incluindo, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou esteroquimicamente isomérica do mesmo, N-óxido do mesmo, um sal farmacologicamente aceitável do mesmo ou solvato do mesmo.

[0070] Em algumas modalidades, o paciente pode ser tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é RG-7444 (Roche), incluindo, quando quimicamente possível, qualquer forma tautomérica ou esteroquimicamente isomérica do mesmo, N-óxido do mesmo, um sal farmacologicamente aceitável do mesmo ou solvato do mesmo.

[0071] Os sais podem ser sintetizados a partir de um composto original que contém uma porção ácida ou básica por métodos químicos convencionais tais como os métodos descritos em *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, capa dura, 388 páginas, Agosto de 2002, que está aqui incorporado por referência. Geralmente, tais sais podem ser preparados reagindo as formas de ácido ou base livre desses compostos com a base ou o ácido apropriado em água ou em um solvente orgânico, ou em uma mistura dos dois; geralmente, meios não aquosos como éter, acetato de etila, etanol, isopropanol ou acetonitrila são usados. Os inibidores de FGFR para uso nos métodos apresentados podem existir como mono ou dissais, dependendo do pKa

do ácido a partir do qual o sal é formado.

[0072] Sais de adição de ácido podem ser formados com uma ampla variedade de ácidos inorgânicos e orgânicos. Exemplos de sais de adição de ácido incluem sais formados com um ácido, incluindo, mas não se limitando a, ácido acético, 2,2-dicloroacético, adípico, algínico, ascórbico (por exemplo, L-ascórbico), L-aspártico, benzenossulfônico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+) canfórico, canforsulfônico, (+)-(1S)-canfor-10-sulfônico, cáprico, caproico, caprílico, cinâmico, cítrico, ciclâmico, dodecilsulfúrico, etano-1,2-dissulfônico, etanossulfônico, 2-hidroxietanossulfônico, fórmico, fumárico, galactárico, gentísico, glucoheptônico, D-glucônico, glicurônico (por exemplo, D-glicurônico), glutâmico (por exemplo L-glutâmico),  $\alpha$ -oxoglutárico, glicólico, hipúrico, bromídrico, clorídrico, ácido hidriódico, isetiônico, láctico (por exemplo (+)-L-láctico, ( $\pm$ )-DL-láctico), lactobiônico, maleico, málico, (-)-L-málico, malônico, ( $\pm$ )-DL-mandélico, metanossulfônico, naftalenossulfônico (por exemplo, naftaleno-2-sulfônico), naftaleno-1,5-dissulfônico, 1-hidróxi 2-naftoico, nicotínico, nítrico, oléico, orótico, oxálico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiônico, L-piroglutâmico, pirúvico, salicílico, 4-amino-salicílico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tânico, (+)-L-tartárico, tiociânico, toluenossulfônico (por exemplo, *p*-toluenossulfônico), undecilênico e valérico, bem como amino ácidos acilados e resinas de troca de cátions.

[0073] Um grupo particular de sais consiste nos sais formados de ácido acético, clorídrico, hidriódico, fosfórico, nítrico, sulfúrico, cítrico, láctico, succínico, maleico, málico, isetiônico, fumárico, benzenossulfônico, toluenossulfônico, metanossulfônico (mesilato), etanossulfônico, naftalenossulfônico, valérico, propanoico, butanoico, malônico, glicurônico e lactobiônico. Outro grupo de sais de adição de ácido inclui sais formados dos ácidos acético, adípico, ascórbico,

aspártico, cítrico, DL-lático, fumárico, glicônico, glicurônico, hipúrico, clorídrico, glutâmico, DL-málico, metanossulfônico, sebácico, esteárico, succínico e tartárico.

[0074] Se o composto for aniônico, ou tiver um grupo funcional que pode ser aniônico (por exemplo,  $-\text{COOH}$  pode ser  $-\text{COO}^-$ ), então um sal pode ser formado com um cátion adequado. Exemplos de cátions inorgânicos adequados incluem, mas não se limitam, a íons de metal alcalino como  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ , cátions de metal alcalino-terroso como  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  e outros cátions, como  $\text{Al}^{3+}$ . Exemplos de cátions orgânicos adequados incluem, mas não se limitam a íon amônio (isto é,  $\text{NH}_4^+$ ) e íons de amônio substituídos (por exemplo,  $\text{NH}_3\text{R}^+$ ,  $\text{NH}_2\text{R}_2^+$ ,  $\text{NHR}_3^+$ ,  $\text{NR}_4^+$ ).

[0075] Exemplos de alguns íons amônio substituídos adequados são aqueles derivados de: etilamina, dietilamina, dicitlo-hexilamina, trietilamina, butilamina, etilenodiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, benzilamina, fenilbenzilamina, colina, meglumina e trometamina, assim como aminoácidos, como lisina e arginina. Um exemplo de um íon de amônio quaternário comum é  $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$ .

[0076] Quando os compostos contêm uma função amina, estes podem formar sais de amônio quaternário, por exemplo, pela reação com um agente alquilante de acordo com métodos bem conhecidos do versado na técnica. Esses compostos de amônio quaternário estão dentro do escopo dos compostos apresentados. Compostos contendo uma função amina também podem formar N-óxidos. Uma referência aqui a um composto que contém uma função amina também inclui o N-óxido. Quando um composto contém várias funções amina, um ou mais de um átomo de nitrogênio pode ser oxidado para formar um N-óxido. Exemplos particulares de N-óxidos são os N-óxidos de uma amina terciária ou um átomo de nitrogênio de um heterociclo contendo nitrogênio. Os N-óxidos podem ser formados pelo tratamento da amina correspondente com um

agente oxidante como peróxido de hidrogênio ou um perácido (por exemplo, um ácido peroxicarboxílico), veja, por exemplo, *Advanced Organic Chemistry*, by Jerry March, 4ª edição, Wiley Interscience, páginas Mais particularmente, os N-óxidos podem ser preparados pelo procedimento de L. W. Deady (*Syn. Comm.* (1977), **7**, 509-514) sendo que o composto de amina reage com ácido *m*-cloroperoxibenzoico (MCPBA), por exemplo, em um solvente inerte, tal como diclorometano.

[0077] Como usado aqui, o termo "solvato" significa uma associação física do composto com uma ou mais moléculas de solvente. Essa associação física envolve diferentes graus de ligação iônica e covalente, incluindo ligação ao hidrogênio. Em determinadas instâncias, o solvato será capaz de isolamento, por exemplo, quando uma ou mais moléculas de solvente são incorporadas na retícula de cristal do sólido cristalino. O termo "solvato" destina-se a abranger solvatos isoláveis e em fase de solução. Alguns exemplos não-limitadores de solvatos adequados incluem os compostos apresentados em combinação com água, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etila, ácido acético, etanolamina e similares. O composto pode exercer seus efeitos biológicos enquanto em solução.

[0078] Os solvatos são bem conhecidos na química farmacêutica. Eles podem ser importantes para os processos para a preparação de uma substância (por exemplo, em relação a sua purificação), para o armazenamento da substância (por exemplo, sua estabilidade) e para a facilidade de manuseio da substância, e são frequentemente formados como parte do estágio de isolamento ou purificação de uma síntese química. Uma pessoa versada na técnica pode determinar, por meio de técnicas padrão e há muito utilizadas, se um hidrato ou outro solvato se formou pelas condições de isolamento ou pelas condições de purificação usadas para preparar um dado composto. Exemplos de tais técnicas incluem uma análise termogravimétrica (TGA), calorimetria de



varredura diferencial (DSC), cristalografia de raios X (por exemplo cristalografia de raios X de cristal único ou de difração de raios X em forma de pó) e de RMN de estado sólido (SS-RMN, também conhecido como "Magic Angle Spinning NMR" ou "MAS-NMR"). Tais técnicas são uma parte do kit de ferramentas analítico padrão do químico versado como RMN, IV, HPLC e MS. Alternativamente, o versado na técnica pode formar deliberadamente um solvato com o uso de condições de cristalização que incluem uma quantidade de um solvente necessário para o solvato específico. Em seguida, os métodos padrão descritos podem ser usados para estabelecer se solvatos se formaram. Também são abrangidos quaisquer complexos (por exemplo, complexos de inclusão ou clatratos com compostos como ciclodextrinas, ou complexos com metais) do inibidor de FGFR.

[0079] Além disso, o composto pode ter uma ou mais formas polimórficas (cristalinas) ou amorfas.

[0080] Os compostos incluem os compostos com uma ou mais substituições isotópicas, e uma referência a um elemento particular inclui em seu escopo todos os isótopos do elemento. Por exemplo, uma referência a hidrogênio inclui em seu escopo  $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$  (D), e  $^3\text{H}$  (T). De modo similar, referências a carbono e oxigênio incluem em seu escopo, respectivamente,  $^{12}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{14}\text{C}$ , e  $^{16}\text{O}$  e  $^{18}\text{O}$ . Os isótopos podem ser radioativos ou não radioativos. Em uma modalidade, os compostos não contêm isótopos radioativos. Tais compostos são preferidos para uso terapêutico. Em outra modalidade, entretanto, o composto pode conter um ou mais radioisótopos. Os compostos contendo tais radioisótopos podem ser úteis em um contexto de diagnóstico.

[0081] Em algumas modalidades, o paciente é tratado com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra, sendo que o inibidor de FGFR é N-(3,5-dimetóxi-fenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il) quinoxalin-6-il]etano-

1, 2-diamina (chamado aqui "JNJ-42756493"), ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, ou um solvato do mesmo.

### MÉTODOS DE TRATAMENTO DE CÂNCER EM UM PACIENTE

[0082] São aqui apresentados métodos para o tratamento de câncer em um paciente compreendendo: avaliar uma amostra biológica obtida do paciente quanto à presença de um ou mais mutantes de FGFR a partir do painel de genes FGFR mutantes; e o tratamento do paciente com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra.

[0083] Os métodos apresentados podem ser usados para tratar uma variedade de tipos de câncer incluindo, mas não se limitando a câncer de bexiga, câncer de bexiga metastático, câncer de ovário, câncer de cabeça e pescoço, câncer de cabeça e pescoço metastático, câncer de esôfago, câncer de esôfago metastático, adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas, carcinoma de células escamosas de pulmão de células não pequenas, câncer de próstata, câncer de pulmão, câncer gástrico, carcinoma urotelial, câncer de pulmão de células pequenas, câncer de mama, câncer endometrial, câncer endometrial metastático, colangiocarcinoma, carcinoma hepatocelular, glioblastoma, gliomas, carcinoma de cólon, sarcomas, tumores sólidas de origem escamosa e mieloma múltiplo.

[0084] O painel de mutantes de FGFR que é usado na etapa de avaliação se baseia, em parte, no tipo de câncer do paciente. Para pacientes com câncer de bexiga, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em

algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 R248C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 S249C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 G370C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 Y373C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0085] Para pacientes com câncer de bexiga metastático, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Conseqüentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas

modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 R248C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 S249C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 G370C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 Y373C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de bexiga metastático é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0086] Para pacientes com câncer de ovário, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

Consequentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 R248C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 S249C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 G370C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 Y373C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de ovário é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0087] Para pacientes com câncer de cabeça e pescoço, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, um paciente

que tem câncer de cabeça e pescoço é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço é tratado com um inibidor de FGFR FGFR3 se FGFR3 R248C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:S249C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:G370C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:Y373C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0088] Para pacientes com câncer de cabeça e pescoço metastático, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos. Conseqüentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FRFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FRFR2:OFD1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço metastático é tratado com um inibidor de

FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0089] Para pacientes com câncer de esôfago, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR2:BICC1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Conseqüentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 R248C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 S249C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 G370C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 Y373C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0090] Para pacientes com câncer de esôfago metastático, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes, pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3,

FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos. Conseqüentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:íntron TACC3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CCD6 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:OFD1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0091] Para os pacientes com adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas (NSCL), por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron



TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:íntron TACC3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 R248C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 S249C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 G370C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 Y373C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0092] Para pacientes com carcinoma de células escamosas de pulmão de células não pequenas (NSCL), um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Conseqüentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CCDC6 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 R248C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 S249C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de

NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 G370C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 Y373C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0093] Para pacientes com câncer endometrial metastático, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes adequado pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:íntron TACC3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CCDC6 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:OFD1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem

câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0094] Para pacientes com câncer de mama, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:íntron TACC3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CCD6 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:OFD1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR

acima estiver presente na amostra.

[0095] Para pacientes com carcinoma hepatocelular, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR2:OFD1, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:íntron TACC3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CCDC6 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:OFD1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 R248C estiver presente na amostra.

Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 S249C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 G370C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 Y373C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[0096] Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende: isolar o RNA da amostra biológica; sintetizar o cDNA a partir do RNA isolado; pré-amplificar o cDNA; e amplificar o cDNA pré-amplificado com um par de iniciadores que se ligam e amplificam um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes FGFR mutantes.

[0097] O isolamento de RNA a partir da amostra biológica pode ser realizado por vários procedimentos conhecidos pelo versado na técnica. Em uma modalidade, o RNA pode ser isolado da amostra biológica usando um kit AllPrep DNA/RNA FFPE da Qiagen (produto n° 80234).

[0098] A síntese de cDNA a partir do RNA isolado pode ser realizada por uma variedade de procedimentos conhecidos pelo versado na técnica. Em uma modalidade, o cDNA pode ser sintetizado a partir de RNA isolado com o uso de um kit de transcriptase reversa de cDNA de alta capacidade com inibidor de RNase da ABI (produto n° 4374966).

[0099] A pré-amplificação do cDNA pode ser realizada por uma variedade de procedimentos conhecidos pelo versado na técnica. Os procedimentos de amplificação são bem conhecidos na técnica. Em uma modalidade, o cDNA pode ser pré-amplificado usando uma mistura mestre TaqMan® PreAmp (Life Technologies/Applied Biosystems® produto n° 4391128).

[00100] Em algumas modalidades, a etapa de amplificação pode compreender executar PCR em tempo real (qRT-PCR). Os procedimentos de qRT-PCR exemplificadores são discutidos na seção de exemplos da presente invenção. Em alguns aspectos, a qRT-PCR pode ser um ensaio de PCR em tempo real Taqman®. Os procedimentos qRT-PCR podem envolver o uso de sondas para aumentar a especificidade do ensaio. As sondas adequadas para uso no ensaio de qRT-PCR incluem qualquer uma das sondas aqui apresentadas, por exemplo, as sondas reveladas na tabela 15. Em algumas modalidades, por exemplo, a PCR em tempo real pode ser realizada em uma ou mais sondas que compreendem SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 e/ou SEQ ID NO: 55. Em outras modalidades, a PCR em tempo real pode ser realizada com uma ou mais sondas que consistem essencialmente na SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 e/ou SEQ ID NO: 55. Em outras modalidades, a PCR em tempo real pode ser realizada com uma ou mais sondas que consistem na SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 e/ou SEQ ID NO: 55. Em outras modalidades, a PCR em tempo real pode ser realizada com uma ou mais sondas que tem SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 e/ou SEQ ID NO: 55.

[00101] A qRT-PCR pode ser realizada com um ou mais

oligonucleotídeos de bloqueio 3'. Os procedimentos de qRT-PCR exemplificadores que usam oligonucleotídeos de bloqueio 3' são apresentados na seção de exemplos da presente invenção. Os oligonucleotídeos de bloqueio 3' adequados incluem, por exemplo, aqueles apresentados na Tabela 8. Em algumas modalidades, qRT-PCR pode ser realizada com um ou mais oligonucleotídeos de bloqueio 3' compreendendo a SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 e/ou SEQ ID NO: 42. Em algumas modalidades, qRT-PCR pode ser realizada com um ou mais oligonucleotídeos de bloqueio 3' que consistem essencialmente na SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 e/ou SEQ ID NO: 42. Em algumas modalidades, qRT-PCR pode ser realizada com um ou mais oligonucleotídeos de bloqueio 3' que consistem na SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 e/ou SEQ ID NO: 42. Em algumas modalidades, qRT-PCR pode ser realizada com um ou mais oligonucleotídeos de bloqueio 3' que têm a SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 e/ou SEQ ID NO: 42.

[00102] Os pares adequados de iniciadores para uso na etapa de amplificação incluem aqueles apresentados na Tabela 3. Por exemplo, em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR3:TACC3 v1 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR3:TACC3 v3 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 7 e SEQ ID NO: 8. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR3:íntron TACC3 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR3: BAIAP2L1 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12. Em algumas



modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR2:BICC1 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR2:AFF3 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR2:CASP7 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR2:CCDC6 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR2:OFD1 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser R248C e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24 ou SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser S249C e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26 ou SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser G370C e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28 ou SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser Y373C e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 29 e SEQ ID NO: 30 ou SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima apresentados e do par correspondente de iniciadores.

[00103] Em algumas modalidades, a etapa de amplificação pode ser

realizada com o seguinte:

- a. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 43;
- b. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 44;
- c. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 46;
- d. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 47;
- e. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 45;
- f. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 48;
- g. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 49;
- h. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 50;
- i. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 51;
- j. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 52;
- k. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 53;
- l. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 54;
- m. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 29 e SEQ ID NO: 30 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 55;
- n. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 52; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' tem a sequência da SEQ ID NO: 39;

o. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 53; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' tem a sequência da SEQ ID NO: 40;

p. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 54; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' tem a sequência da SEQ ID NO: 41;

q. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 55; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' tem a sequência da SEQ ID NO: 42; ou

r. e combinações dos mesmos.

[00104] Os métodos apresentados compreendem o tratamento de um paciente se um ou mais mutantes de FGFR estiverem presentes na amostra. A presença de um ou mais mutantes de FGFR na amostra pode ser determinada, por exemplo, por sequenciamento do cDNA amplificado.

[00105] Os inibidores de FGFR adequados para uso nos métodos de tratamento incluem aqueles anteriormente descritos na presente invenção.

[00106] Também são apresentados inibidores de FGFR para uso no tratamento de câncer em um paciente, sendo que o paciente é identificado como responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR por avaliação de uma amostra biológica obtida da paciente para a presença de um ou mais mutantes de FGFR a partir de um painel de genes FGFR mutantes, sendo que a presença do um ou mais mutantes de FGFR amostra é detectada.

[00107] São apresentados, também, inibidores de FGFR para uso no tratamento de câncer em um paciente sendo que o paciente é identificado como responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR por avaliação de uma amostra biológica obtida do paciente para a presença de um ou mais mutantes de FGFR a partir do painel de genes FGFR

mutantes, sendo que o um ou mais mutantes de FGFR são um gene de fusão de FGFR ou SNP de FGFR, sendo que a presença de um ou mais mutantes de FGFR na amostra é detectada, e sendo que a dita avaliação compreende amplificar o cDNA com um par de iniciadores que se ligam e amplificam um ou mais mutantes de FGFR a partir do painel de genes FGFR mutantes.

[00108] São apresentados, também, inibidores de FGFR para uso no tratamento de câncer em um paciente, sendo que o paciente é identificado como responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR por avaliação de uma amostra biológica obtida do paciente para a presença de um ou mais mutantes de FGFR a partir do painel de genes FGFR mutantes, sendo que o mutante de FGFR é um gene de fusão de FGFR ou um SNP de FGFR, sendo que a presença de um ou mais mutantes de FGFR na amostra é detectada, e sendo que a dita avaliação compreende amplificar um cDNA pré-amplificado com um par de iniciadores que se ligam a um ou mais mutantes de FGFR e amplificar um ou mais mutantes de FGFR a partir do painel de genes FGFR mutantes.

MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO DE UM PACIENTE COM CÂNCER QUE SERÁ RESPONSIVO AO TRATAMENTO COM UM INIBIDOR DO RECEPTOR DO FATOR DE CRESCIMENTO DE FIBROBLASTOS (FGFR)

[00109] São apresentados na presente invenção métodos para identificação de um paciente com câncer que seja responsivo ao tratamento com um inibidor do receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR) compreendendo: avaliar uma amostra biológica obtida do paciente para um mutante de FGFR a partir de um painel de genes FGFR mutantes, sendo que o mutante de FGFR é um é um gene de fusão de FGFR ou um polimorfismo de um nucleotídeo único de FGFR, e sendo que a dita avaliação compreende amplificar cDNA que com um par de iniciadores que se ligam e amplificam um ou mais

mutantes de FGFR a partir do painel de genes FGFR mutantes e determinar se o um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes estão presentes na amostra, sendo que a presença do um ou mais mutantes de FGFR indica que o paciente será responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR.

[00110] Também são fornecidos métodos para identificação de um paciente com câncer que é responsivo ao tratamento com um inibidor do receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR) compreendendo: avaliar uma amostra biológica obtida do paciente para um mutante de FGFR a partir de um painel de genes FGFR mutantes, sendo que o mutante de FGFR é um gene de fusão de FGFR ou um polimorfismo de um nucleotídeo único de FGFR, e sendo que a dita avaliação compreende amplificar cDNA que com um par de iniciadores que se ligam e amplificam um ou mais mutantes de FGFR a partir do painel de genes FGFR mutantes e determinar se o um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes estão presentes na amostra, sendo que a presença do um ou mais mutantes de FGFR indica que o paciente é responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR.

[00111] São ainda são apresentados métodos para a identificação de um paciente com câncer que é responsivo ao tratamento com um inibidor do receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR) que compreende avaliar uma amostra biológica do paciente quanto à presença de um ou mais mutantes de FGFR a partir de um painel de genes FGFR mutantes, sendo que o mutante de FGFR é um gene de fusão de FGFR ou um polimorfismo de nucleotídeo único de FGFR, sendo que a presença do um ou mais mutantes de FGFR indica que o paciente é responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR.

[00112] Em algumas modalidades, a avaliação pode compreender amplificar cDNA com um par de iniciadores que se ligam e amplificam um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes FGFR mutantes. Em

algumas modalidades, o cDNA pode ser cDNA pré-amplificado.

[00113] Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende: isolar o RNA da amostra biológica e sintetizar cDNA a partir do RNA isolado. Em alguns aspectos, a etapa de avaliação pode ser realizada no cDNA pré-amplificado. Dessa forma, a etapa de avaliação pode compreender ainda a pré-amplificação do cDNA antes da dita etapa de amplificação. O isolamento de RNA a partir de uma amostra biológica pode ser realizado por uma variedade de procedimentos conhecidos pelo versado na técnica. Em uma modalidade, o RNA pode ser isolado da amostra biológica usando um kit AllPrep DNA/RNA FFPE da Qiagen (por exemplo, produto n° 80234). A síntese de cDNA a partir do RNA isolado pode ser realizada por uma variedade de procedimentos conhecidos pelo versado na técnica. Em uma modalidade, o cDNA pode ser sintetizado a partir de RNA isolado com o uso de um kit de transcriptase reversa de cDNA de alta capacidade com inibidor de RNase da ABI (por exemplo, produto n° 4374966). A pré-amplificação do cDNA pode ser realizada por uma variedade de procedimentos conhecidos pelo versado na técnica. Os procedimentos de amplificação são bem conhecidos na técnica. Em uma modalidade, o cDNA pode ser pré-amplificado usando uma mistura mestre TaqMan® PreAmp (Life Technologies/Applied Biosystems® produto n° 4391128).

[00114] Os métodos apresentados podem ser usados para identificar pacientes com vários tipos diferentes de câncer que serão responsivos ao tratamento com um inibidor do receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR), incluindo, mas não se limitando a câncer de bexiga, câncer de bexiga metastático, câncer de ovário, câncer de cabeça e pescoço, câncer de esôfago, adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas, carcinoma de células escamosas de pulmão de células não pequenas, câncer de próstata, câncer de pulmão, câncer gástrico,

carcinoma urotelial, câncer de pulmão de células pequenas, câncer de mama, câncer endometrial, colangiocarcinoma, carcinoma hepatocelular, glioblastoma, gliomas, carcinoma de cólon, sarcomas, tumores sólidos de origem escamosa, e mieloma múltiplo.

[00115] O painel de mutantes de FGFR que é usado na etapa de avaliação se baseia, em parte, no tipo de câncer do paciente. Para pacientes com câncer de bexiga, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v1 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem câncer de bexiga. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v3 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:BAIAP2L1 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:BICC1 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:AFF3 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:CASP7 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 R248C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga. Em algumas modalidades, a etapa de

avaliação compreende determinar se FGFR3 S249C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 G370C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 Y373C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga.

[00116] Para pacientes com câncer de bexiga metastático, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v1 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem câncer de bexiga metastático. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v3 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga metastático. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:BAIAP2L1 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga metastático. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:BICC1 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga metastático. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:AFF3 está presente em uma amostra



biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga metastático. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:CASP7 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga metastático. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 R248C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga metastático. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 S249C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga metastático. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 G370C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga metastático. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 Y373C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga metastático. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de bexiga metastático.

[00117] Para pacientes com câncer de ovário, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Conseqüentemente, em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v1 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem câncer de ovário. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v3 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de ovário. Em algumas modalidades, a

etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:BAIAP2L1 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de ovário. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:BICC1 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de ovário. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:AFF3 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de ovário. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:CASP7 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de ovário. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 R248C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de ovário. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 S249C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de ovário. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 G370C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de ovário. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 Y373C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de ovário. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de ovário.

[00118] Para pacientes com câncer de cabeça e pescoço, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Conseqüentemente, em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:BAIAP2L1 está presente

em uma amostra biológica de um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:CASP7 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 R248C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 S249C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 G370C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 Y373C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço.

[00119] Para pacientes com câncer de cabeça e pescoço metastático, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos. Conseqüentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de cabeça e pescoço metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:OFD1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem

câncer de cabeça e pescoço metastático é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[00120] Para pacientes com câncer de esôfago, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR2:BICC1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v1 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem câncer de esôfago. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v3 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de esôfago. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:BICC1 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de esôfago. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:CASP7 está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de esôfago. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 R248C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de esôfago. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 S249C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de esôfago. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 G370C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de esôfago. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 Y373C está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de esôfago. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar

se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem câncer de esôfago. [00121] Para pacientes com câncer de esôfago metastático, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes, pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:íntron TACC3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CCD6 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:OFD1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de

esôfago metastático é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra. [00122] Para os pacientes com adenocarcinoma de pulmão de células não pequenas (NSCL), por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v1 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v3 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:íntron TACC3 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:BAIAP2L1 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:AFF3 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:CASP7 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 R248C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 S249C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem adenocarcinoma de

NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 G370C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 Y373C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima está presente em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem adenocarcinoma de NSCL.

[00123] Para pacientes com carcinoma de células escamosas de pulmão de células não pequenas (NSCL), um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v1 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:TACC3 v3 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3:BAIAP2L1 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:BICC1 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:AFF3 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células

escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:CASP7 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR2:CCDC6 está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 R248C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 S249C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 G370C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se FGFR3 Y373C está presente em uma amostra biológica de um paciente que tem carcinoma de células escamosas de NSCL. Em algumas modalidades, a etapa de avaliação compreende determinar se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estão presentes em uma amostra biológica obtida de um paciente que tem carcinoma de células escamosas.

[00124] Para pacientes com câncer endometrial metastático, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes adequado pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas



modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:íntron TACC3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CCDC6 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:OFD1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer endometrial metastático é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[00125] Para pacientes com câncer de mama, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos. Conseqüentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:íntron TACC3 estiver presente na amostra.

Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CCD6 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente com câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:OFD1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem câncer de mama é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[00126] Para pacientes com carcinoma hepatocelular, por exemplo, um painel de genes FGFR mutantes pode compreender FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR2:OFD1, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos. Consequentemente, em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:TACC3 v3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:íntron TACC3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma

hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3:BAIAP2L1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:BICC1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:AFF3 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CASP7 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:CCDC6 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR2:OFD1 estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 R248C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 S249C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 G370C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se FGFR3 Y373C estiver presente na amostra. Em algumas modalidades, um paciente que tem carcinoma hepatocelular é tratado com um inibidor de FGFR se qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima estiver presente na amostra.

[00127] Os pares adequados de iniciadores para uso na etapa de amplificação incluem aqueles apresentados na Tabela 3. Por exemplo, em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR3:TACC3 v1 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser

FGFR3:TACC3 v3 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR3:íntron TACC3 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR3:BAIAP2L1 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR2:BICC1 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR2:AFF3 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR2:CASP7 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR2:CCDC6 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser FGFR2:OFD1 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser R248C e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24 ou SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser S249C e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26 ou SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser G370C e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ

ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28 ou SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser Y373C e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos da SEQ ID NO: 29 e SEQ ID NO: 30 ou SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38. Em algumas modalidades, o mutante de FGFR e o par de iniciadores pode ser qualquer combinação dos mutantes de FGFR acima apresentados e do par correspondente de iniciadores.

[00128] Os métodos apresentados compreendem a determinação de se o um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes estão presentes na amostra. Em algumas modalidades, a etapa de determinação compreende ao sequenciamento do cDNA amplificado.

[00129] Em algumas modalidades, o método compreende, adicionalmente, tratar o paciente com um inibidor de FGFR se um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes estiver presente na amostra. Os inibidores de FGFR adequados para uso nos métodos de tratamento incluem aqueles anteriormente descritos na presente invenção, em particular, JNJ-42756493.

#### KITS PARA IDENTIFICAR A PRESENÇA DE GENES MUTANTES DE FGFR

[00130] São apresentados, também, kits para identificar a presença de um ou mais genes mutantes de FGFR em uma amostra biológica que compreende os pares de iniciadores com as sequências da SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8, SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 e SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38, ou qualquer

combinação das mesmas; e instruções para realizar um ensaio para detectar um ou mais genes FGFR mutantes.

[00131] Os kits podem compreender, ainda, uma ou mais sondas, um ou mais oligonucleotídeos de bloqueio 3', ou ambos. Em algumas modalidades, os kits podem compreender, ainda, uma ou mais sondas, por exemplo, qualquer uma ou mais das sondas apresentadas na Tabela 15. Em algumas modalidades, os kits podem compreender adicionalmente um ou mais oligonucleotídeos de bloqueio 3', por exemplo, qualquer um ou mais dos oligonucleotídeos de bloqueio 3' apresentados na tabela 8. Em algumas modalidades, os kits podem compreender, ainda, uma ou mais sondas e um ou mais oligonucleotídeos de bloqueio 3'. Por exemplo, em algumas modalidades, os kits podem compreender adicionalmente:

- a. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 43;
- b. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 44;
- c. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 46;
- d. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 47;
- e. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 45;
- f. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 48;
- g. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 49;
- h. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 50;
- i. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO:

21 e SEQ ID NO: 22 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 51;

j. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 52;

k. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 53;

l. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 54;

m. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 29 e SEQ ID NO: 30 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 55;

n. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 52; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' que tem a sequência da SEQ ID NO: 39;

o. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 53; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' que tem a sequência da SEQ ID NO: 40;

p. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 54; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' que tem a sequência da SEQ ID NO: 41;

q. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 55; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' que tem a sequência da SEQ ID NO: 42; ou

r. e combinações dos mesmos.

### SONDAS DE OLIGONUCLEOTÍDEO

[00132] São apresentadas, também, sondas de oligonucleotídeo com a sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 43-55. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ

ID NO: 43. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 44. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 45. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 46. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 47. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 48. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 49. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 50. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 51. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 52. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 53. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 54. Em algumas modalidades, a sonda de oligonucleotídeo pode ter a sequência da SEQ ID NO: 55.

#### OLIGONUCLEOTÍDEOS DE BLOQUEIO 3'

[00133] Também são apresentados na presente invenção oligonucleotídeos com a sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 39-42. Em algumas modalidades, os oligonucleotídeos de bloqueio 3' podem ter a sequência de SEQ ID NO: 39. Em algumas modalidades, os oligonucleotídeos de bloqueio 3' podem ter a sequência de SEQ ID NO: 40. Em algumas modalidades, os oligonucleotídeos de bloqueio 3' podem ter a sequência de SEQ ID NO: 41. Em algumas modalidades, os oligonucleotídeos de bloqueio 3' podem ter a sequência de SEQ ID NO: 42.

#### EXEMPLOS

##### EXEMPLO 1- ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DE DNA PLASMIDIAL

[00134] Abaixo está um exemplo de procedimento para a preparação



de DNA plasmidial de fusão de FGFR.

[00135] Equipamento necessário: centrífuga, com capacidade de 1500 x g; microcentrífuga; pipetadores, de deslocamento positivo ou deslocamento de ar; vortexador; espectrofotômetro nanodrop; agitadora/incubadora a 37°C; e uma estufa ajustada para 37°C.

[00136] Materiais necessários: solução estoque bacteriana congelada em glicerol contendo DNA plasmidial; Placas de ágar LB com canamicina (Teknova n° L1155); Caldo LB (Life Technologies n° 10855-021); Canamicina (Sigma n° K0254); kit de purificação de plasmídeo (Qiagen n° 12123); Etanol absoluto (Sigma Aldrich n° E7023); isopropanol (Sigma Aldrich n° W292907); Água sem nuclease (não tratada com DEPC) (da IDT ou Ambion n° AM9932); Pontas com barreira sem RNase (filtro); Microtubo sem RNase (1,5 a 2 mL, VWR n° 10011-724); pipetas sorológicas; e tubos de fundo redondo de 14 mL (VWR n°352057).

[00137] Para recuperar bactérias do estoque de glicerol, as bactérias congeladas foram raspadas do topo de um tubo de estoque de glicerol com o uso de uma ponta de pipeta estéril, estriadas sobre uma placa de ágar LB e esta foi colocada de cabeça para baixo na estufa a 37°C de um dia para o outro.

[00138] Os plasmídeos de DNA foram purificados com o uso do protocolo de purificação de DNA plasmidial da Qiagen. Resumidamente, uma única colônia foi escolhida da placa estriada e incubada em uma cultura de 5 mL de meio LB contendo 50 µg/mL de canamicina de um dia para o outro em uma agitadora a 37°C a aproximadamente 300 rpm. As células bacterianas foram colhidas por centrifugação a 6000 X g por 15 minutos a 4°C, e o pélete foi ressuspenso em 300 mL de tampão P1. 300 µL de tampão P2 foram adicionados, misturados por inversão do tubo 4 a 6 vezes e incubados a temperatura ambiente (RT) por 5 minutos. 300 µL de tampão P3 resfriado foram adicionados, imediatamente misturados

por inversão 4 a 6 vezes, incubados em gelo por 5 minutos e centrifugados em velocidade máxima por 10 minutos. O sobrenadante contendo o DNA plasmidial foi removido rapidamente. Uma ponta da Qiagen foi equilibrada pela aplicação de 1 mL de tampão QBT e deixada esvaziar por fluxo por gravidade. O sobrenadante foi aplicado à ponta Qiagen 20 e deixado entrar na resina por fluxo de gravidade. A ponta Qiagen 20 foi lavada com 2 X 2 mL de tampão QC e o DNA foi eluído com 800 µL de tampão QF, e o eluato foi coletado em um tubo Eppendorf de 1,5 ml. O DNA foi precipitado pela adição de 0,7 volume de isopropanol, misturado e centrifugado imediatamente a 15000 x g durante 30 minutos em uma microcentrífuga. O sobrenadante foi decantado e o pélete de DNA foi lavado em 1 mL de etanol a 70% e centrifugado a 15000 x g durante 10 minutos. O sobrenadante foi decantado. O pélete foi seco ao ar por 5 a 10 minutos e o DNA foi redissolvido em 100 µL de volume adequado de água sem nuclease. O DNA plasmidial foi quantificado por Nanodrop e armazenado a -20 °C até uso adicional.

#### EXEMPLO 2 - GERAÇÃO DE LINHAGENS CELULARES NRK

[00139] Vetores de expressão que expressam cada uma das fusões de FGFR foram construídos. O vetor de expressão foi então transfectado em células epiteliais de rim de rato (NRK) normais. As linhagens celulares estáveis foram selecionadas em meio contendo canamicina após as transfecções. Estas células foram então cultivadas e o mRNA foi isolado e submetido a ensaios de fusão de FGFR para confirmar a presença do mRNA específico das fusões de FGFR.

#### EXEMPLO 3 - MANUTENÇÃO DA LINHAGEM CELULAR DE FUSÃO DE FGFR

[00140] O protocolo abaixo descreve um procedimento exemplificador para cultivar e manter as linhagens celulares que superexpressam a fusão de FGFR de NRK. As linhagens celulares incluem, mas não se limitam a: NRK/FGFR3:TACC3v1,

NRK/FGFR3:TACC3 v3, NRK/FGFR3:BAIAP2L1, NRK/FGFR2: BICC1, NRK/FGFR2:CASP7, NRK/FGFR2:CCDC6, NRK/FGFR2:AFF3, NRK/FGFR2:OFD1, e NRK/EMPTY VECTOR (controle de plasmídeo).

[00141] Equipamento necessário: Gabinete de biossegurança, equipado com sistema de aspiração a vácuo; incubadora de CO<sub>2</sub> ajustada para 37°C com 5% de CO<sub>2</sub> congelador a -80°C; tanque de nitrogênio líquido; banho-maria, ajustado para 37°C; e um microscópio.

[00142] Materiais necessários: pipetas sorológicas; frascos de cultura de tecido (T75 VWR n° BD353136 e/ou T150 VWR n° 15705-074); unidades de filtração de 0,2 µm da cultura de tecido (Thermo Scientific n° 566-0020); meio de cultura celular DMEM (meio Eagle modificado da Dulbecco) (Life Technologies, n° de catálogo 11965-084); soro fetal bovino (SFB), certificado, inativado por calor (Life Technologies, n° 10082147); solução antibiótica PenStrep (Life Technologies n° 15140-122); Solução de tripsina-EDTA a 0,25% (Life Technologies, n° 25200-056); DPBS (solução de Dulbecco tamponada com fosfato, sem cálcio e sem magnésio) (Life Technologies, n° 14190136); recipiente de congelamento celular para criopreservação; pipetman portátil; meio de congelamento de célula (Life Technologies, n° 12648-010); tubos cônicos de 15 mL (VWR n° 62406-2); e criofrascos (VWR n°89094-800).

[00143] Para preparar o meio de cultura de células, meio DMEM foi preparado pela combinação de 445 mL de DMEM, 50 mL de SFB, e 5 mL de PenStrep. Os meios preparados foram passados através de uma unidade filtrante de 0,2 µm e armazenados à 4°C.

[00144] Para descongelar as células congeladas, o meio de DMEM preparado foi aquecido no banho-maria a 37°C durante ao menos 15 minutos, e 15 mL de meio aquecido foram colocados em um frasco T75. As células foram removidas do tanque de nitrogênio líquido e imediatamente colocadas em um banho-maria a 37°C até estarem

descongeladas. Os criofrascos foram pulverizados generosamente com 70% de álcool e o excesso de álcool foi limpo com toalhas de papel. Todo o conteúdo foi aliquoteado no frasco T75 contendo DMEM. O frasco foi girado suavemente para misturar e colocado em uma incubadora por 24 horas. Se as células não estivessem prontas para a divisão, o meio era trocado para DMEM recém-preparado para remover o meio de congelamento residual. Se células estivessem prontas para a divisão, cada linhagem celular era propagada quando o frasco atingia 80% de confluência (a razão de divisão para cada linhagem celular era dependente das necessidades experimentais).

[00145] Para congelar as linhagens celulares, as células foram removidas do frasco de cultura e centrifugadas em um tubo cônico de 15 mL durante 5 minutos a 1500 rpm em temperatura ambiente. O meio foi aspirado e 6 mL de meio de congelamento celular foram adicionados. As células foram misturadas por pipetagem para cima e para baixo várias vezes, e 1 mL da solução de células foi aliquoteado em cada um dos 5 criofrascos. Os criofrascos com as células foram colocados em um recipiente de criocongelamento, que foi armazenado a -80°C de um dia para o outro em freezer, seguido de armazenamento em longo prazo em um tanque de nitrogênio líquido.

#### EXEMPLO 4 - ENSAIO DE SNP DE FFPET

[00146] Um fluxo de trabalho e um protocolo exemplificador para a realização de um ensaio de SNP de FFPET é descrito abaixo. Um procedimento similar é realizado para testes de fusão de FFPET, cujos resultados são mostrados na figura 2.

#### DESPARAFINIZAÇÃO DE FFPET

[00147] As lâminas foram submetidas a quantidades crescentes de xileno, seguido de tratamento com álcool para remover a parafina.

#### EXTRAÇÃO DE RNA DE FFPET

[00148] O procedimento para a extração de RNA a partir de amostras

de tecido de câncer de mama incluídas em parafina fixadas com formalina para o ensaio de expressão a jusante é descrito abaixo.

[00149] Equipamento necessário: centrífuga com adaptador para placa, com capacidade de 1500 x g; microcentrífuga; pipetadores, deslocamento positivo ou deslocamento de ar; vortexador; NanoDrop 8000; bloco de aquecimento com capacidade de incubação a 37°C, 56°C e 80°C; e pipeta Pasteur (Pipet Trans EX-FT 1,5 mL pk 500, VWR n°14670-329).

[00150] Materiais necessários: Kit AllPrep DNA/RNA FFPE (Qiagen n° 80234); Etanol absoluto (Sigma Aldrich n° E7023); Isopropanol xileno Água sem nuclease (não tratada com DEPC) (da IDT ou Ambion n° AM9932); Pontas com barreira sem RNase (filtro); sem RNase; microtubo (1,5 a 2 mL, VWR n°10011-724); e manual do kit AllPrep DNA/RNA FFPE da Qiagen.

[00151] O RNA foi extraído usando o kit AllPrep DNA/RNA FFPE. Resumidamente, uma secção de 1 a 10 µm foi colocada em um tubo de reação de 1,5 mL e 800 µL de HemoDe ou Xileno foram adicionados. A amostra foi vortexada durante 4 segundos por 3 vezes, incubada por 2 minutos, centrifugada por 4 segundos por 3 vezes e incubada durante 5 minutos.

[00152] A amostra foi centrifugada por 2 minutos em velocidade máxima (12.000 a 14.000 x g) e o sobrenadante foi descartado através de aspiração. Os tubos foram tampados imediatamente para evitar a secagem do tecido.

[00153] As etapas acima foram repetidas.

[00154] 800 µL de etanol abs. foram adicionados e o tubo foi impactado para soltar o pélete, vortexado por 4 segundos, por 3 vezes, centrifugado durante 2 minutos à velocidade máxima (12.000 a 14.000 x g) e o sobrenadante foi descartado através de aspiração.

[00155] 800 µL de etanol a 70% foram adicionados e o tubo foi

impactado para soltar o pélete, vortexado por 4 segundos, por 3 vezes, centrifugado durante 2 minutos à velocidade máxima e o sobrenadante foi descartado através de aspiração. Após remoção do etanol a 70%, o tubo foi recentrifugado durante 10 a 20 segundos e o líquido residual foi cuidadosamente removido com uma pipeta de furo fino.

[00156] Os tubos abertos foram incubados em um bloco de aquecimento por 5 a 15 minutos a 37°C para secar o pélete ao ar.

[00157] O pélete foi ressuspenso em tampão pela adição de 150 µL de tampão PKD e o tubo foi impactado para soltar o pélete. 10 µL de proteinase K foram adicionados e o tubo foi misturado por vortexação.

[00158] Os tubos foram incubados a 56°C durante 15 minutos, incubados em gelo por 3 minutos, e centrifugados durante 15 minutos a 20.000 x g.

[00159] O sobrenadante foi cuidadosamente transferido sem agitar o pélete para um novo tubo de microcentrífuga de 1,5 mL para purificação de RNA. O sobrenadante foi incubado a 80°C por 15 minutos. O tubo foi brevemente centrifugado para remover gotas do interior da tampa. 320 µL de tampão RLT foram adicionados para ajustar as condições de ligação e o tubo foi misturado por vortexação ou pipetagem. 1120 µL de etanol (96 a 100%) foram adicionados e o tubo foi cuidadosamente misturado por vortexação ou pipetagem.

[00160] 700 µL da amostra, incluindo qualquer precipitado que pode ter se formado, foram transferidos para uma coluna de centrifugação RNeasy MinElute colocada em um tubo de coleta de 2 mL, e centrifugada por 15 segundos a  $\geq 8000 \times g$  ( $\geq 0.000 \text{ rpm}$ ). O fluxo de passagem foi descartado. Esta etapa foi repetida até que toda a amostra passou através da coluna de centrifugação RNeasy MinElute.

[00161] 350 µL de tampão FRN foram adicionados à coluna de centrifugação RNeasy MinElute e centrifugados por 15 segundos a  $\geq 8000 \times g$  ( $\geq 10.000 \text{ rpm}$ ). O fluxo de passagem foi descartado.

[00162] 10 µL de solução de estoque de DNase foram adicionados a 70 µL de tampão RDD, misturados gentilmente por inversão do tubo e centrifugados rapidamente para coletar líquido residual a partir dos lados do tubo.

[00163] A mistura de incubação de DNase I (80 µL) foi adicionada diretamente à membrana da coluna de centrifugação RNeasy MinElute, e colocada sobre a bancada (20-30°C) por 15 minutos.

[00164] 500 µL de tampão FRN foram adicionados à coluna de centrifugação RNeasy MinElute e centrifugados por 15 segundos a  $\geq 8000 \times g$  ( $\geq 10.000$  rpm). O fluxo foi reservado para uso na próxima etapa, uma vez que ele contém pequenos RNAs.

[00165] A coluna de centrifugação RNeasy MinElute foi colocada em um novo tubo de coleta de 2 mL (fornecido). O fluxo de passagem da etapa anterior foi aplicado à coluna de centrifugação e centrifugado por 15 segundos a  $\geq 8000 \times g$  ( $\geq 10.000$  rpm). O fluxo de passagem foi descartado.

[00166] 500 µL de tampão RPE foram adicionados à coluna de centrifugação RNeasy MinElute e centrifugados por 15 segundos a  $\geq 8000 \times g$  ( $\geq 10.000$  rpm) para lavar a membrana da coluna de centrifugação. O fluxo de passagem foi descartado.

[00167] 500 µL de tampão RPE foram adicionados à coluna de centrifugação RNeasy MinElute e centrifugados por 15 segundos a  $\geq 8000 \times g$  ( $\geq 10.000$  rpm) para lavar a membrana da coluna de centrifugação. O tubo de coleta com o fluxo passante foi descartado.

[00168] A coluna de centrifugação RNeasy MinElute foi colocada em um novo tubo de coleta de 2 mL e centrifugada em velocidade máxima por 5 minutos. O tubo de coleta com o fluxo passante foi descartado.

[00169] A coluna de centrifugação RNeasy MinElute foi colocada em um novo tubo de coleta de 1,5 mL, 30 µL água sem RNase foram adicionados diretamente à membrana da coluna de centrifugação,

incubada durante 1 hora em temperatura ambiente, e centrifugada em velocidade máxima durante 1 minuto para eluir o RNA.

[00170] As amostras de RNA foram imediatamente armazenadas em um congelador a -80°C.

### SÍNTESE DE CDNA

[00171] É apresentado abaixo um processo para a síntese de cDNA para os ensaios de SNP de FFPET com o uso de análise de PCR em tempo real (RT-PCR).

[00172] Equipamento necessário: centrífuga com adaptador para placa, com capacidade de 1500 x g, microcentrífuga; pipetadores (pipetador preferido de canal único e de múltiplos canais), deslocamento positivo ou deslocamento de ar; vortexador; e Sistema de PCR GeneAmp® PCR 9700 (ABI n° 4314879) ou equivalente.

[00173] Materiais necessários: Kit de transcriptase reversa de cDNA de alta capacidade com um inibidor de RNase, 200 reações (ABI n°4374966); Água sem nuclease (não tratada com DEPC) (de IDT) ou equivalente; Pontas com barreira sem RNase (filtro); Microtubo sem RNase (1,5 a 2 mL, VWR n° 10011-724); Placas de reação de 96 poços ópticos MicroAmp™ (Life Technologies, n° 4306736); e filme de vedação (VWR n°60941-072).

[00174] Após a extração de RNA (apresentada acima) o(s) tubo(s) de amostra de RNA foram mantidos em gelo.

[00175] Os componentes do kit foram usados para preparar a mistura mestre de transcrição reversa (RT) 2x para todas as reações, incluindo 1 controle negativo (água). Os componentes foram descongelados em gelo durante aproximadamente 15 minutos, suavemente invertidos para misturar e centrifugados brevemente para decantar a solução. Todos os reagentes foram retornados para o gelo. Os tubos não foram vortexados.

[00176] Uma mistura mestre foi preparada em gelo em um tubo de 1,5 mL para o número apropriado de reações (n° de reações + 10%, por



20 µL de reação) combinando-se as seguintes quantidades de reagente por uma reação: 2 µL de mistura de tampão RT 10X; 0,8 µL de mistura de dNTP 25X; 2 µL de iniciadores aleatórios RT a 10X; 1 µL 50U/µL de Transcriptase Reversa MultiScribe; 1 µL de inibidor de RNase; e 3,2 µL de H<sub>2</sub>O sem nuclease/RNase.

[00177] A mistura mestre foi vortexada várias vezes (5 a 10) e a mistura centrifugada brevemente (1500 x g, 5 a 10 segundos). 10 microlitros da mistura de reação foram adicionados aos poços apropriados de uma placa de 96 poços.

[00178] As amostras de RNA foram diluídas para uma concentração de 20 ng/µL. 10 microlitros de cada amostra de RNA foram adicionados, incluindo o controle negativo de água aos poços correspondentes apropriados da placa de 96 poços em um volume de reação final de 20 µL. Os poços foram cuidadosamente misturados por pipetagem para cima e para baixo 3 vezes, vedados com uma vedação de placa, e centrifugados brevemente (1500 x g por 60 segundos). As placas foram mantidas em gelo até o momento do carregamento no termociclador.

[00179] A placa de reação foi carregada em no termociclador ABI 9700 em uma estação de trabalho ou laboratório limpos e operado com o uso do seguinte programa de transcrição reversa com um volume de reação de 20 µL:

Etapa 1: 25°C durante 10 minutos

Etapa 2: 37°C durante 120 minutos

Etapa 3: 85°C durante 5 segundos

Etapa 4: Manter a 4°C até o infinito

[00180] O cDNA sintetizado foi armazenado a -20°C para a próxima etapa da pré-amplificação.

#### PREPARAÇÃO DA MISTURA DO CONJUNTO DE ENSAIO DE PRÉ-AMPLIFICAÇÃO

[00181] A mistura do conjunto de ensaio de pré-amplificação

associada ao protocolo de pré-amplificação do ensaio de SNP de FFPET foi preparada conforme descrito abaixo.

[00182] Equipamento necessário: microcentrífuga; pipetadores, deslocamento positivo ou deslocamento de ar; e vortexador.

[00183] Materiais necessários: Água sem nuclease (não tratada com DEPC) (de IDT) ou equivalente; IDTE pH 8,0 (solução TE 1X) (IDT Technologies); Pontas com barreira sem RNase (filtro); e tubos sem RNase (1,5 a 2 mL, VWR nº10011-724).

[00184] Todos os ensaios de SNP TaqMan foram comprados junto à Applied Biosystems, Life Technologies, Inc.

[00185] 100 µL de ensaios de SNP 20X foram preparados.

[00186] Para preparar o conjunto de ensaio PreAmp 0,2X, todos os ensaios foram descongelados em gelo durante aproximadamente 15 minutos. O seguinte volume dos componentes foi adicionado a um tubo de 1,5 mL:

**TABELA 4**

<b>Solução de estoque de pré-amplificação 1</b>		
Alvo	Concentração de Estoque	Volume necessário para 200ul de Solução de estoque de pré-amplificação (µL)
FGFR3 S249C	20X	2
IDTE		198
Volume total		200
<b>Solução de estoque de pré-amplificação 2</b>		
Alvo	Concentração de Estoque	Volume necessário para 200ul de Solução de estoque de pré-amplificação (µL)
FGFR3 R248C	20X	2
IDTE		198
Volume total		200
<b>Solução de estoque de pré-amplificação 3</b>		
Alvo	Concentração de Estoque	Volume necessário para 200ul de Solução de estoque de pré-amplificação (µL)

FGFR3 Y373C	20X	2
IDTE		198
Volume total		200

[00187] Nota: Os volumes acima são para a preparação de 200 µL de conjunto de ensaio de pré-amplificação 0,2X. Os volumes podem ser ajustados de acordo, dependendo do número de amostras a serem testadas.

[00188] O conjunto do ensaio de pré-amplificação 0,2X foi vortexado brevemente para misturar (5 a 10 segundos) e brevemente centrifugado (1500 x g, 5 a 10 segundos). 100 µL do conjunto de iniciadores de pré-amplificação foram aliqotados em tubos de 1,5 mL e armazenados a -20°C.

PRÉ-AMPLIFICAÇÃO PARA O ENSAIO DE SNP DE TECIDO DE CÂNCER DE MAMA INCLUÍDO EM PARAFINA FIXADO COM FORMALINA COM O USO DE ANÁLISE DE PCR EM TEMPO REAL (RT-PCR)

[00189] Equipamento necessário: centrífuga com adaptador para placa, com capacidade de 1500 x g; microcentrífuga; pipetadores, deslocamento positivo ou deslocamento de ar; vortexador; Sistema de PCR GeneAmp® 9700 (ABI n°4314879) ou equivalente.

[00190] Materiais necessários: Mistura mestre TaqMan® PreAmp (2X) (Life Technologies n°4391128); Mistura do ensaio agrupada 0,2X (ver protocolo de preparação e manuseio do ensaio); Tampão IDTE 1X (Tris 10 mM/EDTA 0,1 mM, pH7,5, da IDT) ou equivalente; Água sem nuclease (não tratada com DEPC) (de IDT) ou equivalente; Pontas com barreira sem RNase (filtro); Microtubo sem RNase (1,5 a 2 mL, VWR n° 10011-724); Placas de reação de 96 poços ópticos MicroAmp™ (Life Technologies, n° 4306736); Filme adesivo óptico Microamp® (Applied Biosystems PN 4311971); placas com poços profundos (VWR n°47734-788); folhas de vedação (VWR n°60941-126).

[00191] As amostras foram preparadas pela colocação do cDNA e do

conjunto da mistura de ensaio 0,2X em gelo para descongelar, aproximadamente 5 minutos, e centrifugar a placa brevemente (1500 x g durante 5 a 10 segundos).

[00192] Os componentes do kit foram usados para preparar a mistura mestre Pre-Amp 2x. Os componentes do kit foram deixados descongelar em gelo por 5 minutos aproximadamente. Após todos os reagentes estarem descongelados, os tubos foram suavemente invertidos para misturar e brevemente centrifugados para decantar a solução. Todos os reagentes foram retornados para o gelo. Os tubos não foram vortexados.

[00193] Em uma capela de biossegurança ou laboratorial limpa, cada mistura mestre foi preparada para o número apropriado de reações sobre gelo pela combinação dos volumes necessários de reagentes, conforme indicado abaixo na Tabela 5 (n° de reações + 10%):

**TABELA 5**

<b>Componente</b>	<b>Volume (µL) para uma reação</b>
<b>Mistura mestre 1</b>	
Mistura Mestre Taqman Pré-Amp 2X	12,5
Conjunto de ensaio 0,2X 1	6,25
<b>Volume total</b>	<b>18,75</b>
<b>Mistura mestre 2</b>	
Mistura Mestre Taqman Pré-Amp 2X	12,5
Conjunto de ensaio 0,2X 2	6,25
<b>Volume total</b>	<b>18,75</b>
<b>Mistura mestre 3</b>	
Mistura Mestre Taqman Pré-Amp 2X	12,5
Conjunto de ensaio 0,2X 3	6,25
<b>Volume total</b>	<b>18,75</b>

[00194] Os conjuntos de ensaio contêm iniciadores e sondas.

[00195] Para evitar a inicialização cruzada dos ensaios de SNP, todos os 5 ensaios foram divididos em 3 reações de pré-amplificação por amostra.

[00196] Cada mistura mestre foi centrifugada várias vezes (5 a 10) para

misturar, seguido por centrifugação breve (1500 x g, 5 a 10 segundos). 18,75 µL de cada mistura mestre foram aliquotados nos poços apropriados em uma placa de reação de 96 poços. 6,25 µL de cada amostra de cDNA, incluindo um poço com controle negativo com água, foram transferidos para os poços adequados na placa de reação da mistura mestre para cada reação de pré-amplificação. A amostra foi misturada suavemente por pipetar para cima e para baixo 3 vezes e a tampa foi fechada. A placa foi centrifugada brevemente (1500 x g por 60 segundos), e mantida sobre gelo até o momento do carregamento no termociclador.

[00197] O termociclador com placa de reação ABI 9700 foi carregado e executado com o uso do seguinte programa:

Etapa 1: 95°C durante 10 minutos

Etapa 2: 95°C durante 15 segundos

Etapa 3: 60°C durante 4 minutos

Etapa 4: Manter a etapa 2-3 por 10 ciclos

[00198] Se um bloco de ouro ou prata fosse usado, o modo máximo era selecionado e taxa de elevação era ajustada em 77%. Se um bloco de alumínio fosse usado, o modo padrão (sem mudança de velocidade) era selecionado.

Etapa 5: Manter a 4 °C até o infinito

[00199] O volume de reação foi ajustado para 25 µL.

[00200] A placa da reação de pré-amplificação foi centrifugada brevemente (1500 x g por 60 segundos) depois do término da pré-amplificação. 100 µL de IDTE foram adicionados aos poços adequados de uma nova placa de 96 poços profunda e 25 µL de cada produto de pré-amplificação foram transferidos para os poços correspondentes para ter um volume de diluição final de 125 µL. Cada poço foram misturados por pipetagem para cima e para baixo 3 vezes, a placa foi vedada com folha metálica adesiva, a placa foi centrifugada brevemente (1500 x g por 5 a 10 segundos), e o produto de pré-amplificação foi

armazenado a -20°C até uso posterior.

#### ENSAIO DE SNP DE FFPET - PCR EM TEMPO REAL.

[00201] A seguir é apresentado o procedimento para o ensaio de SNP do tecido incluído em parafina fixado com formalina usando análise de PCR em tempo real.

[00202] Equipamento necessário: centrífuga com adaptador para placa, com capacidade de 1500 x g; microcentrífuga; pipetadores (pipetador preferido de canal único e de múltiplos canais), deslocamento positivo ou deslocamento de ar; vortexador; e o instrumento de PCR em tempo real ABI ViiA 7 (Life Technologies).

[00203] Materiais necessários: Mistura mestre de genotipagem Taqman (Life Technologies n°4371355); Ensaio SNP; Água sem nuclease (não tratada com DEPC, da IDT) ou equivalente; Pontas com barreira sem RNase (filtro); Microtubo sem RNase (1,5 a 2 mL, VWR n° 10011-724); Filme adesivo óptico Microamp® (Applied Biosystems PN 4311971); e placas de reação de 384 poços ópticas MicroAmp™.

[00204] A tabela 15 lista as sequências das sondas usadas durante os ensaios de PCR em tempo real.

[00205] Para preparar as amostras, em uma estação de trabalho ou laboratorial, os ensaios de SNP foram colocadas em gelo para descongelar por aproximadamente 5 minutos. Todos os reagentes foram protegidos da luz para proteger da exposição das sondas fluorescentes. As placas de pré-amplificação diluídas foram colocadas em gelo para descongelar em uma estação de trabalho ou laboratorial suja após preparação de mistura mestre para genotipagem.

[00206] Para preparar mistura mestre para genotipagem, a mistura mestre para genotipagem foi descongelada em gelo por aproximadamente 5 minutos. A mistura mestre (MM) foi preparada no número necessário de tubos em gelo. Os volumes necessários dos reagentes foram combinados nos tubos rotulados adequados, conforme

indicado na tabela 6 abaixo (n° de reações + 10%):

**TABELA 6**

<b>Componente</b>	<b>Volume (µL) para uma reação</b>
Mistura mestre de Genotipagem 2X	10
Ensaio de SNP 20X	1
Água sem RNase	4
<b>Volume total</b>	<b>15</b>

[00207] A mistura mestre de SNP 20X contém iniciadores, sondas e oligos de bloqueio.

[00208] A mistura mestre foi vortexada várias vezes (5 a 10) para misturar e, então, centrifugada brevemente (1500 x g, 5 a 10 segundos). 15 µL de cada mistura mestre foram adicionados aos poços adequados de placas de reação ópticas de 384 poços Microamp™. As placas de reação foram vedadas com filme adesivo óptico.

[00209] A placa com produto de pré-amplificação diluído 1:5 foi colocada em gelo durante aproximadamente 5 a 10 minutos para descongelar. Usando um pipetador multi-canais, 5 µL de cada produto de pré-amplificação diluído foi transferido para os poços correspondentes adequados. A placa de reação foi selada com um filme óptico adesivo e centrifugada brevemente (1500 x g por 60 segundos). As placas foram mantidas em gelo até o momento do carregamento no termociclador.

[00210] As seguintes condições foram executadas com o uso do software viiA 7 com o volume ajustado para 20 µL:

**TABELA 7**

<b>Estágio</b>	<b>Repetições</b>	<b>Processo</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tempo</b>
1	1	Inicial	60°C	0,5 minutos
2	1	Ativação da DNAPol	95°C	10 minutos
3	40	Desnaturar	95°C	15 segundos
		Anelamento/Extensão	60°C	1 minutos
4	1	Pós-leitura	60°C	30 segundos

**qRT-PCR específica para SNP de FGFR**

[00211] A detecção de mutações somáticas raras em um excesso de

alelos do tipo selvagem é cada vez mais importante no diagnóstico do câncer. Quando as mutações de interesse estão próximas umas das outras, a detecção torna-se difícil. Para auxiliar na identificação de SNPs de FGFR, um ensaio de qRT-PCR específico para SNP foi desenvolvido, no qual a amplificação SNP-específica usando sondas MGB Taqman combinadas com os bloqueados de alelo selvagem 3' didesóxi foi usado. O ensaio impediu a ocorrência de que ligação inespecífica, melhorou a quantidade de amplificação no alvo, reduziu os sinais falso-positivos dos alelos selvagens e aumentou a sensibilidade do ensaio. Este ensaio de detecção de SNP à base RNA, combinada com a etapa de pré-amplificação no ensaio, amplifica os sinais mutantes baixos ou raros.

[00212] Um exemplo de estratégia para qRT-PCR SNP-específica usando um oligonucleotídeo bloqueador selvagem de 3' didesóxi é mostrado na figura 3, um exemplo de estratégia de validação da amostra de FFPE é ilustrada na Figura 4. Brevemente, qRT-PCR foi realizada com o uso de iniciadores de SNP de FGFR na presença de um oligonucleotídeo bloqueador de 3' didesóxi, que era complementar a, e continha uma extensão curta de nucleotídeos de flanqueamento, o alelo WT (selvagem). A ligação do oligonucleotídeo bloqueador ao WT impediu a amplificação do alelo WT, enquanto que os iniciadores de SNP de FGFR se ligaram e amplificaram especificamente o SNP de FGFR. Os oligonucleotídeos bloqueadores de WT 3' didesóxi usados na qRT-PCR específica para SNP de FGFR são mostrados na tabela 8. Os iniciadores de SNP de FGFR usados na qRT-PCR específica para SNP de FGFR foram: SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32 (FGFR3 R248C); SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34 (FGFR3 S249C); SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36 (FGFR3 G370C); e SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38 (FGFR3 Y373). A tabela 15 lista as sequências das sondas usadas durante os ensaios de PCR em tempo real.

## **TABELA 8**



<b>Alvo</b>	<b>Oligonucleotídeo bloqueador WT de 3' didesóxi</b>
FGFR3 R248C	TGGAGCGCTCCCCGCA-ddC (SEQ ID n°:39)
FGFR3 S249C	GACGTGCTGGAGYGCTC-ddC (SEQ ID NO: 40)*
FGFR3 G370C	CTGACGAGGCGGGCAG-ddC (SEQ ID n°:41)
FGFR3 Y373	GTGTGTATGCAGGCATCCTCAG-ddC (SEQ ID n°:42)

\*Y pode ser T ou C. O oligo de bloqueio WT 3' terá 50% de T e 50% de C naquela posição particular durante a síntese (purificada pelo fabricante para fornecer T ou C naquela posição específica).

[00213] As amostras foram os estudos de validação foram preparadas conforme mostrado na tabela 9. Exemplos de dados de validação da qRT-PCR SNP-específica usando um oligonucleotídeo bloqueador de WT 3' didesóxi para FGFR3 G370C, FGFR3 Y373, FGFR3 S249C, e FGFR3 R248C é ilustrado nas figuras 5A a 5D, respectivamente. Os dados de Ct (limiar do ciclo) brutos para as amostras de FFPE com qRT-PCR SNP-específica com oligonucleotídeos bloqueadores de WT 3' didesóxi são mostrados na tabela 10. Os dados derivados de DNA e de RNA usando diferentes plataformas /técnicas sugere que a PCR SNP-específica com o nucleotídeo bloqueador 3' é um ensaio robusto, confiável e sensível. Os dados de validação sugerem que um alelo mutante/SNP pode ser detectado em um grande excesso de DNA genômico contendo WT, enfatizando, assim, a sensibilidade e a especificidade de cada ensaio.

**TABELA 9**

<b>Amostra</b>	<b>% de Mutante</b>
1	100
2	20
3	4
4	0,8
5	0 (100%WT)

[00214] RNA de linhagens celulares estáveis que expressam, cada SNPs de FGFR3 (R248C, S249C, G370C, Y373C) e FGFR3 WT

**TABELA 10**

n° Id Pt	SNPs de FGFR3 – PCR SNP-específica com bloqueador de WT didesóxi (Ct *)				FMI/NGS	Janssen R&D ver1.0
	R248C	S249C	G370C	Y373C		
7502	>35	<b>28,03</b>	>35	>35	<b>S249C</b>	<b>S249C</b>
10000305	>35	>35	>35	>35	WT	WT
33000127	>35	<b>20,92</b>	>35	>35	<b>S249C</b>	<b>S249C</b>
33000118	>35	<b>29,35</b>	>35	>35	<b>S249C</b>	<b>S249C</b>
10000306	>35	>35	>35	<b>24,30</b>	<b>Y373C</b>	<b>Y373C</b>
34000226	>35	>35	>35	>35	WT	WT
16446	>35	<b>28,03</b>	>35	>35	<b>S249C</b>	<b>S249C</b>

- Média de dois Cts

[00215] FMI/NGS = Próxima geração da técnica de sequenciamento na qual o DNA é usado como um molde para identificar as mutações (sem oligonucleotídeo bloqueador de 3'); Janssen R&D = realizada em molde de RNA (sem o oligonucleotídeo bloqueador de 3'); PCR SNP-específica realizada no molde de RNA com o nucleotídeo de bloqueio 3'.

#### EXEMPLO 5 - VALIDAÇÃO DO ENSAIO DE DETECÇÃO DO GENE DE FUSÃO DE FGFR PERSONALIZADO

#### GERAÇÃO DE CONTROLES POSITIVOS PARA OS ENSAIOS DE ENSAIOS DE FUSÃO DE FGFR

[00216] "Mini-genes sintéticos" de fusão de FGFR, plasmídeos que codificam as fusões de FGFR, e linhagens celulares estáveis contendo fusões de FGFR foram gerados. Resumidamente, os minigenes sintéticos foram construídos artificialmente pela ligação de uma série de nucleotídeos, de cerca de 100 pares de base, um ao outro, correspondendo à sequência de DNA alvo de interesse. Os plasmídeos que codificam fusões de FGFR foram gerados por clonagem do cDNA

que codifica os vários genes de fusão de FGFR em um vetor de expressão. Linhagens celulares estáveis contendo fusões de FGFR foram geradas por transfecção de plasmídeos que codificam genes FGFR em células epiteliais de rim de rato normais (células NRK). As linhagens celulares estáveis foram selecionadas com o antibiótico G418. O ensaio de fusão de FGFR Taqman foi feito no RNA total isolado destas linhagens celulares, para confirmar a geração bem sucedida das linhagens celulares estáveis que expressam a(s) fusão(ões) de FGFR. As linhagens celulares estáveis que expressam as fusões de FGFR são usadas como um controle positivo. A tabela 15 lista as sequências das sondas usadas durante os ensaios de PCR em tempo real.

#### ANÁLISE DO LIMITE INFERIOR DE QUANTIFICAÇÃO E DA EFICIÊNCIA DOS ENSAIOS DE FUSÃO DE FGFR

[00217] Para determinar o limite inferior de quantificação (LLOQ) e a eficiência dos ensaios com o gene de fusão de FGFR, produtos de fusão de FGFR foram gerados por Taqman (como descrito no exemplo 4), e confirmados por sequenciamento de Sanger (figura 2). 100 pg de DNA positivo para a fusão foram misturados com cDNA humano normal (confirmado como negativo para a fusão), diluído em série 1:10, e analisado usando o software Applied Biosystems ViiA7 v1.1. As curvas padrão da eficiência são mostradas na figura 6. LLOQ de fusão de FGFR e a eficiência são mostradas na tabela 11.

**TABELA 11**

<b>Ensaio</b>	<b>LLOQ</b>	<b>Eficiência</b>
FGFR3:TACC3 V1	1,0 fgm	104%
FGFR3:TACC3 V3	10,0 fgm	104%
FGFR3:íntron TACC3	0,1 fgm	103%
FGFR3:BAIAP2L1	1,0 fgm	101%
FGFR2:AFF3	0,1 fgm	106%
FGFR2:BICC1	10,0 fgm	105%
FGFR2:CASP7	0,1 fgm	109%
FGFR2:CCDC6	1,0 fgm	106%
FGFR2:OFD1	0,1 fgm	96,6%

[00218] O gene de fusão de FGFR foi, em seguida, validado em linhagens celulares positivas para o gene de fusão. A expressão do gene de fusão de FGFR, diluições em série foram preparadas por acrescentar células positivas para a proteína de fusão em uma linhagem celular negativa para a proteína de fusão. Por exemplo, uma diluição em série 1:2 foi preparada para FGFR3:TACC3v1 e para FGFR3:BAIAP2L1 e foi acrescentada em 1 milhão de células BAF. O RNA foi isolado (usando o kit Qiagen Rneasy), seguido por RT-PCR, pré-amplificação do cDNA e PCR em tempo real Taqman para o gene de fusão de FGFR alvo. Conforme mostrado na tabela 12, ambos os ensaios Taqman para o gene de fusão FGFR3:TACC3v1 e FGFR3:BAIAP2L1 são capazes de detectar o alvo de fusão em 31 de 1 milhão de células negativas para fusão (sensibilidade de 0,003%).

**TABELA 12**

	Contagem das células com fusão de FGFR	Porcentagem de células positivas para a fusão versus fundo	Ct médio de RT112 FGFR3:TACC3v1 (n=2)	SW780 FGFR3:BAIAP2L1 Ct médio (n = 2)
controle positivo	1,00E+06	100%	17,56	20,35
	1.000	0,1000%	27,95	28,61
	500	0,0500%	29,11	28,91
	250	0,0250%	29,62	30,14
	125	0,0125%	30,26	31,43
	62,5	0,0063%	31,19	31,69
<b>LLOD</b>	<b>31,25</b>	<b>0,0031%</b>	<b>32,59</b>	<b>32,97</b>
	15,6	0,0016%	34,91	>40
	0	0,0000%	0,00	>40

[00219] RT112 e SW780 = linhagens de células de câncer de bexiga disponíveis comercialmente que carregam as fusões de FGFR (da American Type Culture Collection).

EXEMPLO 6 - VALIDAÇÃO DO ENSAIO DE DETECÇÃO DE SNP DE FGFR PERSONALIZADO

### AValiação DAS MUTAÇÕES DE FGFR3 EM CâNCER DE BEXIGA

[00220] Os SNPs R248C, S249C, e Y373C foram observados em aproximadamente 8%, aproximadamente 61%, e aproximadamente 19%, das amostras de câncer de bexiga testadas, respectivamente.

### EXEMPLO 7 - ANÁLISE DE AMOSTRAS DE CâNCER

[00221] As amostras foram analisadas com o uso do procedimento descrito no Exemplo 4. Os resultados são apresentados na Tabela 13 e na Figura 7. A Tabela 13 mostra a prevalência da fusão de FGFR em diferentes cânceres. As fusões de FGFR detectadas em amostras de FFPE de diferentes cânceres como bexiga (primário e metastático), NSCLC (adenocarcinoma e escamoso), ovários, esôfago (primário e metastático), cabeça e pescoço (H&N; primário e metastático), endometrial (metastático), mama, e de próstata usando o método de qRT-PCR. Todas as fusões de FGFR testadas foram negativas para amostras de câncer de próstata. A fusão FGFR3: íntron TACC3 foi negativa em câncer de bexiga (primário), NSCLC (escamoso), ovariano e esofágico (primário), H&N (primário e metastático), e mama. A fusão FGFR2: OFD1 foi negativa em câncer de bexiga (primário e metastático), NSCLC (adenocarcinoma), ovário e esofágico (primário e metastático). A fusão FGFR2: CCDC6 foi negativa em câncer de bexiga (primário e metastático), NSCLC (adenocarcinoma), ovário e esofágico (primário) e H&N (primário e metastático)

[00222] A figura 8 é um exemplo de representação do gene de fusão de FGFR e do estado da mutação em adenocarcinoma de NSCL e carcinoma de células escamosas. Em amostras de adenocarcinoma de NSCL positivas para fusão de FGFR, 3/17 amostras foram positivas para a mutação EGFR, 3/17 amostras foram positivas para mutação KRAS, e 1/17 amostras foram positivas para a mutação cMET. Nenhuma mutação EGFR, KRAS, ou cMET, entretanto, foi observada nas amostras de carcinoma de células escamosas de NSCLC positivas para a fusão de FGFR.

**TABELA 13**

	Bexiga primário (%)	Bexiga metastático (%)	Adeno NSCLC (%)	NSCLC escamoso (%)	Ovário (%)	Eso primário (%)	Eso metastático (%)	H&N primário (%)	H&N metastático (%)	Endo Metastático (%)	Mama (%)	Próstata (%)
<b>FGFR3: TACC3v1</b>	1/22 (4,55)	5/48 (10,47)	3/89 (3,37)	2/125 (1,60)	4/94 (4,26)	2/41 (4,88)	2/42 (4,76)	1/37 (2,70)	0/40 (0,00)	5/46 (10,87)	3/112 (2,69)	0/72 (0,00)
<b>FGFR3: TACC3v3</b>	1/22 (4,55)	2/48 (4,20)	9/89 (13,90)	5/129 (3,38)	5/94 (5,32)	1/41 (2,44)	10/42 (23,81)	0/37 (0,00)	0/40 (0,00)	2/46 (4,35)	6/112 (5,36)	0/72 (0,00)
<b>FGFR3: TACC3Intron</b>	0/22 (0,00)	0/48 (0,00)	3/89 (3,37)	0/125 (0,00)	0/94 (0,00)	0/41 (0,00)	1/42 (2,38)	0/37 (0,00)	0/40 (0,00)	2/46 (4,35)	0/112 (0,00)	0/72 (0,00)
<b>FGFR3: BAIAP2L1</b>	2/17 (11,77)	19/44 (43,18)	5/89 (5,62)	3/115 (2,61)	1/94 (1,06)	0/41 (0,00)	25/42 (59,52)	2/37 (5,41)	34/40 (85,00)	22/46 (47,83)	56/112 (50,00)	0/72 (0,00)
<b>FGFR2: BICC1</b>	1/22 (4,55)	4/48 (8,33)	0/89 (0,00)	2/123 (1,63)	8/94 (8,51)	2/41 (4,88)	1/42 (2,40)	0/37 (0,00)	0/40 (0,00)	0/46 (0,00)	3/112 (2,70)	0/72 (0,00)
<b>FGFR2: AFF3</b>	1/17 (5,88)	19/44 (43,18)	1/89 (1,12)	2/111 (1,80)	2/94 (2,31)	0/41 (0,00)	8/42 (19,05)	0/37 (0,00)	0/40 (0,00)	0/46 (0,00)	10/112 (8,90)	0/72 (0,00)
<b>FGFR2: CASP7</b>	7/16 (43,75)	20/45 (44,44)	1/89 (1,12)	6/114 (5,26)	24/94 (25,53)	2/41 (4,88)	1/42 (2,40)	4/37 (10,81)	3/40 (7,50)	8/46 (17,40)	12/112 (10,70)	0/72 (0,00)
<b>FGFR2: CCDC6</b>	0/22 (0,00)	0/48 (0,00)	0/89 (0,00)	6/109 (5,50)	0/94 (0,00)	0/41 (0,00)	4/42 (9,52)	0/37 (0,00)	0/40 (0,00)	6/46 (13,04)	3/112 (2,70)	0/72 (0,00)
<b>FGFR2: OFD1</b>	0/17 (0,00)	0/44 (0,00)	0/89 (0,00)	1/121 (0,83)	0/94 (0,00)	0/41 (0,00)	1/42 (2,40)	0/37 (0,00)	3/40 (7,50)	3/46 (6,52)	10/112 (8,90)	0/72 (0,00)

Eso=Esofágico; Endo=Endometrial

## EXEMPLO 8 - TRATAMENTO DE PACIENTES COM TUMORES SÓLIDOS AVANÇADOS

[00223] Um teste clínico foi conduzido no qual pacientes com vários tumores sólidos que expressam os genes de fusão FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR2:CCDC6 e FGFR2:BICC1 foram tratados com JNJ-42756493. A figura 9 ilustra resultados exemplificadores de amostras de pacientes de fase I, nos quais as fusões de FGFR em amostras de teste JNJ-427493 (EDI10001) de fase I foram detectadas usando o ensaio de qRT-PCR. Todos os ensaios de fusão de FGFR foram executados simultaneamente com controles positivos (ST) e GAPDH para avaliação do controle de qualidade do RNA. A) Representação gráfica dos dados de qRT-PCR gerados para pt n° 1000081: positivo apenas para a fusão FGFR2: BICC1 (a inserção mostra detalhes dos valores de Ct para a fusão FGFR2:BICC1, para o controle positivo ST e GAPDH). B) Representação gráfica dos dados de qRT-PCR gerados para pt n° 33000158: positivo apenas para a fusão FGFR3: TACC3v1 (a inserção mostra detalhes dos valores de Ct para a fusão FGFR3:TACC3v1, para o controle positivo ST e GAPDH). C) Representação gráfica dos dados de qRT-PCR gerados para pt n° 34000123: positivo apenas para a fusão FGFR2: CCDC6 (a inserção mostra detalhes dos valores de Ct para a fusão FGFR2:CCDC6, para o controle positivo ST e GAPDH). D) Representação gráfica dos dados de qRT-PCR gerados para pt n°340000115: positivo para as fusões FGFR3:TACC3v1, FGFR3:TACC#v3 e FGFR2:CCDC6 (a inserção mostra detalhes dos valores de Ct para as fusões de FGFR, controles positivos ST e GAPDH).

[00224] A Figura 10 representa um delineamento de estudo de fase exemplificador para um estudo pioneiro em humanos de JNJ-42756493 em pacientes com tumores sólidos avançados. É mostrada uma representação gráfica de um método de escalonamento de dose com

delineamento 3 + 3 tradicional para o teste clínico de fase I. A fase de escalonamento de dose tem como objetivo estabelecer a dose máxima tolerada (DMT) e a dose de fase II recomendada (DFR). O braço da parte 1 foi usado para determinar o cronograma de administração intermitente, isto é, 7 dias sim e sete dias não (10 mg/kg e 12 mg/kg). O braço da parte 2 foi usado para determinar os biomarcadores de PD (biomarcadores de farmacodinâmica; os marcadores examinados para ligar o efeito do fármaco ao alvo e à resposta tumoral biológica) sendo que a biópsia e as amostras de sangue foram testadas. O braço da parte 3 foi a coorte de expansão de dose usada e incluiu o acúmulo de pacientes adicionais em indicações específicas (NSCLC, SCLC, e tumores de mama sólidos) com diferentes critérios de elegibilidade (aberrações de FGFR: translocação / mutação / ampliações) para caracterizar ainda mais os perfis de toxicidade do JNJ493.

#### AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CLÍNICA

[00225] [0214] Respostas clínicas significativas (RECIST) foram observadas na administração de 9 mg uma vez ao dia (QD), 12 mg de QD e 12 mg 7 dias sim/não em pacientes com os genes de fusão de FGFR. (Figura 11; representa todos os regimes de dosagem).

#### EXEMPLO 9 - GERAÇÃO DE CÉLULAS RK3E TRANSFECTADAS DE MANEIRA ESTÁVEL COM A FUSÃO DE FGFR

#### LINHAGENS CELULARES QUE SUPEREXPRESSAM A FUSÃO DE FGFR

[00226] RK3E (células epiteliais de rim de rato) foram adquiridas junto à ATCC (Manassas, VA, EUA) e cultivadas em DMEM suplementado com SFB e antibióticos (Invitrogen, Grand Island, NY, EUA). Os construtos do gene de fusão de FGFR foram desenhados e clonados no vetor de expressão pReceiver (Genecopoeia, Rockville, MD, EUA), que contém uma etiqueta de HA. Os clones foram transfectados em células RK3E usando o Nucleofector de Linhagem



celular Amaxa (Lonza, Basel, Suíça) de acordo com o protocolo do fabricante. As células estavelmente transfectadas foram selecionadas em meio completo com 800 ug/mL de G418 (Invitrogen). A superexpressão das fusões nas células estavelmente transfectadas foi confirmada por PCR em tempo real e imunoblotting usando um anticorpo anti-pFGFR (figura 12). Conforme mostrado na Figura 12, as linhagens celulares estáveis mostraram expressão de quinases de fusão de FGFR ativas, conforme mostrado pela expressão de fosforilação de FGFR.

#### ENSAIO DE FORMAÇÃO DE COLÔNIA

[00227] O crescimento independente de ancoragem das células RK3E estavelmente transfectadas com a fusão de FGFR foi testado. Um mL de meio de cultura com 0,8% de agarose com baixo ponto de fusão foi plaqueado em cada um dos três poços de uma placa de seis poços. Depois de o ágar ter solidificado, cada poço recebeu mais 1 mL de ágar 0,4% em um meio de cultura contendo 100 células. Após 14 dias, as colônias foram fixadas e coradas com cristal violeta de cresila a 0,1%. O número de colônias foi determinado microscopicamente por contagem manual de poços em triplicata para cada linhagem celular. Uma vista representativa de cada linhagem celular que superexpressa a fusão é mostrada na figura 13A. O crescimento celular independente de ancoragem em ágar macio poderia ser detectado em células transfectadas de maneira estável com a fusão de FGFR, porém não no vetor de controle vazio. A figura 13B representa uma análise quantitativa de colônias em ágar macio para as células RK3E transfectadas estavelmente com a fusão de FGFR e o vetor vazio de controle. Todos os experimentos foram realizados em duplicata e os resultados são expressos como colônias/100 células plaqueadas. Todas as fusões de FGFR testadas induziram crescimento independente de ancoragem, enfatizando sua capacidade de transformação.

### EXPRESSÃO DE ALVO A JUSANTE

[00228] As células RK3E estavelmente transfectadas com a fusão de FGFR foram plaqueadas em meio de cultura completo, deixadas sem soro de um dia para o outro, então, realimentadas com 0,5% de meio de crescimento de SFB. As células foram tratadas com 1  $\mu$ M de JNJ-42756493, AZD4547 ou NVP-BGJ398 na presença de ligantes por 1 hora. Para o immunoblotting, os lisados de células inteiras foram coletadas em tampão RIPA (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) e a concentração de proteína da amostra foi avaliada usando o ensaio de proteínas BCA (Thermo Scientific). Quantidades iguais de proteína (30  $\mu$ g por raia) foram carregadas em géis de Bis-Tris 4 a 12% (Invitrogen) antes de um SDS-Page ser realizado. As proteínas foram transferidas para membranas de nitrocelulose e sondadas com anticorpos contra p-FGFR, FGFR2 total, p-MAPK, MAPK total, p-S6, S6 total, B-actina (Cell Signaling Technology, Danvers, MA, EUA), e FGFR3 total (Santa Cruz, Dallas, TX, EUA). As membranas foram bloqueadas com um tampão de bloqueio Odyssey por 1 h à temperatura ambiente e incubadas durante a noite a 4°C em uma solução de anticorpo primário diluída em tampão de bloqueio Odyssey (1:1000). Após três lavagens em solução salina tamponada com Tris e 0,1% de Tween (TBST), as membranas foram sondadas com antissoros secundários marcados com corante IR 670 ou 800cw de cabra anti-camundongo ou de burro anti-coelho em um tampão de bloqueio Odyssey por 1 h à temperatura ambiente. Lavagens foram repetidas após a marcação secundária e as membranas foram visualizadas usando um digitalizador LiCor Odyssey e o software analítico Odyssey 3,0 (LiCor, Lincoln, NE, EUA). Os efeitos de JNJ-42756493 foram comparados com AZD4547 e NVP-BGJ398. Conforme mostrado nas Figuras 14A a 14H, o tratamento com JNJ-42756493, AZD4547 e NVP-BGJ398 (colunas 2 a 4 em cada blot) inibiu a fosforilação de 14A-14H e os alvos a jusante, isto é, MAPK e S6.

TESTE DE RESPOSTA AO FÁRMACO PARA LINHAGENS  
CELULARES QUE SUPEREXPRESSAM A FUSÃO DE FGFR

[00229] As células RK3E estavelmente transfectadas com a fusão de FGFR foram semeadas em placas de 96 poços (1000 células/poço) em triplicatas em meio de cultura completo mais os ligantes FGF-1 e FGF-2. Após 24 horas, as células foram privadas de soro durante a noite, então, realimentadas com meio de crescimento com SFB a 0,5%. 72 horas depois do plaqueamento, as células foram tratadas com várias concentrações de uma diluição em série 1:3 de 18 pontos, começando em 10  $\mu$ M, de JNJ493, AZD4547 (AZD), e NVP-BGJ398 (NVS). As placas de microtitulação foram incubadas durante 72 horas testadas quanto ao teor de adenosina trifosfato (ATP; um marcador de células metabolicamente ativas) usando o kit de viabilidade celular Cell Titer-Glo® Luminescente (Promega Corp., Madison, WI, EUA) de acordo com as instruções do fabricante, com modificações. Brevemente, as células foram deixadas equilibrar até a temperatura ambiente e neste momento uma mistura a 1:1 de reagente Cell Titer-Glo® foi adicionado. As células foram então colocadas em um agitador orbital por 2 minutos e incubadas durante 10 minutos à temperatura ambiente para estabilizar o sinal luminescente. A luminescência foi quantificada e as medições foram conduzidas usando um leitor de placas Multilabel Envision (Perkin Elmer; Waltham, MA, EUA). Os valores de IC<sub>50</sub> (mostrados na tabela 14) foram calculados usando GraphPad Prism 5.0. Conforme mostrado na tabela 14, as células contendo as fusões de FGFR mostraram sensibilidade ao inibidor de JNJ-42756493, AZD4547 e NVP-BGJ398 *in vitro*, com JNJ-42756493 apresentando sensibilidade aprimorada (faixa de concentração de nanomolares) em comparação a AZD4547 e NVP-BGJ398 enquanto o vetor vazio de controle não.

**TABELA 14**

Estimulada	Proliferação (IC50)		
	Transgene RK3E	JNJ493 (nM)	AZD (nM)
Vetor	7010	8011	>10 µM
AFF3	0,1133	2,809	2,273
BAIA2PL1	0,3211	11,54	5,162
BICC1	0,3303	6,448	18,19
CASP7	0,4718	4,107	241,5
CCDC6	0,1894	13,36	10,72
OFD1	0,2303	7,259	15,99
TACC3-V1	0,2915	16,53	2,594
TACC3-V3	0,2706	8,664	4,092
FGFR2	>10 µM	6501	>10 µM
FGFR3	>10 µM	5686	6344
KRAS	1621	1478	2136

AZD = AZD4547; NVS = NVP-BGJ398

**TABELA 15**

Alvo	Sequências da sonda
FGFR3TACC3 V1	TCCACCGACGTAAAGG (SEQ ID NO: 43)
FGFR3TACC3 V3	TCCACCGACGTGCCAG (SEQ ID NO: 44)
FGFR2BICC1	CCAATGAGATCATGGAGG (SEQ ID NO: 45)
Íntron FGFR3TACC3	CCTTCTGGCCCAGGTG (SEQ ID NO: 46)
FGFR3BAIAP2L1	CACCGACAATGTTATGG (SEQ ID NO: 47)
FGFR2AFF3	TCACAACCAATGAGGAGAGT (SEQ ID NO: 48)
FGFR2CASP7	CTGCCATCTCATTGGT (SEQ ID NO: 49)
FGFR2CCDC6	AATGAGCAAGCCAGGGC (SEQ ID NO: 50)
FGFR2OFD1	AAGTTGTGTCTCATTGGTT (SEQ ID NO: 51)

Alvo	Sequências da sonda
FGFR3 R248C	CTGGAGTGCTCCCC (SEQ ID NO: 52)
FGFR3 S249C	AGCGCTGCCCGCA (SEQ ID NO: 53)
FGFR3 G370C	GCGTGCAGTGTGTAT (SEQ ID NO: 54)
FGFR3 Y373	CTGCACACACTGC (SEQ ID NO: 55)

[00230] Os versados na técnica apreciarão que várias alterações e modificações podem ser feitas às modalidades preferidas da invenção e que tais alterações e modificações podem ser feitas sem se afastar do espírito da invenção. Pretende-se, portanto, abranger nas reivindicações em anexo todas essas alterações e modificações, conforme se enquadram no verdadeiro espírito e escopo da invenção.

[00231] As descrições de cada patente, pedido de patente, e publicação citada ou descrita neste documento estão aqui incorporadas por referência nas suas totalidades.

#### SEQUÊNCIA DE NUCLEOTÍDEOS DOS GENES DE FUSÃO DE FGFR

[00232] As sequências de nucleotídeos para o cDNA da fusão de FGFR que foram manipuladas em vetores de expressão é fornecida na tabela 16. As sequências sublinhadas correspondem a FGFR3 ou FGFR2, as sequências em fonte normal representam os parceiros de fusão e a sequência em *itálico* representa a sequência do íntron do gene FGFR3.

**TABELA 16**

FGFR3:TACC 3 v1 (3271 pares de base) (SEQ ID nº:56)	<u>&gt;ATGGGCGCCCCTGCCTGCGCCCTCGCGCTCTGCGTGGCCGT</u>
	<u>GGCCATCGTGGCCGGCGCCTCCTCGGAGTCCTTGGGGACGGA</u>
	<u>GCAGCGCGTTCGTGGGGCGAGCGGCAGAAGTCCCGGGCCCAG</u>
	<u>AGCCCGGCCAGCAGGAGCAGTTGGTCTTCGGCAGCGGGGATG</u>
	<u>CTGTGGAGCTGAGCTGTCCCCGCCCGGGGGTGGTCCCATGG</u>
	<u>GGCCCACTGTCTGGGTCAAGGATGGCACAGGGCTGGTGCCCT</u>
	<u>CGGAGCGTGTCTGGTGGGGCCCCAGCGGCTGCAGGTGCTGA</u>
	<u>ATGCCTCCCACGAGGACTCCGGGGCCTACAGCTGCCGGCAGC</u>

GGCTCACGCAGCGCGTACTGTGCCACTTCAGTGTGCGGGTGA  
CAGACGCTCCATCCTCGGGAGATGACGAAGACGGGGAGGACG  
AGGCTGAGGACACAGGTGTGGACACAGGGGCCCTTACTGGA  
CACGGCCCGAGCGGATGGACAAGAAGCTGCTGGCCGTGCCGG  
CCGCCAACACCGTCCGCTTCCGCTGCCAGCCGCTGGCAACC  
CCACTCCCTCCATCTCCTGGCTGAAGAACGGCAGGGAGTTCCG  
CGGCGAGCACCGCATTGGAGGCATCAAGCTGCGGCATCAGCA  
GTGGAGCCTGGTCATGGAAAGCGTGGTGCCCTCGGACCGCGG  
CAACTACACCTGCGTCGTGGAGAACAAGTTTGGCAGCATCCGG  
CAGACGTACACGCTGGACGTGCTGGAGCGCTCCCCGCACCGG  
CCCATCCTGCAGGCGGGGCTGCCGGCCAACCAGACGGCGGTG  
CTGGGCAGCGACGTGGAGTTCCACTGCAAGGTGTACAGTGAC  
GCACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAGCACGTGGAGGTGAATG  
GCAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCACACCCTACGTTACCGTGC  
TCAAGACGGCGGGCGCTAACACCACCGACAAGGAGCTAGAGG  
TTCTCTCCTTGCACAACGTCACCTTTGAGGACGCCGGGGAGTA  
CACCTGCCTGGCGGGCAATTCTATTGGTTTTCTCATCACTCTG  
CGTGGCTGGTGGTGTGCTGCCAGCCGAGGAGGAGCTGGTGGAG  
CTGACGAGGCGGGCAGTGTGTATGCAGGCATCCTCAGCTACG  
GGGTGGGCTTCTTCCTGTTTCATCCTGGTGGTGGCGGCTGTGAC  
GCTCTGCCGCCTGCGCAGCCCCCAAGAAAGGCCTGGGCTC  
CCCCACCGTGCACAAGATCTCCCGCTTCCCGCTCAAGCGACAG  
GTGTCCCTGGAGTCCAACGCGTCCATGAGCTCCAACACACCAC  
TGGTGCGCATCGCAAGGCTGTCTCAGGGGAGGGCCCCACGC  
TGGCCAATGTCTCCGAGCTCGAGCTGCCTGCCGACCCCAATG  
GGAGCTGTCTCGGGCCCGGCTGACCCTGGGCAAGCCCCTTGG  
GGAGGGCTGCTTCGGCCAGGTGGTCATGGCGGAGGCCATCGG  
CATTGACAAGGACCGGGCCGCAAGCCTGTCACCGTAGCCGT  
GAAGATGCTGAAAGACGATGCCACTGACAAGGACCTGTCCGGAC  
CTGGTGTCTGAGATGGAGATGATGAAGATGATCGGGAAACACA  
AAAACATCATCAACCTGCTGGGCGCCTGCACGCAGGGCGGGC  
CCCTGTACGTGCTGGTGGAGTACGCGGCCAAGGGTAACCTGC  
GGGAGTTTCTGCGGGCGCGGCGGCCCCCGGGCCTGGACTACT  
CCTTCGACACCTGCAAGCCGCCGAGGAGCAGCTCACCTTCAA  
GGACCTGGTGTCTGTGCCTACCAGGTGGCCCGGGGCATGGA  
GTACTTGGCCTCCAGAAGTGCATCCACAGGGACCTGGCTGCC  
CGCAATGTGCTGGTGACCGAGGACAACGTGATGAAGATCGCAG  
ACTTCGGGCTGGCCCGGGACGTGCACAACCTCGACTACTACAA  
GAAGACGACCAACGGCCGGCTGCCCGTGAAGTGGATGGCGCC  
TGAGGCCTTGTGGACCGAGTCTACACTACCAGAGTGACGTC  
TGGTCCCTTGGGGTCTGCTCTGGGAGATCTTACGCTGGGGG  
GCTCCCCGTACCCCGGCATCCCTGTGGAGGAGCTTTCAAGCT  
GCTGAAGGAGGGCCACCGCATGGACAAGCCCGCCAACCTGCAC  
ACACGACCTGTACATGATCATGCGGGAGTGCTGGCATGCCGCG  
CCCTCCAGAGGGCCACCTTCAAGCAGCTGGTGGAGGACCTG

	<p>GACCGTGTCTTACCGTGACGTCCACCGACGTAAAGGCGACAC  AGGAGGAGAACCGGGAGCTGAGGAGCAGGTGTGAGGAGCTCC  ACGGGAAGAACCTGGAACCTGGGGAAGATCATGGACAGGTTCTGA  AGAGGTTGTGTACCAGGCCATGGAGGAAGTTCAGAAGCAGAAG  GAACTTTCCAAGCTGAAATCCAGAAAGTTCTAAAAGAAAAAGA  CCAACTTACCACAGATCTGAACTCCATGGAGAAGTCCTTCTCCG  ACCTCTTCAAGCGTTTTGAGAAACAGAAAGAGGTGATCGAGGG  CTACCGCAAGAACGAAGAGTCACTGAAGAAGTGCCTGGAGGAT  TACCTGGCAAGGATCACCCAGGAGGGCCAGAGGTACCAAGCC  CTGAAGGCCACGCGGAGGAGAAGCTGCAGCTGGCAAACGAG  GAGATCGCCAGGTCCGGAGCAAGGCCAGGCCGAAGCGTTG  GCCCTCCAGGCCAGCCTGAGGAAGGAGCAGATGCGCATCCAG  TCGCTGGAGAAGACAGTGGAGCAGAAGACTAAAGAGAACGAG  GAGCTGACCAGGATCTGCGACGACCTCATCTCCAAGATGGAGA  AGATCTGA</p>
<p>FGFR3:TACC  3 v3 (3376  pares de base)  (SEQ ID n°:57)</p>	<p>&gt;ATGGGCGCCCCTGCCTGCGCCCTCGCGCTCTGCGTGGCCGT  GGCCATCGTGGCCGGCGCCTCCTCGGAGTCCTTGGGGACGGA  GCAGCGCGTCGTGGGGCGAGCGGCAGAAGTCCCGGGCCCAG  AGCCCGGCCAGCAGGAGCAGTTGGTCTTCGGCAGCGGGGATG  CTGTGGAGCTGAGCTGTCCCCCGCCGGGGGTGGTCCCATGG  GGCCCACTGTCTGGGTCAAGGATGGCACAGGGCTGGTGCCCT  CGGAGCGTGTCTGGTGGGGCCCCAGCGGCTGCAGGTGCTGA  ATGCCTCCCACGAGGACTCCGGGGCCTACAGCTGCCGGCAGC  GGCTCACGCAGCGCGTACTGTGCCACTTCAGTGTGCGGGTGA  CAGACGCTCCATCCTCGGGAGATGACGAAGACGGGGAGGACG  AGGCTGAGGACACAGGTGTGGACACAGGGGCCCTTACTGGA  CACGGCCCCGAGCGGATGGACAAGAAGCTGCTGGCCGTGCCGG  CCGCCAACACCGTCCGCTTCCGCTGCCAGCCGCTGGCAACC  CCACTCCCTCCATCTCCTGGCTGAAGAACGGCAGGGAGTTCCG  CGGCGAGCACCGCATTGGAGGCATCAAGCTGCGGCATCAGCA  GTGGAGCCTGGTCATGGAAAGCGTGGTGCCCTCGGACCGCGG  CAACTACACCTGCGTCTGGAGAACAAGTTTGGCAGCATCCGG  CAGACGTACACGCTGGACGTGCTGGAGCGCTCCCCGCACCGG  CCATCCTGCAGGCGGGGCTGCCGGCCAACCAGACGGCGGTG  CTGGGCAGCGACGTGGAGTTCCAAGGTGTACAGTGAC  GCACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAGCACGTGGAGGTGAATG  GCAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCACACCCTACGTTACCGTGC  TCAAGACGGCGGGCGCTAACACCACCGACAAGGAGCTAGAGG  TTCTCTCCTTGACAAACGTCACCTTTGAGGACGCCGGGGAGTA  CACCTGCCTGGCGGGCAATTCTATTGGTTTTTCTCATCACTCTG  CGTGGCTGGTGGTGTGCTGCCAGCCGAGGAGGAGCTGGTGGAGG  CTGACGAGGCGGGCAGTGTGTATGCAGGCATCCTCAGCTACG  GGGTGGGCTTCTTCTGTTTCATCCTGGTGGTGGCGGCTGTGAC  GCTCTGCCGCCTGCGCAGCCCCCAAGAAAGGCCTGGGCTC</p>

	<p> <u>CCCCACCGTGCACAAGATCTCCCGCTTCCCGCTCAAGCGACAG</u>  <u>GTGTCCCTGGAGTCCAACGCGTCCATGAGCTCCAACACACCAC</u>  <u>TGGTGCGCATCGCAAGGCTGTCTCAGGGGAGGGCCCCACGC</u>  <u>TGGCCAATGTCTCCGAGCTCGAGCTGCCTGCCGACCCCAAATG</u>  <u>GGAGCTGTCTCGGGCCCGGCTGACCCTGGGCAAGCCCCTTGG</u>  <u>GGAGGGCTGCTTCGGCCAGGTGGTCATGGCGGAGGCCATCGG</u>  <u>CATTGACAAGGACCGGGCCGCAAGCCTGTCACCGTAGCCGT</u>  <u>GAAGATGCTGAAAGACGATGCCACTGACAAGGACCTGTCCGAC</u>  <u>CTGGTGTCTGAGATGGAGATGATGAAGATGATCGGGAAACACA</u>  <u>AAAACATCATCAACCTGCTGGGCGCCTGCACGCAGGGCGGGC</u>  <u>CCCTGTACGTGCTGGTGGAGTACGCGGCCAAGGGTAACCTGC</u>  <u>GGGAGTTTCTGCGGGCGCGGCGGCCCCCGGGCCTGGACTACT</u>  <u>CCTTCGACACCTGCAAGCCGCCGAGGAGCAGCTCACCTTCAA</u>  <u>GGACCTGGTGTCTGTGCCTACCAGGTGGCCCGGGGCATGGA</u>  <u>GTACTTGGCCTCCAGAAGTGCATCCACAGGGACCTGGCTGCC</u>  <u>CGCAATGTGCTGGTACCAGGACAACGTGATGAAGATCGCAG</u>  <u>ACTTCGGGCTGGCCCGGGACGTGCACAACCTCGACTACTACAA</u>  <u>GAAGACGACCAACGGCCGGCTGCCCGTGAAGTGGATGGCGCC</u>  <u>TGAGGCCTTGTTTGACCGAGTCTACACTACCAGAGTGACGTC</u>  <u>TGGTCCTTTGGGGTCTGCTCTGGGAGATCTTACGCTGGGGG</u>  <u>GCTCCCGTACCCCGGCATCCCTGTGGAGGAGCTCTTCAAGCT</u>  <u>GCTGAAGGAGGGCCACCGCATGGACAAGCCCGCCAACCTGCAC</u>  <u>ACACGACCTGTACATGATCATGCGGGAGTGCTGGCATGCCGCG</u>  <u>CCCTCCCAGAGGCCACCTTCAAGCAGCTGGTGGAGGACCTG</u>  <u>GACCGTGTCTTACCGTGACGTCCACCGACGTGCCAGGCCAC</u>  <u>CCCCAGGTGTTCCCGCGCCTGGGGGCCACCCCTGTCCACCG</u>  <u>GACCTATAGTGGACCTGCTCCAGTACAGCCAGAAGGACCTGGA</u>  <u>TGCAGTGGTAAAGGCGACACAGGAGGAGAACCGGGAGCTGAG</u>  <u>GAGCAGGTGTGAGGAGCTCCACGGGAAGAACCTGGAACCTGGG</u>  <u>GAAGATCATGGACAGGTTTGAAGAGGTTGTGTACCAGGCCATG</u>  <u>GAGGAAGTTCAGAAGCAGAAGGAACTTTCCAAAGCTGAAATCC</u>  <u>AGAAAGTTCTAAAAGAAAAGACCAACTTACCACAGATCTGAAC</u>  <u>TCCATGGAGAAGTCCTTCTCCGACCTCTTCAAGCGTTTTGAGAA</u>  <u>ACAGAAAGAGGTGATCGAGGGCTACCGCAAGAACGAAGAGTCA</u>  <u>CTGAAGAAGTGCGTGGAGGATTACCTGGCAAGGATCACCCAGG</u>  <u>AGGGCCAGAGGTACCAAGCCCTGAAGGCCACGCGGAGGAGA</u>  <u>AGCTGCAGCTGGCAAACGAGGAGATCGCCCAGGTCCGGAGCA</u>  <u>AGGCCCAGGCGGAAGCGTTGGCCCTCCAGGCCAGCCTGAGGA</u>  <u>AGGAGCAGATGCGCATCCAGTCGCTGGAGAAGACAGTGGAGC</u>  <u>AGAAGACTAAAGAGAACGAGGAGCTGACCAGGATCTGCGACGA</u>  <u>CCTCATCTCCAAGATGGAGAAGATCTGA</u> </p>
<p>         íntron FGFR3:          TACC3 (4463          pares de base)       </p>	<p> <u>&gt;ATGGGCGCCCCTGCCTGCGCCCTCGCGCTCTGCGTGGCCGT</u>  <u>GGCCATCGTGGCCGGCGCCTCCTCGGAGTCTTGGGGACGGA</u>  <u>GCAGCGCGTCTGGGGCGAGCGGCAGAAGTCCCGGGGCCAG</u> </p>



(SEQ ID n°:58)	<u>AGCCCGGCCAGCAGGAGCAGTTGGTCTTCGGCAGCGGGGATG</u> <u>CTGTGGAGCTGAGCTGTCCCCGCCCGGGGTGGTCCCATGG</u> <u>GGCCCACTGTCTGGGTCAAGGATGGCACAGGGCTGGTGCCCT</u> <u>CGGAGCGTGTCTGGTGGGGCCCCAGCGGCTGCAGGTGCTGA</u> <u>ATGCCTCCCACGAGGACTCCGGGGCCTACAGCTGCCGGCAGC</u> <u>GGCTCACGCAGCGCTACTGTGCCACTTCAGTGTGCCGGTGA</u> <u>CAGACGCTCCATCCTCGGGAGATGACGAAGACGGGGAGGACG</u> <u>AGGCTGAGGACACAGGTGTGGACACAGGGGGCCCTTACTGGA</u> <u>CACGGCCCCGAGCGGATGGACAAGAAGCTGCTGGCCGTGCCGG</u> <u>CCGCCAACACCGTCCGCTTCCGCTGCCCAGCCGCTGGCAACC</u> <u>CCACTCCCTCCATCTCCTGGCTGAAGAACGGCAGGGAGTTCCG</u> <u>CGGCGAGCACCGCATTGGAGGCATCAAGCTGCGGCATCAGCA</u> <u>GTGGAGCCTGGTCATGGAAAGCGTGGTGCCCTCGGACCGCGG</u> <u>CAACTACACCTGCGTCTGGAGAACAAGTTTGGCAGCATCCGG</u> <u>CAGACGTACACGCTGGACGTGCTGGAGCGCTCCCCGCACCGG</u> <u>CCCATCCTGCAGGCGGGGCTGCCGGCCAACCAGACGGCGGTG</u> <u>CTGGGCAGCGACGTGGAGTTCCACTGCAAGGTGTACAGTGAC</u> <u>GCACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAGCACGTGGAGGTGAATG</u> <u>GCAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCACACCCTACGTTACCGTGC</u> <u>TCAAGACGGCGGGCGCTAACACCACCGACAAGGAGCTAGAGG</u> <u>TTCTCTCCTTGCAACGTCACCTTTGAGGACGCCGGGGAGTA</u> <u>CACCTGCCTGGCGGGCAATTCTATTGGGTTTTCTCATCACTCTG</u> <u>CGTGGCTGGTGGTGTGCCAGCCGAGGAGGAGCTGGTGGAGG</u> <u>CTGACGAGGCGGGCAGTGTGTATGCAGGCATCCTCAGCTACG</u> <u>GGGTGGGCTTCTTCCTGTTTCATCCTGGTGGTGGCGGCTGTGAC</u> <u>GCTCTGCCGCCTGCGCAGCCCCCAAGAAAGGCCTGGGCTC</u> <u>CCCCACCGTGCAACAAGATCTCCCGCTTCCCGCTCAAGCGACAG</u> <u>GTGTCCCTGGAGTCCAACGCGTCCATGAGCTCCAACACACCAC</u> <u>TGGTGCGCATCGCAAGGCTGTCTCAGGGGAGGGCCCCACGC</u> <u>TGGCCAATGTCTCCGAGCTCGAGCTGCCTGCCGACCCCAAATG</u> <u>GGAGCTGTCTCGGGCCCGGCTGACCCTGGGCAAGCCCCTTGG</u> <u>GGAGGGCTGCTTCGGCCAGGTGGTCATGGCGGAGGCCATCGG</u> <u>CATTGACAAGGACCGGGCCGCCAAGCCTGTCACCGTAGCCGT</u> <u>GAAGATGCTGAAAGACGATGCCACTGACAAGGACCTGTCCGGAC</u> <u>CTGGTGTCTGAGATGGAGATGATGAAGATGATCGGGAAACACA</u> <u>AAAACATCATCAACCTGCTGGGCGCCTGCACGCAGGGCGGGC</u> <u>CCCTGTACGTGCTGGTGGAGTACGCGGCCAAGGGTAACCTGC</u> <u>GGGAGTTTCTGCGGGCGCGGCGGCCCCCGGGCCTGGACTACT</u> <u>CCTTCGACACCTGCAAGCCGCCCGAGGAGCAGCTCACCTTCAA</u> <u>GGACCTGGTGTCTGTGCCTACCAGGTGGCCCGGGGCATGGA</u> <u>GTAATTGGCCTCCAGAAGTGATCCACAGGGACCTGGCTGCC</u> <u>CGCAATGTGCTGGTACCAGGACAACGTGATGAAGATCGCAG</u> <u>ACTTCGGGCTGGCCCGGGACGTGCACAACCTCGACTACTACAA</u> <u>GAAGACGACCAACGGCCGGCTGCCCGTGAAGTGGATGGCGCC</u> <u>TGAGGCCTTGTGGACCGAGTCTACACTACCAGAGTGACGTC</u>
----------------	--

TGGTCCTTTGGGGTCCTGCTCTGGGAGATCTTCACGCTGGGGG  
GCTCCCCGTACCCCGGCATCCCTGTGGAGGAGCTCTTCAAGCT  
GCTGAAGGAGGGCCACCGCATGGACAAGCCCGCCAACTGCAC  
ACACGACCTGTACATGATCATGCGGGAGTGCTGGCATGCCGCG  
CCCTCCCAGAGGCCACCTTCAAGCAGCTGGTGGAGGACCTG  
GACCGTGTCTTACCGTGACGTCCACCGAC*gtgagtgtggcttggcct*  
*ggtgccacccgcctatgcccctccccctgccgtccccggccatcctgccccccagagtgtga*  
*ggtgtggggcgggcctt*TCTGGCCCAGGTGCCCTGGCTGACCTGGACT  
GCTCAAGCTCTTCCCAGAGCCCAGGAAGTTCTGAGAACCAAAT  
GGTGTCTCCAGGAAAAGTGTCTGGCAGCCCTGAGCAAGCCGTG  
GAGGAAAACCTTAGTTCTATTCTTAGACAGAAGAGTGACACC  
CGCCTCTGAGACCCTAGAAGACCCTTGCAGGACAGAGTCCCAG  
CACAAAGCGGAGACTCCGCACGGAGCCGAGGAAGAATGCAAA  
GCGGAGACTCCGCACGGAGCCGAGGAGGAATGCCGGCACGGT  
GGGGTCTGTGCTCCCGCAGCAGTGGCCACTTCGCCTCCTGGT  
GCAATCCCTAAGGAAGCCTGCGGAGGAGCACCCCTGCAGGGT  
CTGCCTGGCGAAGCCCTGGGCTGCCCTGCGGGTGTGGGCACC  
CCCGTGCCAGCAGATGGCACTCAGACCCTTACCTGTGCACACA  
CCTCTGCTCCTGAGAGCACAGCCCCAACCAACCACCTGGTGGC  
TGGCAGGGCCATGACCCTGAGTCCTCAGGAAGAAGTGGCTGC  
AGGCCAAATGGCCAGCTCCTCGAGGAGCGGACCTGTAAAATA  
GAATTTGATGTATCTGATGGCGCCACCAGCAAAAGGGCACCCC  
CACCAAGGAGACTGGGAGAGAGGTCCGGCCTCAAGCCTCCCT  
TGAGGAAAGCAGCAGTGAGGCAGCAAAAGGCCCCGCAGGAGG  
TGGAGGAGGACGACGGTAGGAGCGGAGCAGGAGAGGACCCC  
CCCATGCCAGCTTCTCGGGGCTCTTACCACCTCGACTGGGACA  
AAATGGATGACCCAACTTCATCCCGTTCGGAGGTGACACCAA  
GTCTGGTTGCAGTGAGGCCAGCCCCAGAAAGCCCTGAGAC  
CAGGCTGGGCCAGCCAGCGGCTGAACAGTTGCATGCTGGGCC  
TGCCACGGAGGAGCCAGGTCCCTGTCTGAGCCAGCAGCTGCA  
TTCAGCCTCAGCGGAGGACACGCCTGTGGTGCAGTTGGCAGC  
CGAGACCCCAACAGCAGAGAGCAAGGAGAGAGCCTTGAACCT  
GCCAGCACCTCGCTTCCCACAAGCTGTCCAGGCAGTGAGCCAG  
TGCCACCCATCAGCAGGGGCAGCCTGCCTTGGAGCTGAAAG  
AGGAGAGCTTCAGAGACCCCGCTGAGGTTCTAGGCACGGGCG  
CGGAGGTGGATTACCTGGAGCAGTTTGGAACCTCCTCGTTTAA  
GGAGTCGGCCTTGAGGAAGCAGTCCTTATACCTCAAGTTCGAC  
CCCCTCCTGAGGGACAGTCCTGGTAGACCAGTGCCCGTGGCC  
ACCGAGACCAGCAGCATGCACGGTGCAAATGAGACTCCCTCAG  
GACGTCCGCGGGAAGCCAAGCTTGTGGAGTTGATTTCTTGGG  
AGCACTGGACATTCTGTGCCAGGCCACCCCCAGGTGTTCCC  
GCGCCTGGGGGCCACCCCTGTCCACCGGACCTATAGTGGAC  
CTGCTCCAGTACAGCCAGAAGGACCTGGATGCAGTGGTAAAGG  
CGACACAGGAGGAGAACCGGGAGCTGAGGAGCAGGTGTGAGG  
AGCTCCACGGGAAGAACCTGGAACCTGGGGAAGATCATGGACA

	<p>GGTTCGAAGAGGTTGTGTACCAGGCCATGGAGGAAGTTTCAGAA  GCAGAAGGAACTTTCCAAAGCTGAAATCCAGAAAGTTCTAAAAG  AAAAAGACCAACTTACCACAGATCTGAACTCCATGGAGAAGTCC  TTCTCCGACCTCTTCAAGCGTTTTGAGAAACAGAAAGAGGTGAT  CGAGGGCTACCGCAAGAACGAAGAGTCACTGAAGAAGTGCGT  GGAGGATTACCTGGCAAGGATCACCCAGGAGGGCCAGAGGTA  CCAAGCCCTGAAGGCCACGCGGAGGAGAAGCTGCAGCTGGC  AAACGAGGAGATCGCCAGGTCCGGAGCAAGGCCAGGCGGA  AGCGTTGGCCCTCCAGGCCAGCCTGAGGAAGGAGCAGATGCG  CATCCAGTCGCTGGAGAAGACAGTGGAGCAGAAGACTAAAGAG  AACGAGGAGCTGACCAGGATCTGCGACGACCTCATCTCCAAGA  TGGAGAAGATCTGA</p>
<p>FGFR3:BAIAP  2L1 (3765  pares de base)  (SEQ ID nº:59)</p>	<p>&gt;ATGGGCGCCCCTGCCTGCGCCCTCGCGCTCTGCGTGGCCGT  GGCCATCGTGGCCGGCGCCTCCTCGGAGTCCTTGGGGACGGA  GCAGCGCGTCGTGGGGCGAGCGGCAGAAGTCCCGGGCCAG  AGCCCGGCCAGCAGGAGCAGTTGGTCTTCGGCAGCGGGGATG  CTGTGGAGCTGAGCTGTCCCCGCCCCGGGGTGGTCCCATGG  GGCCCACTGTCTGGGTCAAGGATGGCACAGGGCTGGTGCCT  CGGAGCGTGTCTGGTGGGGCCCCAGCGGCTGCAGGTGCTGA  ATGCCTCCCACGAGGACTCCGGGGCCTACAGCTGCCGGCAGC  GGCTCACGCAGCGCGTACTGTGCCACTTCAGTGTGCGGGTGA  CAGACGCTCCATCCTCGGGAGATGACGAAGACGGGGAGGACG  AGGCTGAGGACACAGGTGTGGACACAGGGGCCCTTACTGGA  CACGGCCCCGAGCGGATGGACAAGAAGCTGCTGGCCGTGCCGG  CCGCCAACACCGTCCGCTTCCGCTGCCAGCCGCTGGCAACC  CCACTCCCTCCATCTCCTGGCTGAAGAACGGCAGGGAGTTCCG  CGGCGAGCACCGCATTGGAGGCATCAAGCTGCGGCATCAGCA  GTGGAGCCTGGTCATGGAAGCGTGGTGCCTCGGACCGCGG  CAACTACACCTGCGTTCGTGGAGAACAAGTTTGGCAGCATCCGG  CAGACGTACACGCTGGACGTGCTGGAGCGCTCCCCGCACCGG  CCCATCCTGCAGGCGGGGCTGCCGGCCAACCAGACGGCGGTG  CTGGGCAGCGACGTGGAGTTCCACTGCAAGGTGTACAGTGAC  GCACAGCCCCACATCCAGTGGCTCAAGCACGTGGAGGTGAATG  GCAGCAAGGTGGGCCCGGACGGCACACCCTACGTTACCGTGC  TCAAGTCCTGGATCAGTGAGAGTGTGGAGGCCGACGTGCGCCT  CCGCTGGCCAATGTGTCGGAGCGGGACGGGGGCGAGTACCT  CTGTGAGCCACCAATTTTCATAGGCGTGGCCGAGAAGGCCTTT  TGGCTGAGCGTTCACGGGCCCGAGCAGCCGAGGAGGAGCTG  GTGGAGGCTGACGAGGCGGGCAGTGTGTATGCAGGCATCCTC  AGCTACGGGGTGGGCTTCTTCTGTTTCATCCTGGTGGTGGCGG  CTGTGACGCTCTGCCGCCTGCGCAGCCCCCAAGAAAGGCC  TGGGCTCCCCACCGTGCACAAGATCTCCCGCTTCCCGCTCAA  GCGACAGGTGTCCCTGGAGTCCAACGCGTCCATGAGCTCCAAC  ACACCACTGGTGCGCATCGCAAGGCTGTCTCAGGGGAGGGC</p>

CCCACGCTGGCCAATGTCTCCGAGCTCGAGCTGCCTGCCGAC  
CCCAAATGGGAGCTGTCTCGGGCCCGGCTGACCCTGGGCAAG  
CCCCTTGGGAGGGCTGCTTCGGCCAGGTGGTCATGGCGGAG  
GCCATCGGCATTGACAAGGACCGGGCCGCAAGCCTGTCACC  
GTAGCCGTGAAGATGCTGAAAGACGATGCCACTGACAAGGACC  
TGTCGGACCTGGTGTCTGAGATGGAGATGATGAAGATGATCGG  
GAAACACAAAACATCATCAACCTGCTGGGCGCCTGCACGCAG  
GGCGGGCCCCTGTACGTGCTGGTGGAGTACGCGGCCAAGGGT  
AACCTGCGGGAGTTTCTGCGGGCGCGGCCGCCCGGGCCTG  
GACTACTCCTTCGACACCTGCAAGCCGCCCGAGGAGCAGCTCA  
CCTTCAAGGACCTGGTGTCTGTGCCTACCAGGTGGCCCCGG  
GCATGGAGTACTTGGCCTCCCAGAAGTGCATCCACAGGGACCT  
GGCTGCCCGCAATGTGCTGGTGACCGAGGACAACGTGATGAA  
GATCGCAGACTTCGGGCTGGCCCCGGGACGTGCACAACCTCGA  
CTACTACAAGAAGACGACCAACGGCCGGCTGCCCGTGAAGTG  
GATGGCGCCTGAGGCCTTGTGGACCGAGTCTACTCACCAG  
AGTGACGTCTGGTCCTTTGGGGTCTGCTCTGGGAGATCTTCA  
CGCTGGGGGGCTCCCCGTACCCCGGCATCCCTGTGGAGGAGC  
TCTTCAAGCTGCTGAAGGAGGGCCACCGCATGGACAAGCCCG  
CCAAGTGCACACACGACCTGTACATGATCATGCGGGAGTGCTG  
GCATGCCGCGCCCTCCCAGAGGCCACCTTCAAGCAGCTGGT  
GGAGGACCTGGACCGTGTCTTACCGTGACGTCCACCGACAAT  
GTTATGGAACAGTTCAATCCTGGGCTGCGAAATTAATAAACCT  
GGGGAAAATTATGAGAAAGCTGTAAACGCTATGATCCTGGCA  
GGAAAAGCCTACTACGATGGAGTGGCCAAGATCGGTGAGATTG  
CCTACTGGGTCCCCCGTGTCAACTGAACTGGGACATGTCTCAT  
AGAGATTTCAAGTACCCACAAGAACTCAACGAGAGTCTTGATG  
AAAATTTTAAAAATTCCACAAAGAGATTATCCATGAGCTGGAGA  
AGAAGATAGAATTGACGTGAAATATATGAACGCAACTCTAAAA  
AGATACCAAACAGAACACAAGAATAAATTAGAGTCTTTGGAGAA  
ATCCCAAGCTGAGTTGAAGAAGATCAGAAGGAAAAGCCAAGGA  
AGCCGAAACGCACTCAAATATGAACACAAAGAAATTGAGTATGT  
GGAGACCGTTACTTCTCGTCAGAGTGAATCCAGAAATTCATTG  
CAGATGGTTGCAAAGAGGCTCTGCTTGAAGAGAAGAGGCGCTT  
CTGCTTTCTGGTTGATAAGCACTGTGGCTTTGCAAACCACATAC  
ATTATTACTACTACAGTCTGCAGAACTACTGAATTCCAAGCTGC  
CTCGGTGGCAGGAGACCTGTGTTGATGCCATCAAAGTGCCAGA  
GAAAATCATGAATATGATCGAAGAAATAAAGACCCAGCCTCTA  
CCCCCGTGTCTGGAACCTCAGGCTTCACCCATGATCGAGAG  
AAGCAATGTGGTTAGGAAAGATTACGACACCCTTTCTAAATGCT  
CACCAAAGATGCCCCCGCTCCTTCAGGCAGAGCATATACCAG  
TCCCTTGATCGATATGTTTAATAACCCAGCCACGGCTGCCCCGA  
ATTCACAAAGGGTAAATAATTCAACAGGTAATTCCGAAGATCCC  
AGTTTACAGCGATCAGTTTCGGTTGCAACGGGACTGAACATGAT  
GAAGAAGCAGAAAGTGAAGACCATCTTCCCGCACACTGCGGGC

	<p>TCCAACAAGACCTTACTCAGCTTTGCACAGGGAGATGTCATCAC  GCTGCTCATCCCCGAGGAGAAGGATGGCTGGCTCTATGGAGAA  CACGACGTGTCCAAGGCGAGGGGTTGGTTCCCGTCGTCGTACA  CGAAGTTGCTGGAAGAAAATGAGACAGAAGCAGTGACCGTGCC  CACGCCAAGCCCCACACCAGTGAGAAGCATCAGCACCGTGAAC  TTGTCTGAGAATAGCAGTGTGTCATCCCCCACCCGACTACTT  GGAATGCTTGTCCATGGGGGCAGCTGCCGACAGGAGAGCAGA  TTCGGCCAGGACGACATCCACCTTTAAGGCCCCAGCGTCCAAG  CCCGAGACCGCGGCTCCTAACGATGCCAACGGGACTGCAAAG  CCGCCTTTTCTCAGCGGAGAAAACCCCTTTGCCACTGTGAAACT  CCGCCCGACTGTGACGAATGATCGCTCGGCACCCATCATTCTGA  TGA</p>
<p>FGFR2:BICC1  (5830 pares de  base)  (SEQ ID nº:60)</p>	<p>&gt;ATGGTCAGCTGGGGTCGTTTTATCTGCCTGGTCGTGGTCACC  ATGGCAACCTTGTCCCTGGCCCGGCCCTCCTCAGTTTAGTTG  AGGATACCACATTAGAGCCAGAAGAGCCACCAACCAATACCA  AATCTCTCAACCAGAAGTGTACGTGGCTGCGCCAGGGGAGTCC  CTAGAGGTGCGCTGCCTGTTGAAAGATGCCGCCGTGATCAGTT  GGAATAAGGATGGGGTGCCTTGGGGCCCAACAATAGGACAGT  GCTTATTGGGGAGTACTTGCAGATAAAGGGCGCCACGCCTAGA  GACTCCGGCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACA  GTGAAACTTGGTACTTCATGGTGAATGTCACAGATGCCATCTCA  TCCGGAGATGATGAGGATGACACCGATGGTGCGGAAGATTTTG  TCAGTGAGAACAGTAACAACAAGAGAGCACCATACTGGACCAA  CACAGAAAAGATGGAAAAGCGGCTCCATGCTGTGCCTGCGGGCC  AACACTGTCAAGTTTCGCTGCCAGCCGGGGGGAACCCAATGC  CAACCATGCGGTGGCTGAAAAACGGGAAGGAGTTTAAGCAGGA  GCATCGCATTGGAGGCTACAAGGTACGAAACCAGCACTGGAGC  CTCATTATGGAAAGTGTGGTCCCATCTGACAAGGGAAATTATAC  CTGTGTAGTGGAGAATGAATACGGGTCCATCAATCACACGTAC  CACCTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCTCACCGGCCCATCCTCC  AAGCCGGACTGCCGGCAAATGCCTCCACAGTGGTCGGAGGAG  ACGTAGAGTTTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGATGCCAGCCCCA  CATCCAGTGGATCAAGCACGTGGAAAAGAACGGCAGTAAATAC  GGGCCCGACGGGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCCGCC  GGTGTTAACACCACGGACAAAGAGATTGAGGTTCTCTATATTCCG  GAATGTAACTTTTGAGGACGCTGGGGAATATACGTGCTTGGCG  GGTAATTCTATTGGGATATCCTTTCACTCTGCATGGTTGACAGT  TCTGCCAGCGCCTGGAAGAGAAAAGGAGATTACAGCTTCCCCA  GACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATAGGGGTCTTCTTAAT  CGCCTGTATGGTGGTAACAGTCATCCTGTGCCGAATGAAGAAC  ACGACCAAGAAGCCAGACTTCAGCAGCCAGCCGGCTGTGCACA  AGCTGACCAAACGTATCCCCCTGCGGAGACAGGTAACAGTTTC  GGCTGAGTCCAGCTCCTCCATGAACTCCAACACCCCGCTGGTG  AGGATAACAACACGCCTCTCTTCAACGGCAGACACCCCATGC</p>

TGGCAGGGGTCTCCGAGTATGAACTTCCAGAGGACCCAAAATG  
GGAGTTTCCAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCCTGGGA  
GAAGGTTGCTTTGGGCAAGTGGTCATGGCGGAAGCAGTGGGA  
ATTGACAAAGACAAGCCCAAGGAGGCGGTCACCGTGGCCGTG  
AAGATGTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAGACCTTTCTGATCT  
GGTGTGAGAGATGGAGATGATGAAGATGATTGGGAAACACAAG  
AATATCATAAATCTTCTTGGAGCCTGCACACAGGATGGGCCTCT  
CTATGTCATAGTTGAGTATGCCTCTAAAGGCAACCTCCGAGAAT  
ACCTCCGAGCCCGGAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATG  
ACATTAACCGTGTTCCCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTG  
GTGTCATGCACCTACCAGCTGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGG  
CTTCCCAAAAATGTATTCATCGAGATTTAGCAGCCAGAAATGTTT  
TGGTAACAGAAAACAATGTGATGAAAATAGCAGACTTTGGACTC  
GCCAGAGATATCAACAATATAGACTATTACAAAAAGACCACCAA  
TGGGCGGCTTCCAGTCAAGTGGATGGCTCCAGAAGCCCTGTTT  
GATAGAGTATACACTCATCAGAGTGATGTCTGGTCTTCGGGGT  
GTTAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCTCGCCCTACCCA  
GGGATTCCCCTGGAGGAACTTTTTAAGCTGCTGAAGGAAGGAC  
ACAGAATGGATAAGCCAGCCAACCTGCACCAACGAACTGTACAT  
GATGATGAGGGACTGTTGGCATGCAGTGCCCTCCAGAGACCA  
ACGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGGATCGAATTCTCACTCT  
CACAACCAATGAGATCATGGAGGAAACAAATACGCAGATTGCTT  
GGCCATCAAACTGAAGATCGGAGCCAAATCCAAGAAAGATCC  
CCATATTAAGGTTTCTGGAAAGAAAGAAGATGTTAAAGAAGCCA  
AGGAAATGATCATGTCTGTCTTAGACACAAAAAGCAATCGAGTC  
ACACTGAAGATGGATGTTTCACATACAGAACATTCACATGTAAT  
CGGCAAAGGTGGCAACAATATTA AAAAAGTGATGGAAGAAACC  
GGATGCCATATCCACTTTCCAGATTCCAACAGGAATAACCAAGC  
AGAAAAAGCAACCAGGTATCTATAGCGGGACAACCAGCAGGA  
GTAGAATCTGCCCGAGTTAGAATTCGGGAGCTGCTTCCTTTGGT  
GCTGATGTTTGAGCTACCAATTGCTGGAATTCTTCAACCGGTTCC  
CTGATCCTAATTCCCCCTCTATTACGCATATATCACAAACGTACA  
ATATTTCAGTATCATTAAACAGCGTTCCCGAATGTATGGTGCTA  
CTGTCATAGTACGAGGGTCTCAGAATAACACTAGTGCTGTGAAG  
GAAGGAACTGCCATGCTGTTAGAACATCTTGCTGGGAGCTTAG  
CATCAGCTATTCCTGTGAGCACACAACACTAGATATTGCAGCTCAA  
CATCATCTCTTTATGATGGGTGCAAATGGGAGCAACATCAAACA  
TATCATGCAGAGAACAGGTGCTCAGATCCACTTTCCCTGATCCCA  
GTAATCCACAAAAGAAATCTACCGTCTACCTCCAGGGCACCATT  
GAGTCTGTCTGTCTTGCAAGGCAATATCTCATGGGTTGTCTTCC  
TCTTGTGTTGATGTTTGATATGAAGGAAGAAATTGAAGTAGATC  
CACAATTCATTGCGCAGTTGATGGAACAGCTTGATGTCTTCATC  
AGTATTAACCAAAGCCCAAACAGCCAAGCAAGTCTGTGATTGT  
GAAAAGTGTTGAGCGAAATGCCTTAAATATGTATGAAGCAAGGA  
AATGTCTCCTCGGACTTGAAAGCAGTGGGGTTACCATAGCAAC

	<p>CAGTCCATCCCCAGCATCCTGCCCTGCCGGCCTGGCATGTCCC  AGCCTGGATATCTTAGCTTCAGCAGGCCTTGGACTCACTGGAC  TAGGTCTTTTGGGACCCACCACCTTATCTCTGAACACTTCAACA  ACCCCAAACCTCACTCTTGAATGCTCTTAATAGCTCAGTCAGTCC  TTTGCAAAGTCCAAGTTCTGGTACACCCAGCCCCACATTATGGG  CACCCCCACTTGCTAATACTTCAAGTGCCACAGGTTTTTCTGCT  ATACCACACCTTATGATTCCATCTACTGCCCAAGCCACATTAAC  TAATATTTTGTGTCTGGAGTGCCACCTATGGGCACACAGCTC  CATCTCCCCCTCCTGGCTTGACTIONCTGTTGATGTCCATATCAAC  AGTATGCAGACCGAAGGCCAAAAAATCTCTGCTGCTTTAAATGG  ACATGCACAGTCTCCAGATATAAAATATGGTGCAATATCCACTT  CATCACTTGGAGAAAAAGTGCTGAGTGCAAATCACGGGGATCC  GTCCATCCAGACAAGTGGGTCTGAGCAGACATCTCCCAAATCA  AGCCCCACTGAAGGTTGTAATGATGCTTTTGTGAAGTAGGCAT  GCCTCGAAGTCCTTCCCATTCTGGGAATGCTGGTGACTTGAAA  CAGATGATGTGTCCCTCCAAGGTTTCTGTGCCAAAAGGCAGA  CAGTGGAACCTATTGCAAGGCACGAAAAACTCACACTTACACAGC  ACTGACAGGTTGCTCTCAGACCCTGAACTGAGTGCTACCGAAA  GCCCTTTGGCTGACAAGAAGGCTCCAGGGAGTGAGCGCGCTG  CAGAGAGGGCAGCAGCTGCCCAGCAAAACTCCGAAAGGGCCC  ACCTTGCTCCACGGTCATCATATGTCAACATGCAGGCATTTGAC  TATGAACAGAAGAAGCTATTAGCCACCAAAGCTATGTTAAAGAA  ACCAGTGGTGACGGAGGTCAGAACGCCACAAATACCTGGAGT  GGCCTGGGTTTTTCTAAATCCATGCCAGCTGAAACTATCAAGGA  GTTGAGAAGGGCCAATCATGTGTCCCTATAAGCCCACAATGACAA  CCACTTATGAGGGCTCATCCATGTCCCTTTCACGGTCCAACAGT  CGTGAGCACTTGGGAGGTGGAAGCGAATCTGATAACTGGAGAG  ACCGAAATGGAATTGGACCTGGAAGTCATAGTGAATTTGCAGCT  TCTATTGGCAGCCCTAAGCGTAAACAAAACAAATCAACGGAACA  CTATCTCAGCAGTAGCAATTACATGGACTGCATTTCTCGCTGA  CAGGAAGCAATGGCTGTAACTTAAATAGCTCTTTCAAAGGTTCT  GACCTCCCTGAGCTCTTCAGCAAACCTGGGCCTGGGCAAATACA  CAGATGTTTTCCAGCAACAAGAGATCGATCTTCAGACATTCTC  ACTCTCACAGATCAGGATCTGAAGGAGCTGGGAATAACTACTTT  TGGTGCCAGGAGGAAAATGCTGCTTGCAATTTCAGAATAAATA  AAAACCGAAGAAAGCTTTTTGAATCGCCAAATGCACGCACCTCT  TTCTGGAAGGTGGAGCGAGTGGAAGGCTACCCCGTCAGTATC  ACTCAGACATTGCTAGTGTCAGTGGCCGCTGGTAG</p>
<p>FGFR2:AFF3  (5109 pares de  base)  (SEQ ID nº:61)</p>	<p>&gt;ATGGTCAGCTGGGGTCGTTTCATCTGCCTGGTCGTGGTCACC  <u>ATGGCAACCTTGTCCCTGGCCCGGCCCTCCTTCAGTTTAGTTG</u>  <u>AGGATACCACATTAGAGCCAGAAGAGCCACCAACCAATACCA</u>  <u>AATCTCTCAACCAGAAGTGACGTGGCTGCGCCAGGGGAGTCCG</u>  <u>CTAGAGGTGCGCTGCCTGTTGAAAGATGCCGCCGTGATCAGTT</u>  <u>GGACTAAGGATGGGGTGCACCTTGGGGCCCAACAATAGGACAGT</u></p>

GCTTATTGGGGAGTACTTGCAGATAAAGGGGCGCCACGCCTAGA  
GACTCCGGCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACA  
GTGAAACTTGGTACTTCATGGTGAATGTCACAGATGCCATCTCA  
TCCGGAGATGATGAGGATGACACCGATGGTGCGGAAGATTTTG  
TCAGTGAGAACAGTAACAACAAGAGAGCACCATACTGGACCAA  
CACAGAAAAGATGGAAAAGCGGCTCCATGCTGTGCCTGCGGCC  
AACACTGTCAAGTTTCGCTGCCAGCCGGGGGAACCCAATGC  
CAACCATGCGGTGGCTGAAAACGGGAAGGAGTTTAAGCAGGA  
GCATCGCATTGGAGGCTACAAGGTACGAAACCAGCACTGGAGC  
CTCATTATGGAAAGTGTGGTCCCATCTGACAAGGGAAATTATAC  
CTGTGTAGTGGAGAATGAATACGGGTCCATCAATCACACGTAC  
CACCTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCTCACCGGCCCATCCTCC  
AAGCCGGACTGCCGGCAAATGCCTCCACAGTGGTCGGAGGAG  
ACGTAGAGTTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGATGCCAGCCCCA  
CATCCAGTGGATCAAGCACGTGGAAAAGAACGGCAGTAATAC  
GGGCCCGACGGGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCCGCC  
GGTGTTAACACCACGGACAAAGAGATTGAGGTTCTCTATATTGG  
GAATGTAACTTTTGAGGACGCTGGGGAATATACGTGCTTGGCG  
GGTAATTCTATTGGGATATCCTTTCCTCTGCATGGTTGACAGT  
TCTGCCAGCGCCTGGAAGAGAAAAGGAGATTACAGCTTCCCCA  
GACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATAGGGGTCTTCTTAAT  
CGCCTGTATGGTGGTAACAGTCATCCTGTGCCGAATGAAGAAC  
ACGACCAAGAAGCCAGACTTCAGCAGCCAGCCGGCTGTGCACA  
AGCTGACCAAACGTATCCCCCTGCGGAGACAGGTAACAGTTTC  
GGCTGAGTCCAGCTCCTCCATGAACTCCAACACCCCGCTGGTG  
AGGATAACAACACGCCTCTCTTCAACGGCAGACACCCCATGC  
TGGCAGGGGTCTCCGAGTATGAACTTCCAGAGGACCCAAAATG  
GGAGTTTCCAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCCTGGGA  
GAAGGTTGCTTTGGGCAAGTGGTCATGGCGGAAGCAGTGGGA  
ATTGACAAAGACAAGCCCAAGGAGGCGGTACCCGTGGCCGTG  
AAGATGTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAGACCTTTCTGATCT  
GGTGTGAGAGATGGAGATGATGAAGATGATTGGGAAACACAAG  
AATATCATAAATCTTCTTGGAGCCTGCACACAGGATGGGCCTCT  
CTATGTCATAGTTGAGTATGCCTCTAAAGGCAACCTCCGAGAAT  
ACCTCCGAGCCCGGAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATG  
ACATTAACCGTGTTCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTG  
GTGTCATGCACCTACCAGCTGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGG  
CTTCCCAAAAATGTATTCATCGAGATTTAGCAGCCAGAAATGTTT  
TGGTAACAGAAAACAATGTGATGAAAATAGCAGACTTTGGACTC  
GCCAGAGATATCAACAATATAGACTATTACAAAAGACCACCAA  
TGGGCGGCTTCCAGTCAAGTGGATGGCTCCAGAAGCCCTGTTT  
GATAGAGTATACTCATCAGAGTGTCTGGTCTTCCGGGT  
GTTAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCTCGCCCTACCCA  
GGGATTCCCGTGGAGGAACTTTTTAAGCTGCTGAAGGAAGGAC  
ACAGAATGGATAAGCCAGCCAACCTGCACCAACGAACTGTACAT



GATGATGAGGGACTGTTGGCATGCAGTGCCCTCCCAGAGACCA  
ACGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGGATCGAATTCTCACTCT  
CACAACCAATGAGGAGAGTAGATCTGGAGAAACCAACAGCTGT  
GTTGAAGAAATAATCCGGGAGATGACCTGGCTTCCACCACTTTC  
TGCTATTCAAGCACCTGGCAAAGTGGAACCAACCAATTTCCAT  
TTCCAAATAAGGACTCTCAGCTTGTATCCTCTGGACACAATAAT  
CCAAAGAAAGGTGATGCAGAGCCAGAGAGTCCAGACAGTGGCA  
CATCGAATACATCAATGCTGGAAGATGACCTTAAGCTAAGCAGT  
GATGAAGAGGAGAATGAACAGCAGGCAGCTCAGAGAACGGCT  
CTCCGCGCTCTCTGACAGCGCCGTGGTCCAGCAGCCCAACT  
GCAGAACCTCGGTGCCTTCCAGCAAGGGCAGCAGCAGCAGCA  
GCAGCAGCGGCAGCAGCAGCTCCTCCAGCGACTCAGAGAGCA  
GCTCCGGATCTGACTCGGAGACCGAGAGCAGCTCCAGCGAGA  
GTGAGGGCAGCAAGCCCCCCTTCTCCAGCCCCGAGGGCTG  
AACCGGCATCCTCTAACAAGTGGCAGCTGGATAAATGGCTAAA  
CAAAGTTAATCCCCACAAGCCTCCTATTCTGATCCAAAATGAAA  
GCCACGGGTCAGAGAGCAATCAGTACTACAACCCGGTGAAAGA  
GGACGTCCAGGACTGTGGGAAAGTCCCCGACGTTTGCCAGCC  
CAGCCTGAGAGAGAAGGAGATCAAGAGCACTTGCAAGGAGGA  
GCAAAGGCCAAGGACAGCCAACAAGGCCCTGGGAGTAAAGG  
CGTGAAGCAGAAGTCCCCGCCCCGCGGCCGTGGCCGTGGCGGT  
GAGCGCAGCCGCCCGCCACCCGCAAGTGCCCTGTGCGCCCCG  
GGAGAACGCGCCCCGCGCCTGCCCGGAGGTCCGCGGGCAAGA  
AGCCCACCAGGCGCACCGAGAGGACCTCAGCCGGGGACGGC  
GCCAACTGCCACCGGCCCGAGGAGCCCCGCGGCCGCGGACGC  
GCTGGGGACGAGCGTGGTGGTCCCCCGGAGCCCACCAAAC  
CAGGCCCTGTGGCAACAACAGAGCGAGCCACCGCAAGGAGCT  
GCGCTCCTCCGTGACCTGCGAGAAGCGCCGCACGCGGGGGCT  
AAGCAGGATCGTCCCCAAATCCAAGGAGTTCATTGAGACAGAG  
TCGTATCTTCATCCTCCTCCTCGGACTCCGACCTGGAGTCCG  
AGCAGGAGGAGTACCCTCTGTCCAAGCACAGACCGTGGCTGC  
CTCTGCCTCCTCCGGGAATGATCAGAGGCTGAAGGAGGCCGCT  
GCCAACGGGGGAGTGGTCTAGGGCCCCCTGTAGGCTCCATC  
AACGCCAGGACCACAGTGACATCGCCAAGGAGCTGGAGGAG  
CAGTTCTACACACTGGTCCCCTTTGGCCGGAACGAACCTTCTCTC  
CCCTCTAAAGGACAGTGATGAGATCAGGTCTCTCTGGGTCAA  
ATCGACCTGACCCTCCTGTCCAGGATCCCAGAACACCTGCCCC  
AGGAGCCAGGGGTATTGAGCGCCCCTGCCACCAAGGACTCTG  
AGAGCGCACCGCCCAGCCACACCTCGGACACACCTGCAGAAA  
AGGCTTTGCCAAAATCCAAGAGGAAACGCAAGTGTGACAACGA  
AGACGACTACAGGGAGATCAAGAAGTCCCAGGGAGAGAAAGAC  
AGCTCTTCAAGACTGGCCACCTCCACCAGTAATACTTTGTCTGC  
AAACCACTGCAACATGAACATCAACAGTGTGGCAATACCAATA  
ATAAAAATGAAAAAATGCTTCGGTCGCCCATCTCACCCCTCTCT  
GATGCATCTAAACACAAATACACCAGCGAGGACTTAACTTCTTC

	<p>CAGCCGACCTAATGGCAACAGTTTGTTTACTTCAGCCTCTTCCA  GCAAAAAGCCTAAGGCCGACAGCCAGCTGCAGCCTCACGGCG  GAGACCTCACGAAAGCAGCTCACAACAATTCTGAAAACATTCCC  CTCCACAAGTCACGGCCGACAGACGAAGCCGTGGTCTCCAGGC  TCCAACGGCCACAGGGACTGCAAGAGGCAGAACTTGTCTTCG  ATGATATGCCTCGCAGTGCCGATTATTTTATGCAAGAAGCTAAA  CGAATGAAGCATAAAGCAGATGCAATGGTGGAAAAGTTTGGAA  AGGCTTTGAACTATGCTGAAGCAGCATTGTCGTTTATCGAGTGT  GGAAATGCAATGGAACAAGGCCCATGGAATCCAAATCTCCTTA  TACGATGTATTCAGAAACAGTAGAGCTCATCAGGTATGCTATGA  GACTAAAACCCACTCAGGCCCAATGCCACACCAGAAGACAA  ACAACGGCTGCATTATGTTACCGATGCCTGGCCCTCCTGTACT  GGCGGATGTTTCGACTCAAAGGGACCACGCTGTAAAGTATTC  AAAAGCACTAATCGACTATTTCAAGAACTCATCTAAAGCCGCC  AAGCCCATCTCCGTGGGGGGCCAGTGGAAGAGCACTGGAA  CCCCATCCCCATGTCTCCAACCCCTCTCCCGCCAGCTCCGT  GGGTCTCAGGGCAGCCTCTCCAACGCCAGCGCCCTGTCCCC  GTCGACCATCGTCAGCATCCCACAGCGCATCCACCAGATGGCG  GCCAACACGTCAGCATACCAACAGCATCCTGCACAGCTACG  ACTACTGGGAGATGGCCGACAACCTGGCCAAGGAAAACCGAGA  ATTCTTCAACGACCTGGATCTGCTCATGGGGCCGGTCACCCTG  CACAGCAGCATGGAGCACCTGGTCCAGTACTCCAACAGGGCC  TGCACTGGCTGCGGAACAGCGCCACCTGTATAG</p>
<p>FGFR2:CASP  7 (3213 pares  de base)  (SEQ ID nº:62)</p>	<p>&gt;ATGGTCAGCTGGGGTCGTTTCATCTGCCTGGTCGTGGTCACC  ATGGCAACCTTGTCCCTGGCCCGGCCCTCCTCAGTTTAGTTG  AGGATACCACATTAGAGCCAGAAGAGCCACCAACCAATACCA  AATCTCTCAACCAGAAGTGACGTGGCTGCGCCAGGGGAGTCCG  CTAGAGGTGCGCTGCCTGTTGAAAGATGCCGCCGTGATCAGTT  GGACTAAGGATGGGGTGCACCTTGGGGCCCAACAATAGGACAGT  GCTTATTGGGGAGTACTTGCAGATAAAGGGCGCCACGCCTAGA  GACTCCGGCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACA  GTGAACTTGGTACTTCATGGTGAATGTCACAGATGCCATCTCA  TCCGGAGATGATGAGGATGACACCGATGGTGCGGAAGATTTTG  TCAGTGAGAACAGTAACAACAAGAGAGCACCATACTGGACCAA  CACAGAAAAGATGGAAAAGCGGCTCCATGCTGTGCCTGCGGCC  AACACTGTCAAGTTTCGCTGCCAGCCGGGGGAACCCAATGC  CAACCATGCGGTGGCTGAAAACGGGAAGGAGTTTAAGCAGGA  GCATCGCATTGGAGGCTACAAGGTACGAAACCAGCACTGGAGC  CTCATTATGGAAAGTGTGGTCCCCTCTGACAAGGGAAATTATAC  CTGTGTAGTGGAGAATGAATACGGGTCCATCAATCACACGTAC  CACCTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCTCACCGGCCCATCCTCC  AAGCCGGACTGCCGGCAAATGCCTCCACAGTGGTCCGGAGGAG  ACGTAGAGTTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGATGCCAGCCCCA  CATCCAGTGGATCAAGCACGTGGAAAAGAACGGCAGTAAATAC</p>

<p>GGGCCCGACGGGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCCGCC GGTGTTAACACCACGGACAAAGAGATTGAGGTTCTCTATATTCCG GAATGTAACTTTTGAGGACGCTGGGGAATATACGTGCTTGGCG GGTAATTCTATTGGGATATCCTTTCCTCTGCATGGTTGACAGT TCTGCCAGCGCCTGGAAGAGAAAAGGAGATTACAGCTTCCCCA GACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATAGGGGTCTTCTTAAT CGCCTGTATGGTGGTAACAGTCATCCTGTGCCGAATGAAGAAC ACGACCAAGAAGCCAGACTTCAGCAGCCAGCCGGCTGTGCACA AGCTGACCAAACGTATCCCCCTGCCGAGACAGGTAACAGTTTC GGCTGAGTCCAGCTCCTCCATGAACTCCAACACCCCGCTGGTG AGGATAACAACACGCCTCTCTTCAACGGCAGACACCCCATGC TGGCAGGGGTCTCCGAGTATGAACTTCCAGAGGACCCAAAATG GGAGTTTCCAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCCTGGGA GAAGGTTGCTTTGGGCAAGTGGTCATGGCGGAAGCAGTGGGA ATTGACAAAGACAAGCCCAAGGAGGCGGTCACCGTGGCCGTG AAGATGTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAGACCTTTCTGATCT GGTGTGAGAGATGGAGATGATGAAGATGATTGGGAAACACAAG AATATCATAAATCTTCTTGGAGCCTGCACACAGGATGGGCCTCT CTATGTCATAGTTGAGTATGCCTCTAAAGGCAACCTCCGAGAAT ACCTCCGAGCCCGGAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATG ACATTAACCGTGTTCCCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTG GTGTCATGCACCTACCAGCTGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGG CTTCCCAAAAATGTATTCATCGAGATTTAGCAGCCAGAAATGTTT TGGTAACAGAAAACAATGTGATGAAAATAGCAGACTTTGGACTC GCCAGAGATATCAACAATATAGACTATTACAAAAGACCACCAA TGGGCGGCTTCCAGTCAAGTGGATGGCTCCAGAAGCCCTGTTT GATAGAGTATACACTCATCAGAGTGATGTCTGGTCTTCGGGGT GTTAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCTCGCCCTACCCA GGGATTCCCGTGGAGGAACTTTTTAAGCTGCTGAAGGAAGGAC ACAGAATGGATAAGCCAGCCAAGTGCACCAACGAAGTGTACAT GATGATGAGGGACTGTTGGCATGCAGTGCCCTCCAGAGACCA ACGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGGATCGAATTCTCACTCT CACAACCAATGAGATGGCAGATGATCAGGGCTGTATTGAAGAG CAGGGGGTTGAGGATTCAGCAAATGAAGATTCAGTGGATGCTA AGCCAGACCGGTCCTCGTTTGTACCGTCCCTCTTCAGTAAGAA GAAGAAAAATGTCACCATGCGATCCATCAAGACCACCCGGGAC CGAGTGCCTACATATCAGTACAACATGAATTTGAAAAGCTGGG CAAATGCATCATAATAACAACAAGAACTTTGATAAAGTGACAG GTATGGGCGTTCGAAACGGAACAGACAAAGATGCCGAGGCGCT CTTCAAGTGCTTCCGAAGCCTGGGTTTTGACGTGATTGTCTATA ATGACTGCTCTTGTGCCAAGATGCAAGATCTGCTTAAAAAAGCT TCTGAAGAGGACCATACAAATGCCGCCTGCTTCGCCTGCATCC TCTTAAGCCATGGAGAAGAAAATGTAATTTATGGGAAAGATGGT GTCACACCAATAAAGGATTTGACAGCCCACTTTAGGGGGGATA GATGCAAAACCCTTTAGAGAAACCCAAACTCTTCTTCATTAG</p>
--

	<p>GCTTGCCGAGGGACCGAGCTTGATGATGGCATCCAGGCCGAC  TCGGGGCCCATCAATGACACAGATGCTAATCCTCGATAACAAGAT  CCCAGTGGAAGCTGACTTCCTCTTCGCCTATTCCACGGTTCCA  GGCTATTACTCGTGGAGGAGCCCAGGAAGAGGCTCCTGGTTTG  TGCAAGCCCTCTGCTCCATCCTGGAGGAGCACGGAAAAGACCT  GGAAATCATGCAGATCCTCACCAGGGTGAATGACAGAGTTGCC  AGGCACTTTGAGTCTCAGTCTGATGACCCACACTTCCATGAGAA  GAAGCAGATCCCCTGTGTGGTCTCCATGCTCACCAAGGAAGTCT  TACTTCAGTCAATAG</p>
<p>FGFR2:CCDC  6 (3423 pares  de base)  (SEQ ID n°:63)</p>	<p>&gt;ATGGTCAGCTGGGGTCGTTTCATCTGCCTGGTCGTGGTCACC  ATGGCAACCTTGTCCCTGGCCCGGCCCTCCTCAGTTTAGTTG  AGGATACCACATTAGAGCCAGAAGAGCCACCAACCAATAACCA  AATCTCTCAACCAGAAGTGTACGTGGCTGCGCCAGGGGAGTCCG  CTAGAGGTGCGCTGCCTGTTGAAAGATGCCGCCGTGATCAGTT  GGACTAAGGATGGGGTGCACCTTGGGGCCCAACAATAGGACAGT  GCTTATTGGGGAGTACTTGCAGATAAAGGGCGCCACGCCTAGA  GACTCCGGCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACA  GTGAAACTTGGTACTTCATGGTGAATGTCACAGATGCCATCTCA  TCCGGAGATGATGAGGATGACACCGATGGTGCAGGAAGATTTTG  TCAGTGAGAACAGTAACAACAAGAGAGCACCATACTGGACCAA  CACAGAAAAGATGGAAAAGCGGCTCCATGCTGTGCCTGCGGCC  AACACTGTCAAGTTTCGCTGCCAGCCGGGGGGAACCCAATGC  CAACCATGCGGTGGCTGAAAACGGGAAGGAGTTTAAGCAGGA  GCATCGCATTGGAGGCTACAAGGTACGAAACCAGCACTGGAGC  CTCATTATGGAAAGTGTGGTCCCATCTGACAAGGGAAATTATAC  CTGTGTAGTGGAGAATGAATACGGGTCCATCAATCACACGTAC  CACCTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCTCACCGGCCATCCTCC  AAGCCGGACTGCCGGCAAATGCCTCCACAGTGGTCCGGAGGAG  ACGTAGAGTTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGTGCCAGCCCCA  CATCCAGTGGATCAAGCACGTGGAAAAGAACGGCAGTAAATAC  GGGCCCGACGGGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCCGCC  GGTGTTAACACCACGGACAAAGAGATTGAGGTTCTCTATATTCC  GAATGTAACTTTTGAGGACGCTGGGGAATATACGTGCTTGGCG  GGTAATTCTATTGGGATATCCTTTCCTCTGCATGGTTGACAGT  TCTGCCAGCGCCTGGAAGAGAAAAGGAGATTACAGCTTCCCCA  GACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATAGGGGTCTTCTTAAT  CGCCTGTATGGTGGTAACAGTCATCCTGTGCCGAATGAAGAAC  ACGACCAAGAAGCCAGACTTCAGCAGCCAGCCGGGCTGTGCACA  AGCTGACCAAACGTATCCCCCTGCGGAGACAGGTAACAGTTTC  GGCTGAGTCCAGTCTCCTCATGAACTCCAACACCCCGCTGGTG  AGGATAACAACACGCCTCTCTTCAACGGCAGACACCCCATGC  TGGCAGGGGTCTCCGAGTATGAACTTCCAGAGGACCCAAAATG  GGAGTTTCCAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCCTGGGA  GAAGGTTGCTTTGGGCAAGTGGTCATGGCGGAAGCAGTGGGA</p>

ATTGACAAAGACAAGCCCAAGGAGGGCGGTCACCGTGGCCGTG  
AAGATGTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAGACCTTTCTGATCT  
GGTGTGAGAGATGGAGATGATGAAGATGATTGGGAAACACAAG  
AATATCATAAATCTTCTTGGAGCCTGCACACAGGATGGGCCTCT  
CTATGTCATAGTTGAGTATGCCTCTAAAGGCAACCTCCGAGAAT  
ACCTCCGAGCCCGGAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATG  
ACATTAACCGTGTTCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTG  
GTGTCATGCACCTACCAGCTGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGG  
CTTCCCAAAAATGTATTCATCGAGATTTAGCAGCCAGAAATGTTT  
TGGTAACAGAAAACAATGTGATGAAAATAGCAGACTTTGGACTC  
GCCAGAGATATCAACAATATAGACTATTACAAAAGACCACCAA  
TGGGCGGCTTCCAGTCAAGTGGATGGCTCCAGAAGCCCTGTTT  
GATAGAGTATACTCATCAGAGTGTCTGGTCTTCGGGGT  
GTTAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCTCGCCCTACCCA  
GGGATTCCCGTGGAGGAACTTTTAAGCTGCTGAAGGAAGGAC  
ACAGAATGGATAAGCCAGCCAACCTGCACCAACGAACTGTACAT  
GATGATGAGGGACTGTTGGCATGCAGTGCCCTCCAGAGACCA  
ACGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGGATCGAATTCTCACTCT  
CACAACCAATGAGCAAGCCAGGGCTGAGCAGGAAGAAGAATTC  
ATTAGTAACACTTTATTCAAGAAAATTCAGGCTTTGCAGAAGGA  
GAAAGAAACCCTTGCTGTAAATTATGAGAAAGAAGAAGAATTCC  
TCACTAATGAGCTCTCCAGAAAATTGATGCAGTTGCAGCATGAG  
AAAGCCGAAGTAGAACAGCATCTTGAACAAGAGCAGGAATTTCA  
GGTCAACAACTGATGAAGAAAATTAATAAACTGGAGAATGACA  
CCATTTCTAAGCAACTTACATTAGAACAGTTGAGACGGGAGAAG  
ATTGACCTTGAAAATACATTGGAACAAGAACAAGAAGCACTAGT  
TAATCGCCTCTGGAAAAGGATGGATAAGCTTGAAGCTGAAAAG  
CGAATCCTGCAGGAAAAATTAGACCAGCCCGTCTCTGCTCCAC  
CATCGCCTAGAGATATCTCCATGGAGATTGATTCTCCAGAAAAT  
ATGATGCGTGCACATCAGGTTTTTAAAGAATGAAGTGGAACGGCT  
GAAGAAGCAACTGAGAGCTGCTCAGTTACAGCATTGAGAGAAA  
ATGGCACAGTATCTGGAGGAGGAACGTCACATGAGAGAAGAGA  
ACTTGAGGCTCCAGAGGAAGCTGCAGAGGGAGATGGAGAGAA  
GAGAAGCCCTCTGTCGACAGCTCTCCGAGAGTGAGTCCAGCTT  
AGAAATGGACGACGAAAGGTATTTAATGAGATGTCTGCACAAG  
GATTAAGACCTCGCACTGTGTCCAGCCGATCCCTTACACACCT  
TCTCCGAGTTCAAGCAGGCCTATATCACCTGGTCTATCATATGC  
AAGTCACACGGTTGGTTTTCACGCCACCAACTTCACTGACTAGAG  
CTGGAATGTCTTATTACAATTCCTCCGGGTCTTACAGTGCAGCAC  
ATGGGAACATCCCATGGTATCACAAGGCCTTACCACGGAGAA  
GCAACAGTCTTGACAAATTCAAACGGCCCACGCCGCCTCCATC  
TCCAACACACAGACCCAGTCCAGCCACCTCCGCCTCCACCT  
CCGCCACCCATGCAGCCCACGGTCCCCTCAGCAGCCACCTCG  
CAGCCTACTCCTTCGCAACATTCGGCGCACCCCTCCTCCCAGC  
CTTAA

<p>FGFR2:OFD1 (5229 pares de base) (SEQ ID n°:64)</p>	<p>&gt;ATGGTCAGCTGGGGTCGTTTCATCTGCCTGGTCGTGGTCACC  ATGGCAACCTTGTCCCTGGCCCGGCCCTCCTTCAGTTTAGTTG  AGGATACCACATTAGAGCCAGAAGAGCCACCAACCAATACCA  AATCTCTCAACCAGAAGTGTACGTGGCTGCGCCAGGGGAGTCCG  CTAGAGGTGCGCTGCCTGTTGAAAGATGCCGCCGTGATCAGTT  GGACTAAGGATGGGGTGCACCTTGGGGCCCAACAATAGGACAGT  GCTTATTGGGGAGTACTTGCAGATAAAGGGCGCCACGCCTAGA  GACTCCGGCCTCTATGCTTGTACTGCCAGTAGGACTGTAGACA  GTGAAACTTGGTACTTTCATGGTGAATGTCACAGATGCCATCTCA  TCCGGAGATGATGAGGATGACACCGATGGTGCGGAAGATTTTG  TCAGTGAGAACAGTAACAACAAGAGAGCACCATACTGGACCAA  CACAGAAAAGATGGAAAAGCGGCTCCATGCTGTGCCTGCGGCC  AACACTGTCAAGTTTCGCTGCCAGCCGGGGGGAACCCAATGC  CAACCATGCGGTGGCTGAAAACGGGAAGGAGTTTAAGCAGGA  GCATCGCATTGGAGGCTACAAGGTACGAAACCAGCACTGGAGC  CTCATTATGGAAAGTGTGGTCCCATCTGACAAGGGAAATTATAC  CTGTGTAGTGGAGAATGAATACGGGTCCATCAATCACACGTAC  CACCTGGATGTTGTGGAGCGATCGCCTCACCGGCCCATCCTCC  AAGCCGGACTGCCGGCAATGCCTCCACAGTGGTCCGGAGGAG  ACGTAGAGTTTGTCTGCAAGGTTTACAGTGATGCCAGCCCCA  CATCCAGTGGATCAAGCACGTGGAAAAGAACGGCAGTAAATAC  GGGCCCGACGGGCTGCCCTACCTCAAGGTTCTCAAGGCCGCC  GGTGTTAACACCACGGACAAGAGATTGAGGTTCTCTATATTCCG  GAATGTAACTTTTGAGGACGCTGGGGAATATACGTGCTTGGCG  GGTAATTCTATTGGGATATCCTTTCACTCTGCATGGTTGACAGT  TCTGCCAGCGCCTGGAAGAGAAAAGGAGATTACAGCTTCCCCA  GACTACCTGGAGATAGCCATTTACTGCATAGGGGTCTTCTTAAT  CGCCTGTATGGTGGTAACAGTCATCCTGTGCCGAATGAAGAAC  ACGACCAAGAAGCCAGACTTCAGCAGCCAGCCGGCTGTGCACA  AGCTGACCAAACGTATCCCCCTGCGGAGACAGGTAACAGTTTC  GGCTGAGTCCAGCTCCTCCATGAACTCCAACACCCCGCTGGTG  AGGATAACAACACGCCTCTCTTCAACGGCAGACACCCCATGC  TGGCAGGGGTCTCCGAGTATGAACTTCCAGAGGACCCAAAATG  GGAGTTTCCAAGAGATAAGCTGACACTGGGCAAGCCCTGGGA  GAAGGTTGCTTTGGGCAAGTGGTCATGGCGGAAGCAGTGGGA  ATTGACAAAGACAAGCCCAAGGAGGCGGTCACCGTGGCCGTG  AAGATGTTGAAAGATGATGCCACAGAGAAAGACCTTTCTGATCT  GGTGTGAGAGATGGAGATGATGAAGATGATTGGGAAACACAAG  AATATCATAAATCTTCTTGGAGCCTGCACACAGGATGGGCCTCT  CTATGTCATAGTTGAGTATGCCTCTAAAGGCAACCTCCGAGAAT  ACCTCCGAGCCCGGAGGCCACCCGGGATGGAGTACTCCTATG  ACATTAACCGTGTTCTGAGGAGCAGATGACCTTCAAGGACTTG  GTGTCATGCACCTACCAGCTGGCCAGAGGCATGGAGTACTTGG  CTTCCCAAAAATGTATTCATCGAGATTTAGCAGCCAGAAATGTTT</p>
---	--

TGGTAACAGAAAACAATGTGATGAAAATAGCAGACTTTGGACTC  
GCCAGAGATATCAACAATATAGACTATTACAAAAAGACCACCAA  
TGGGCGGCTTCCAGTCAAGTGGATGGCTCCAGAAGCCCTGTTT  
GATAGAGTATACACTCATCAGAGTGATGTCTGGTCCTTCGGGGT  
GTTAATGTGGGAGATCTTCACTTTAGGGGGCTCGCCCTACCCA  
GGGATTCCCGTGGAGGAACTTTTAAAGCTGCTGAAGGAAGGAC  
ACAGAATGGATAAGCCAGCCAACCTGCACCAACGAACGTACAT  
GATGATGAGGGACTGTTGGCATGCAGTGCCCTCCAGAGACCA  
ACGTTCAAGCAGTTGGTAGAAGACTTGGATCGAATTCTCACTCT  
CACAACCAATGAGACACAACCTTCGAAACCAGCTAATTCATGAGT  
TGATGCACCCTGTATTGAGTGGAGAAGCTGCAGCCTCGGTCCAT  
TTCAGTAGAAGGGAGCTCCCTCTTAATAGGCGCCTCTAACTCTT  
TAGTGGCAGATCACTTACAAAGATGTGGCTATGAATATTCACTT  
TCTGTTTTCTTCCAGAAAGTGGTTTGGCAAAGAAAAGGTATTT  
ACTATGCAGGATCTATTACAACCTATTAAAATCAACCCTACTTCC  
AGTCTCTACAAATCACTGGTTTCAGGATCTGATAAAGAAAATCA  
AAAAGTTTTCTTATGCATTTTTTAAAAGAATTGGCAGAATATCA  
TCAAGCTAAAGAGAGTTGTAATATGGAAACTCAGACAAGTTCGA  
CATTTAACAGAGATTCTCTGGCTGAGAAGCTTCAGCTTATTGAT  
GATCAGTTTGCAGATGCTTACCCTCAGCGTATCAAGTTCGAATC  
TTTAGAAATAAAGCTAAATGAGTATAAGAGAGAAATAGAAGAGC  
AACTTCGGGCAGAAATGTGTCAAAGTTGAAGTTTTTTAAAGAT  
ACCGAGATAGCAAAAATTAATGGAAGCAAAAAAAGTATGA  
AAAGGAGTTAACCATGTTCCAGAATGATTTTGAAAAAGCTTGTC  
AAGCAAAATCTGAAGCTCTCGTTCTTCGGGAAAAGAGTACCCTT  
GAAAGAATTCACAAGCACCAGAGATTGAAACAAAAGAAATTTA  
TGCTCAAAGGCAACTTTTACTAAAAGATATGGATTTGCTAAGAG  
GAAGAGAAGCAGAGCTGAAGCAAAGAGTTGAAGCTTTTGAATT  
GAACCAGAAGCTCCAGGAAGAAAACATAAAAGCATAACTGAG  
GCACTTAGGAGACAGGAGCAGAATATAAAGAGTTTTGAGGAGA  
CCTATGACCGAAAGCTCAAGAATGAACTTCTAAAGTATCAACTT  
GAACTGAAGGATGACTACATCATTAGAACTAATCGACTGATTGA  
AGATGAAAGGAAGAATAAAGAAAAAGCTGTTCAATTTGCAAGAGG  
AGCTCATAGCTATTAATTCAAAAAAGGAGGAACCTCAATCAATCT  
GTAAATCGTGTGAAAGAAGTTGAGCTTGAATTAGAGTCTGTCAA  
AGCCCAGTCTTTGGCAATAACAAAACAAAACCATATGCTGAATG  
AAAAGTTAAAGAGATGAGTGATTATTCACTACTAAAAGAAGAG  
AAACTGGAGCTTCTGGCACAAAATAAATTACTTAAACAACAACCT  
GGAAGAGAGTAGAAATGAAAACCTGCGTCTCCTAAACCGCCTA  
GCTCAGCCGGCTCCTGAACTTGCAGTCTTTCAGAAAGAACTAC  
GGAAAGCCGAAAAGGCTATAGTGGTTGAGCATGAGGAGTTCGA  
AAGCTGCAGGCAAGCTCTGCACAAACAACCTGCAAGACGAAATT  
GAGCATTCTGCACAGCTGAAGGCCAGATTCTAGGTTACAAG  
CTTCTGTAAAGAGTTTAACTACTCAGGTTGCCGATTTAAAATTGC  
AACTGAAGCAAACCTCAGACAGCCCTAGAGAATGAAGTGTACTG

<p>CAATCCAAAGCAGTCTGTGATCGATCGTTCTGTCAATGGATTAA  TAAATGGCAATGTGGTGCCTTGCAATGGTGAGATAAGTGGGGA  TTTCTTGAACAATCCTTTTAAACAGGAAAACGTTCTAGCACGTAT  GGTTGCATCAAGGATCACAAATTATCCAACGATGGGTGGAG  GGTAGTTCCCCTGATTCTGACCTTGAGTTTGTAGCCAATACTAA  GGCAAGGGTCAAAGAGCTTCAGCAAGAGGCCGAACGCTTGGA  AAAGGCTTTCAGAAGTTACCATCGGAGAGTCATTA AAAACTCTG  CCAAAAGCCCCTAGCAGCAAAGAGCCCACCATCTCTGCACTT  GCTGGAAGCCTTCAAAAACATTACTTCCAGTTCCCCGGAAAGAC  ATATTTTTGGAGAGGACAGAGTTGTCTCTGAGCAGCCTCAAGTG  GGCACACTTGAAGAAAGGAATGACGTCGTGGAAGCACTGACAG  GCAGTGCAGCCTCGAGGCTCCGCGGGGGCACTTCCCTCCAGAC  GCCTCTCTCCACACCCCTTCCAAAAGCAAAAAGAAGCCTCGAA  AGTGAAATGTATCTGGAAGGTCTGGGCAGATCACACATTGCTTC  CCCCAGTCCTTGTCTGACAGAATGCCCTACCATCACCCACT  GAGTCTAGGCACAGCCTCTCCATCCCTCCTGTCTCCAGCCCTC  CGGAGCAGAAAGTGGGTCTTTATCGAAGACAACTGAACTTCAA  GACAAAAGTGAATTTTCAGATGTGGACAAGCTAGCTTTTAAGGA  TAATGAGGAGTTTGAATCATCTTTTGAATCTGCAGGGAACATGC  CAAGGCAGTTGGAAATGGGCGGGCTTTCTCCTGCCGGGGATAT  GTCTCATGTGGACGCTGCTGCAGCTGCTGTGCCCTCTCATAT  CAGCACCCAAGTGTAGATCAGAAACAAATTGAAGAACAAAAGGA  AGAAGAAAAAATACGGGAACAGCAAGTGAAAGAACGAAGGCAG  AGAGAAGAAAGAAGGCAGAGTAACCTACAAGAAGTTTTAGAAA  GGGAACGAAGAGAAGTAGAAAACTGTATCAGGAAAGGAAGAT  GATTGAAGAATCACTGAAGATTAATAAAAAAGGAATTAGAAAT  GGAAAATGAATTAGAAATGAGTAATCAAGAAATAAAGACAAAT  CTGCTCACAGTGAAAATCCTTTAGAGAAATACATGAAAATCATC  CAGCAGGAGCAAGACCAGGAGTCGGCAGATAAGAGCTCAAAA  AGATGGTCCAAGAAGGCTCCCTAGTGGACACGCTGCAATCTAG  TGACAAAGTCGAAAGTTTAAACAGGCTTTTCTCATGAAGAACTAG  ACGACTCTTGGTAA</p>
--

### MODALIDADES

[00233] A seguinte lista de modalidades se destina a complementar, ao invés de deslocar, ou substituir, as descrições anteriores.

[00234] Modalidade 1. Um método para a identificação de um paciente com câncer que é responsivo ao tratamento com um inibidor do receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR) que compreende:

avaliar uma amostra biológica do paciente para um mutante



de FGFR a partir de um painel de genes FGFR mutantes, sendo que o mutante de FGFR é um gene de fusão de FGFR ou um polimorfismo de nucleotídeo único de FGFR, e sendo que a dita avaliação compreende amplificar o cDNA com um par de iniciadores que se ligam e amplificam um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes FGFR mutantes; e

e determinar se o um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes FGFR mutantes está presente na amostra, sendo que a presença do um ou mais mutantes de FGFR indica que o paciente é responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR.

[00235] Modalidade 2. Um método para a identificação de um paciente com câncer que é responsivo ao tratamento com um inibidor do receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR) que compreende:

avaliar uma amostra biológica obtida do paciente quanto à presença de um ou mais mutantes de FGFR a partir de um painel de genes FGFR mutantes, sendo que o mutante de FGFR é um gene de fusão de FGFR ou um polimorfismo de nucleotídeo único de FGFR, sendo que a presença do um ou mais mutantes de FGFR indica que o paciente é responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR.

[00236] Modalidade 3. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que o gene de fusão de FGFR compreende FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:Íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00237] Modalidade 4. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que o polimorfismo de nucleotídeo único de FGFR compreende R248C, S249C, G370C ou Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00238] Modalidade 5. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que o câncer é câncer de bexiga e o painel de genes FGFR mutantes

compreende FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00239] Modalidade 6. O método da modalidade 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o câncer é câncer de bexiga metastático e o painel de genes FGFR mutantes compreende FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00240] Modalidade 7. O método da modalidade 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o câncer é câncer de ovário e o painel de genes FGFR mutantes compreende FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00241] Modalidade 8. O método da modalidade 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o câncer é câncer de cabeça e pescoço e o painel de genes FGFR mutantes compreende FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00242] Modalidade 9. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que o câncer é câncer de cabeça e pescoço metastático e o painel de genes FGFR mutantes compreende: FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00243] Modalidade 10. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que o câncer é câncer esofágico e o painel de genes FGFR mutantes compreende: FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR2:BICC1, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C, ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00244] Modalidade 11. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que o câncer é câncer de esôfago metastático e o painel de genes FGFR mutantes compreende FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:Íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCD6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00245] Modalidade 12. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que o câncer é carcinoma de pulmão de células pequenas, adenocarcinoma e o painel de genes FGFR mutantes compreende: FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:Íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00246] Modalidade 13. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que o câncer é carcinoma de pulmão de pequenas não células, carcinoma de células escamosas e o painel de genes FGFR mutantes compreende: FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00247] Modalidade 14. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que o câncer é câncer endometrial metastático e o painel de genes FGFR mutantes compreende FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6 ou FGFR2:OFD1, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00248] Modalidade 15. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que o câncer é câncer de mama e o painel de genes FGFR mutantes compreende: FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7 ou qualquer combinação dos mesmos.

[00249] Modalidade 16. O método da modalidade 1 ou 2, sendo que

o o câncer é carcinoma hepatocelular e o painel de genes FGFR mutantes compreende: FGFR3:TACC3 v1, FGFR3:TACC3 v3, FGFR3:íntron TACC3, FGFR3:BAIAP2L1, FGFR2:BICC1, FGFR2:AFF3, FGFR2:CASP7, FGFR2:CCDC6, FGFR2:OFD1, FGFR3 R248C, FGFR3 S249C, FGFR3 G370C ou FGFR3 Y373C, ou qualquer combinação dos mesmos.

[00250] Modalidade 17. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 2 a 16, sendo que a avaliação compreende amplificar cDNA que com um par de iniciadores se liga e amplifica um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes FGFR mutantes.

[00251] Modalidade 18. O método da modalidade 17, sendo que o cDNA é cDNA pré-amplificado.

[00252] Modalidade 19. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, sendo que o mutante de FGFR e o par de iniciadores são:

[00253] FGFR3:TACC3 v1 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6;

[00254] FGFR3:TACC3 v3 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8;

[00255] FGFR3:íntron TACC3 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10;

[00256] FGFR3:BAIAP2L1 e os iniciadores que têm as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12;

[00257] FGFR2:BICC1 e os iniciadores tendo as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14;

[00258] FGFR2:AFF3 e os iniciadores tendo as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16;

[00259] FGFR2:CASP7 e os iniciadores tendo as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18;

[00260] FGFR2:CCDC6 e os iniciadores tendo as sequências de

aminoácidos das SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20;

[00261] FGFR2:OFD1 e os iniciadores tendo as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22;

[00262] R248C e iniciadores que têm as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24 ou SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32;

[00263] S249C e iniciadores tendo as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26 ou SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34;

[00264] G370C e iniciadores tendo as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28 ou SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36;

[00265] Y373C e iniciadores tendo as sequências de aminoácidos das SEQ ID NO: 29 e SEQ ID NO: 30 ou SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38;

ou qualquer combinação dos mesmos.

[00266] Modalidade 20. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, sendo que a avaliação compreende:

isolar o RNA da amostra biológica e sintetizar cDNA a partir do RNA isolado.

[00267] Modalidade 21. O método da modalidade 20, que compreende ainda pré-amplificar o cDNA antes da etapa de amplificação.

[00268] Modalidade 22. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1 ou 3 a 21, sendo que o cDNA é pré-amplificado.

[00269] Modalidade 23. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1 ou 3 a 22, sendo que a etapa de amplificação compreende execução de PCR em tempo real.

[00270] Modalidade 24. O método da modalidade 23, sendo que a PCR em tempo real é realizada com uma ou mais sondas que

compreendem SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 54 e/ou SEQ ID NO: 55.

[00271] Modalidade 25. Método, de acordo com a modalidade 23 ou 24, sendo que a PCR em tempo real é realizada com um ou mais oligonucleotídeos de bloqueio 3' compreendendo a SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41 e/ou SEQ ID NO: 42.

[00272] Modalidade 26. Método, de acordo com qualquer uma das modalidades 1 ou 3 a 25, sendo que a dita etapa de determinação compreende o sequenciamento do cDNA amplificado.

[00273] Modalidade 27. Um kit para a identificação da presença de um ou mais genes FGFR mutantes em uma amostra biológica que compreende:

pares de iniciadores tendo as sequências da SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8, SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 e SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38, ou qualquer combinação das mesmas; e

instruções para realizar um ensaio para detectar um ou mais genes FGFR mutantes.

[00274] Modalidade 28. Kit da modalidade 27, que compreende, ainda, uma ou mais sondas, um ou mais oligonucleotídeos de bloqueio 3', ou ambos.

[00275] Modalidade 29. O kit da modalidade 28, sendo que:

- a. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 43;
- b. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 7 e SEQ ID NO: 8 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 44;
- c. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 46;
- d. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 47;
- e. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 45;
- f. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 48;
- g. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 49;
- h. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 50;
- i. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 51;
- j. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 52;
- k. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 53;
- l. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 54;
- m. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 29 e SEQ ID NO: 30 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 55;
- n. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 52; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' que tem a sequência da SEQ ID NO: 39;

o. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 53; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' que tem a sequência da SEQ ID NO: 40;

p. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 54; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' que tem a sequência da SEQ ID NO: 41;

q. o par de iniciadores que tem as sequências SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38 e a sonda que tem a sequência da SEQ ID NO: 55; e o oligonucleotídeo de bloqueio 3' que tem a sequência da SEQ ID NO: 42; ou

r. e combinações dos mesmos.

[00276] Modalidade 30. Um iniciador tem a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, ou qualquer combinação das mesmas.

[00277] Modalidade 31. Um conjunto de iniciadores, que tem as sequências da SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8, SEQ ID NO: 9 e SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13 e SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 e SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 e SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 e SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 e SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 e SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 e SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 27 e SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO:



29 e SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 e SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33 e SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35 e SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37 e SEQ ID NO: 38, ou qualquer combinação das mesmas.

[00278] Modalidade 32. Uma sonda de oligonucleotídeos que tem sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 43-55, ou qualquer combinação das mesmas.

[00279] Modalidade 33. Um oligonucleotídeo que tem a sequência de qualquer uma das SEQ ID NOs: 39-42, ou qualquer combinação das mesmas.

## REIVINDICAÇÕES

1. Método para a identificação de um paciente com câncer de bexiga que é responsivo ao tratamento com um inibidor do receptor do fator de crescimento de fibroblastos (FGFR), em que o inibidor de FGFR é N-(3,5-dimetóxi-fenil)-N'-(1-metiletil)-N-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)quinoxalin-6-il]etano-1,2-diamina,

um N-óxido do mesmo, um sal farmacologicamente aceitável do mesmo ou um solvato do mesmo,

caracterizado pelo fato de que compreende:

(a) avaliar uma amostra biológica do paciente para um ou mais mutantes de FGFR a partir de um painel de genes mutantes de FGFR compreendendo FGFR3 FGFR3-TACC3 v1, FGFR3-TACC3 v3, ou FGFR3-BAIAP2L1, e em que a referida avaliação compreende

amplificar um cDNA com um par de iniciadores que amplificam o um ou mais mutantes de FGFR a partir do painel de genes mutantes de FGFR; e

determinar se o um ou mais mutantes de FGFR do painel de genes mutantes de FGFR estão presentes na amostra, em que a presença do um ou mais mutantes de FGFR indica que o paciente é responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR; ou

(b) avaliar uma amostra biológica obtida do paciente quanto à presença de um ou mais mutantes de FGFR a partir de um painel de genes mutantes de FGFR compreendendo FGFR3 FGFR3-TACC3 v1, FGFR3-TACC3 v3, ou FGFR3-BAIAP2L1, em que a presença do um ou mais mutantes de FGFR indica que o paciente é responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o câncer de bexiga é câncer de bexiga metastático.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que a avaliação compreende amplificar o

cDNA com um par de iniciadores que se ligam e amplificam um ou mais mutantes de FGFR a partir do painel de genes mutantes de FGFR.

4. Método, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que o cDNA é um cDNA pré-amplificado.

5. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que o mutante de FGFR3 e o par de iniciadores são:

FGFR3:TACC3 v1 e iniciadores tendo as sequências de SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6; ou

FGFR3:TACC3 v3 e iniciadores tendo as sequências de SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8; ou

FGFR3:BAIAP2L1 e iniciadores tendo as sequências de SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12.

6. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que a avaliação compreende:

isolar um RNA da amostra biológica e sintetizar cDNA a partir do RNA isolado.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que compreende ainda pré-amplificar o cDNA antes da etapa de amplificação.

8. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que o cDNA é pré-amplificado.

9. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo fato de que a etapa de amplificação compreende execução de um PCR em tempo real.

10. Método, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que o PCR em tempo real é realizado com uma ou mais sondas que compreendem SEQ ID NO: 43 ou SEQ ID NO: 44, ou SEQ ID NO: 47.

11. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações

1 a 10, caracterizado pelo fato de que a referida etapa de determinação compreende o sequenciamento do cDNA amplificado.

12. Kit para a realização do método como definido na reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que compreende:

pares de iniciadores com as sequências de SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7 e SEQ ID NO: 8, ou SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12; e

instruções para realizar um ensaio para detectar um ou mais genes mutantes de FGFR.

13. Kit, de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que compreende ainda uma ou mais sondas, um ou mais oligonucleotídeos de bloqueio 3', ou ambos.

14. Kit, de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que:

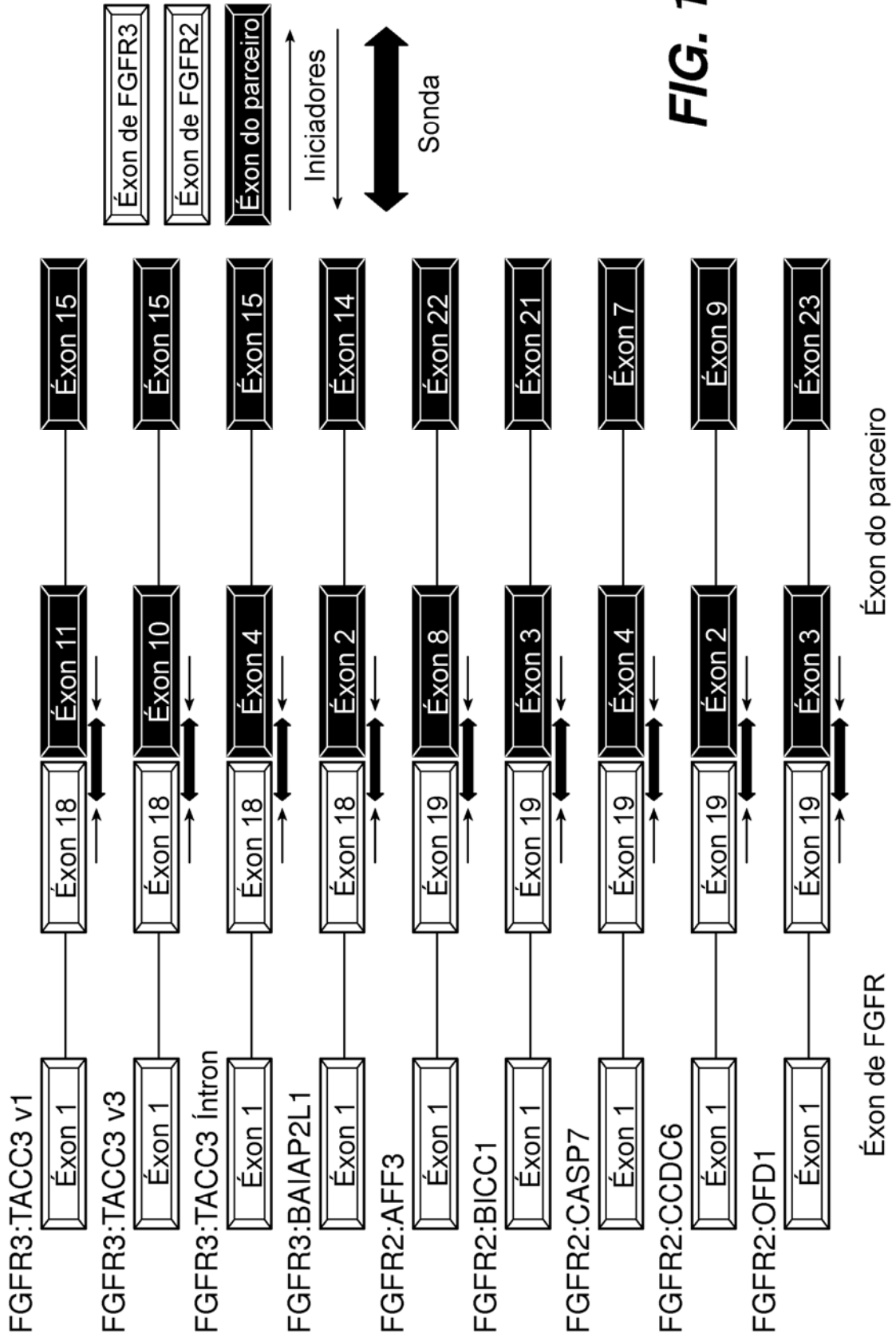
a. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 6 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 43;

b. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO:7 e SEQ ID NO:8 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 44;

c. o par de iniciadores tem as sequências SEQ ID NO: 11 e SEQ ID NO: 12 e a sonda tem a sequência da SEQ ID NO: 47; ou

d. qualquer combinação dos mesmos.

15. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que o inibidor de FGFR deve ser administrado ao paciente identificado como responsivo ao tratamento com o inibidor de FGFR.



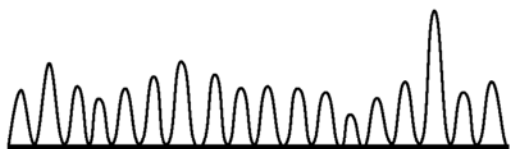
**FIG. 1**

**FIG. 2A**

FGFR3:TACC3 V1

Amostra CNT14Y3

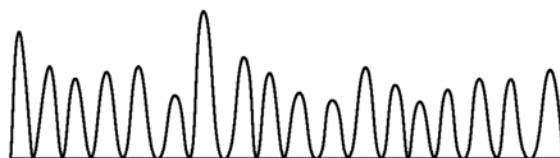
205-002\_r1\_R\_B01\_1 fragmento bases W35-38  
TCCACCGACGTAAGGCG  
TCCACCGACGTAAGGCG

**FIG. 2B**

FGFR3:TACC3 V3

Amostra CNT0RET

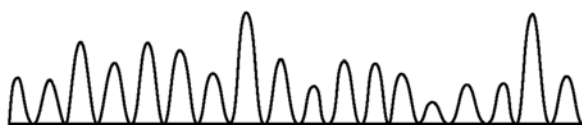
TACCG TG ACGTCCACCGA  
TACCG TG ACGTCCACCGA

**FIG. 2C**

FGFR3:íntron TACC3

Amostra RT4

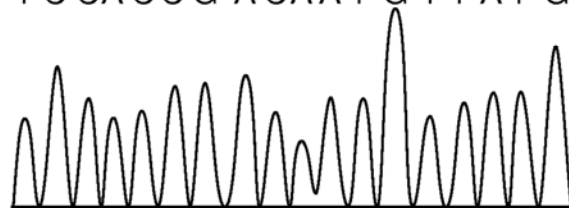
GCC TTCTGGCC CAGGTGC  
GCC TTCTGGCCCAGGTGC

**FIG. 2D**

FGFR3:BAIAP2L1

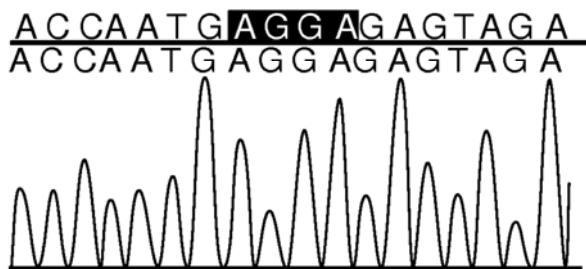
Amostra CNTORFE

TCCACCG ACAAT GTTAT G  
TCCACCG ACAAT GTTAT G

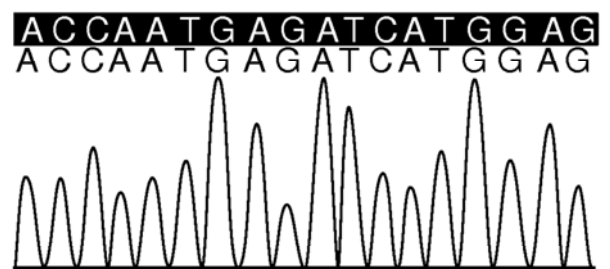


**FIG. 2E**

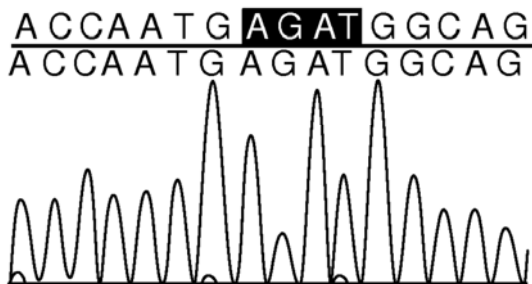
FGFR2:AFF3  
Amostra CNT14QE

**FIG. 2F**

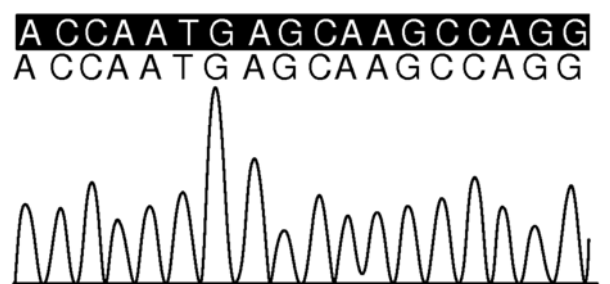
FGFR2:BICC1  
Amostra CNT0RLV

**FIG. 2G**

FGFR2:CASP7  
Amostra CNT06FT

**FIG. 2H**

FGFR2:CCDC6  
Amostra CNT06FT

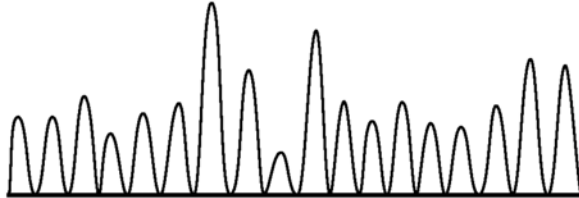


## ***FIG. 2I***

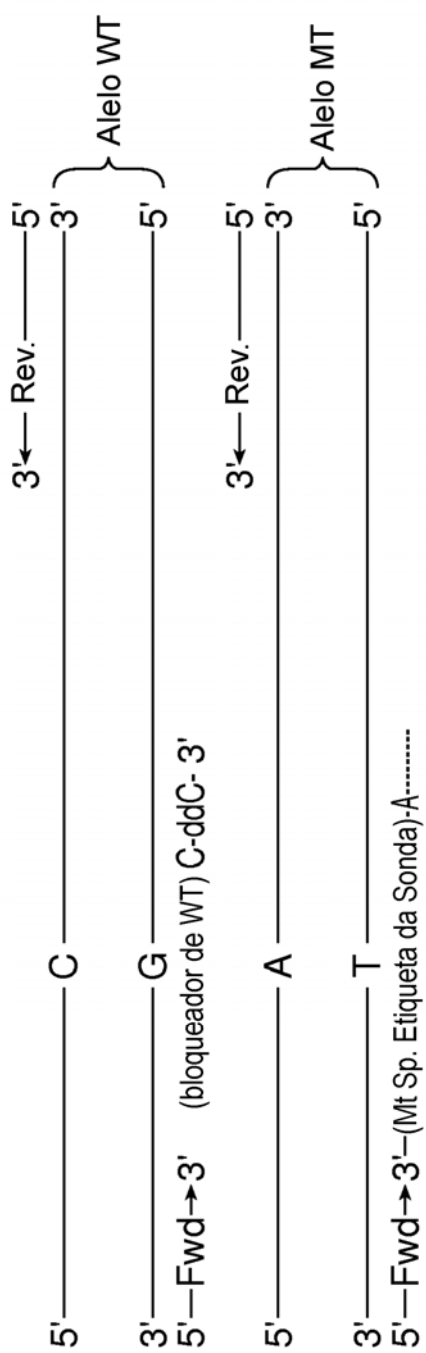
FGFR2:OFD1

Amostra Lu1656

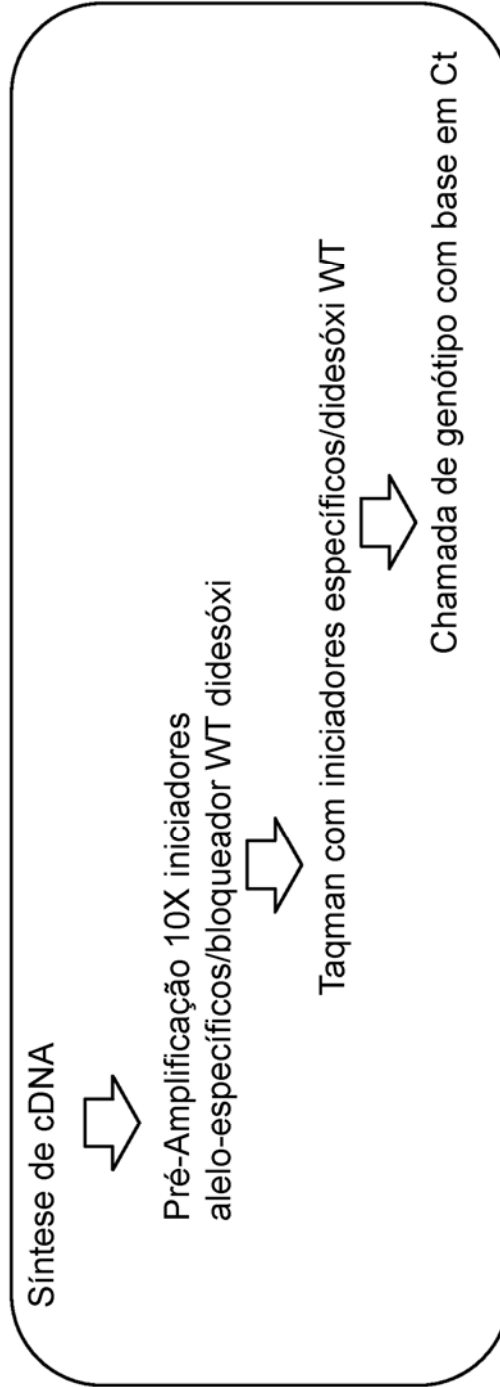
A C C A A T G **A G A C** A C A A C T T  
A C C A A T G A G A C A C A A C T T





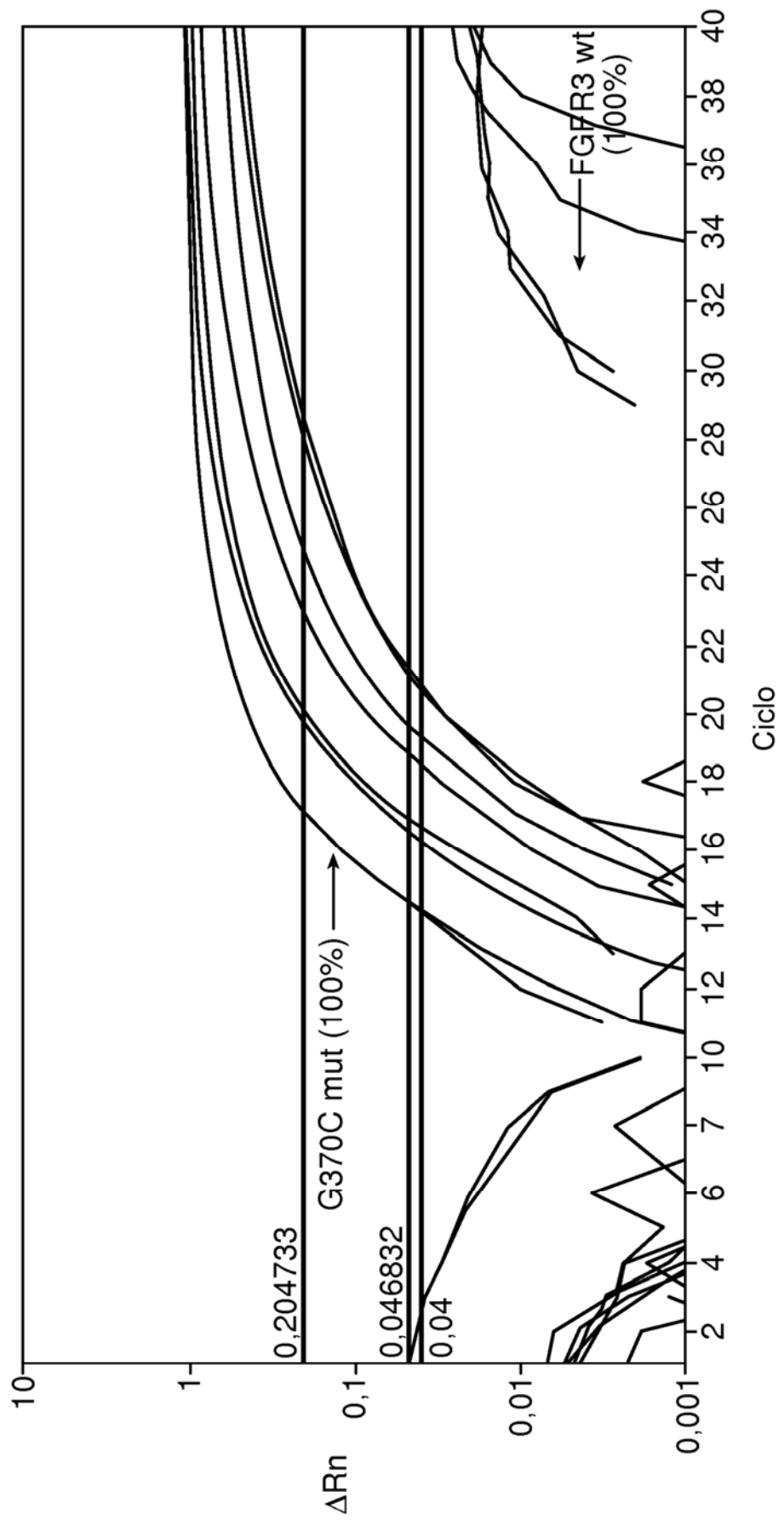
**FIG. 3**

**FIG. 4**



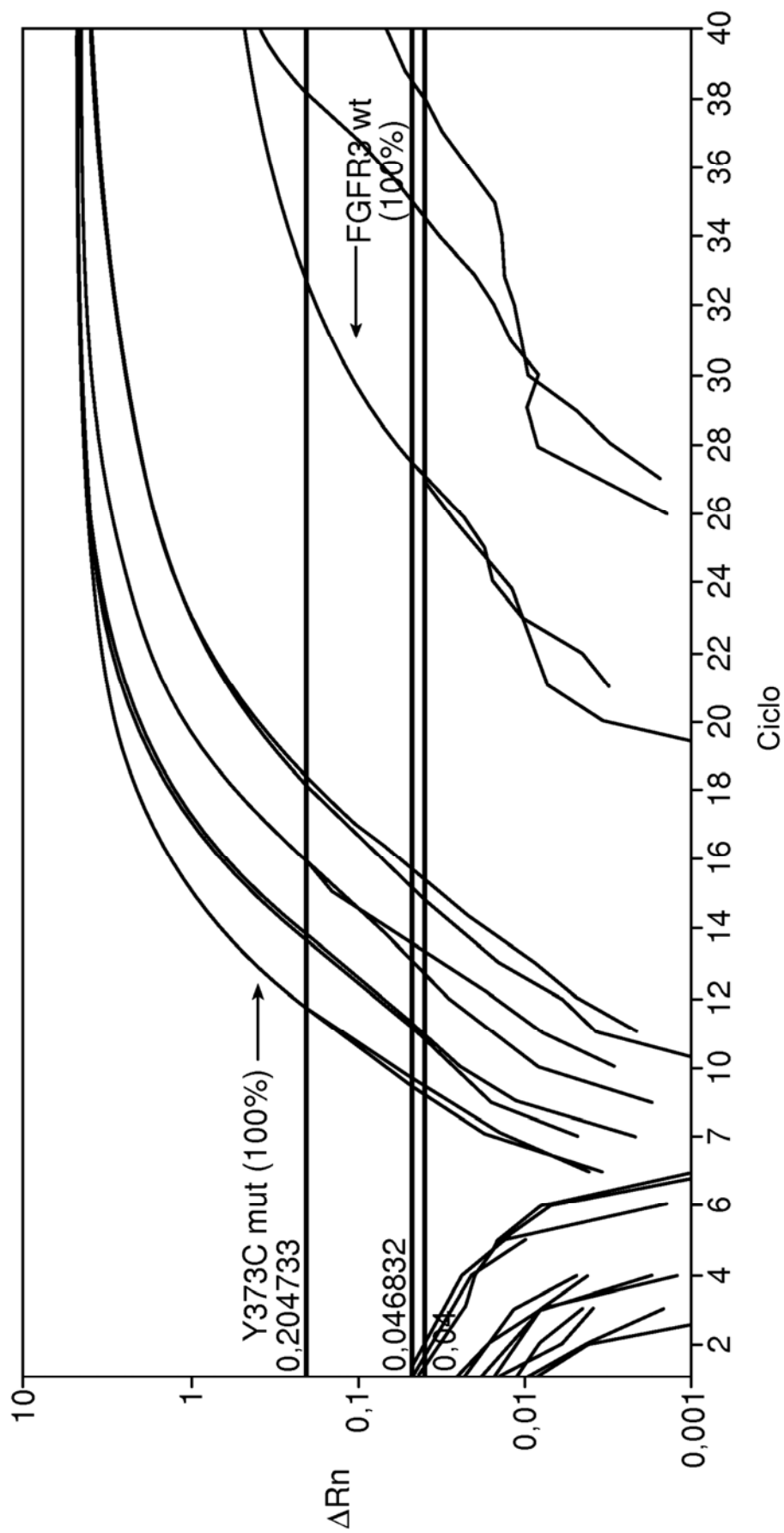
**FIG. 5A**

Gráfico de amplificação



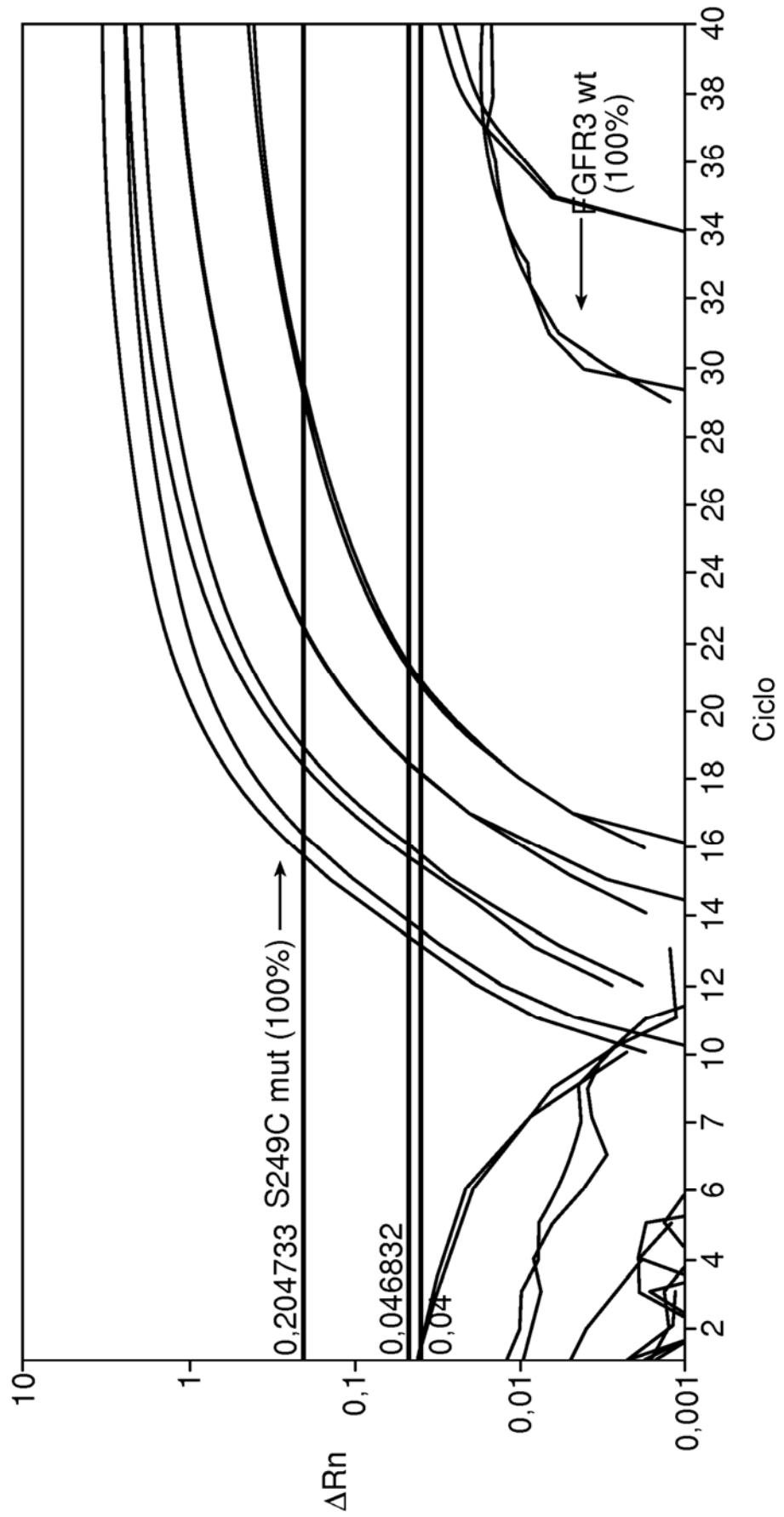
**FIG. 5B**

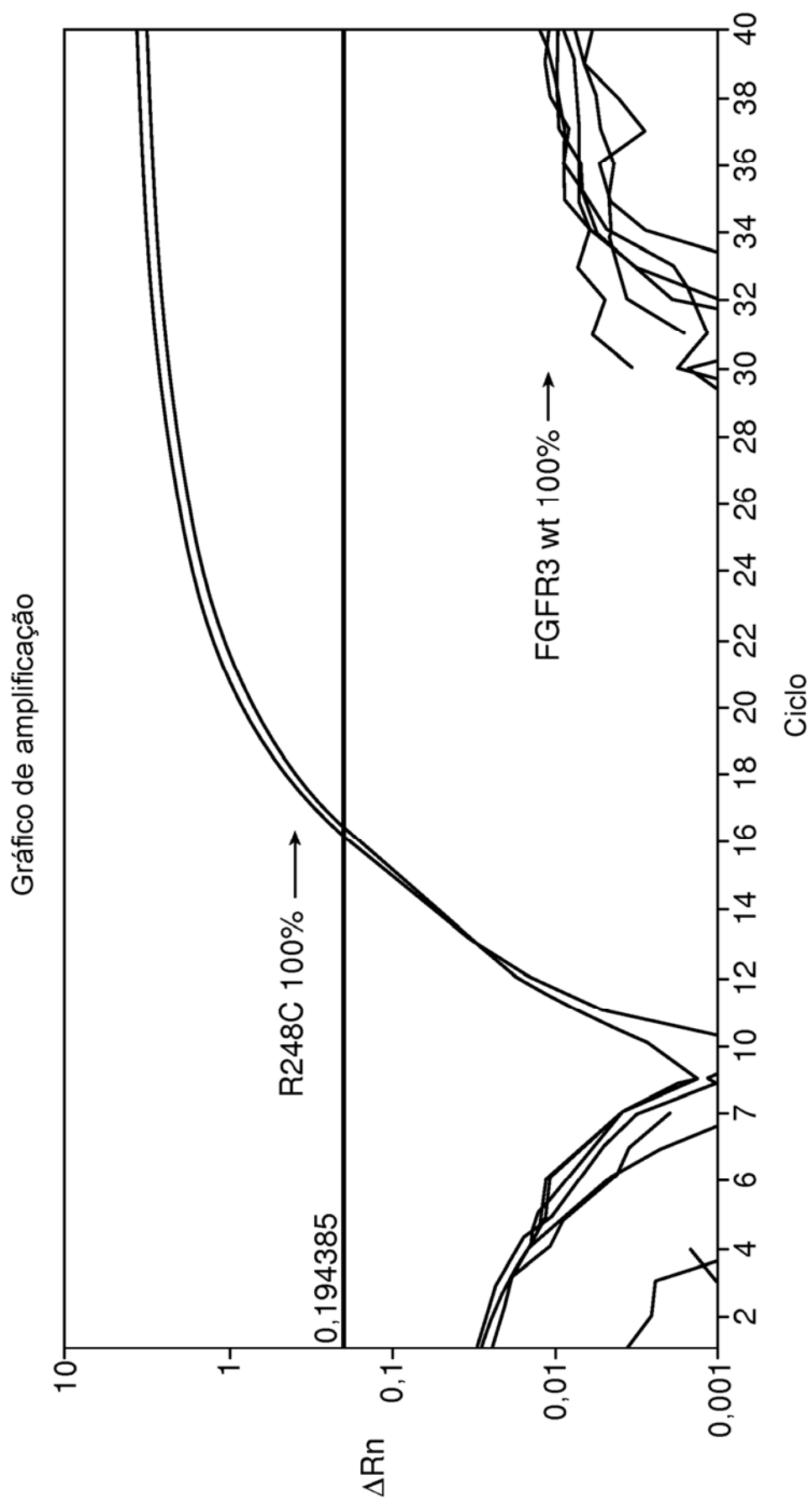
Gráfico de amplificação



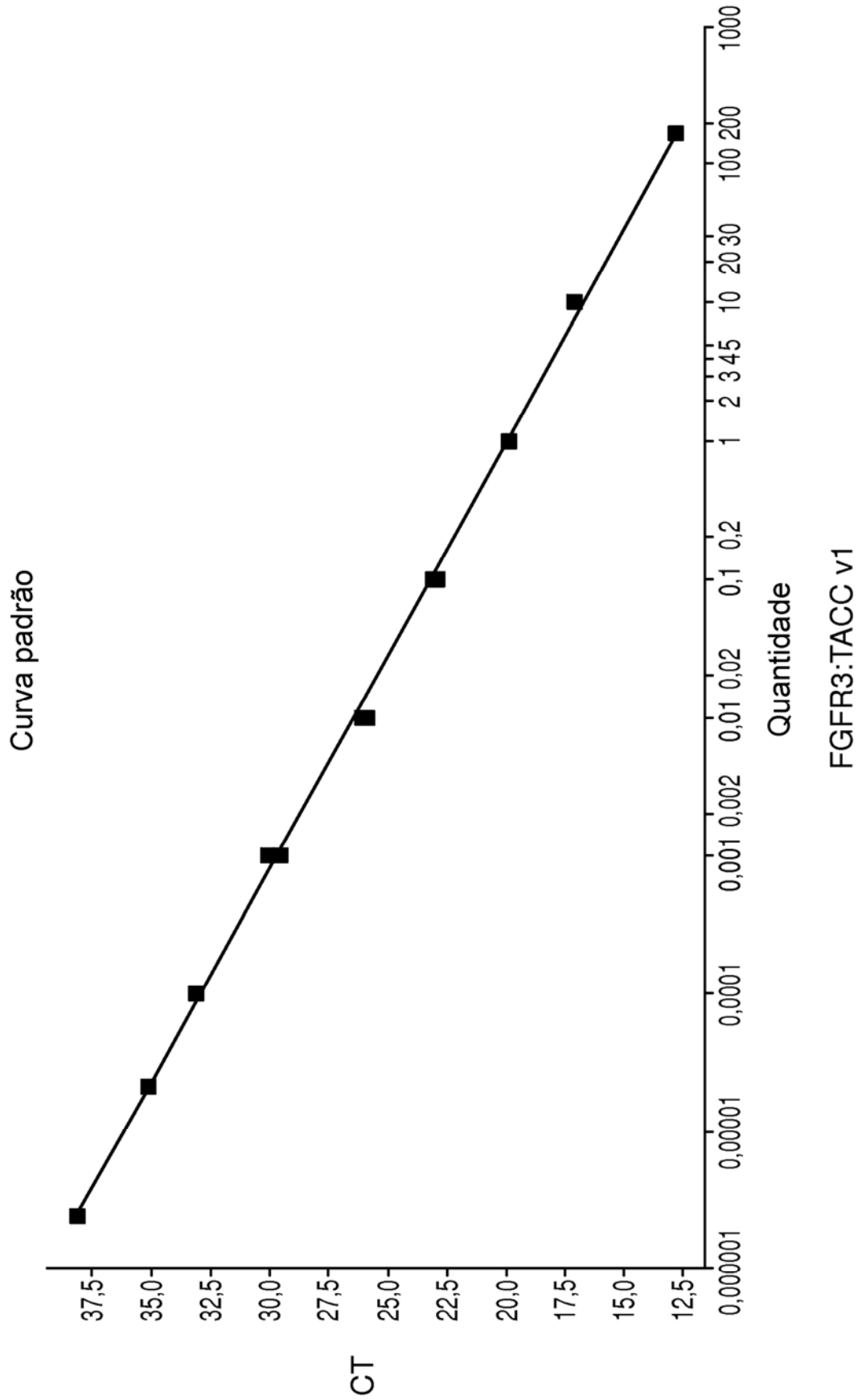
**FIG. 5C**

Gráfico de amplificação



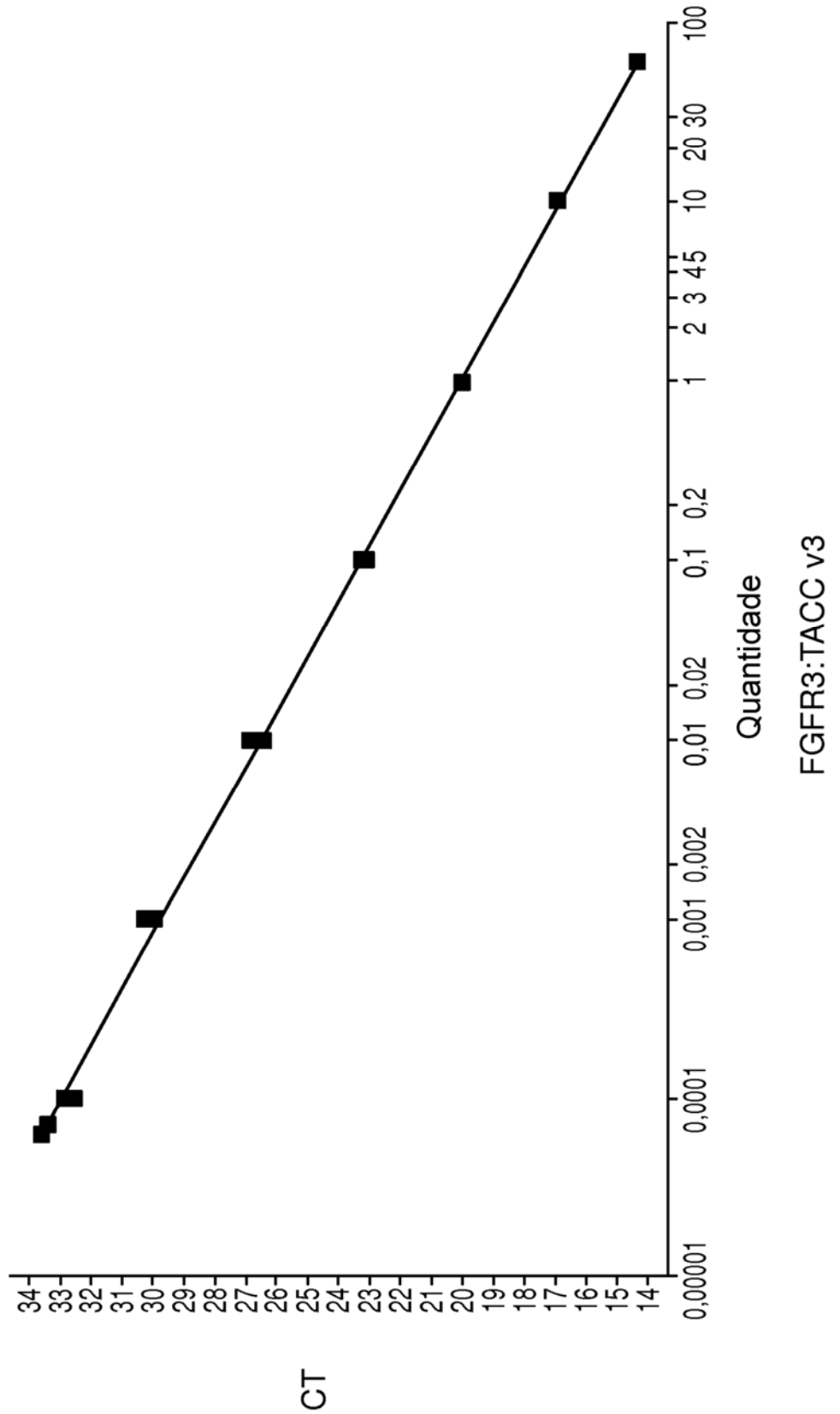
**FIG. 5D**

**FIG. 6A**

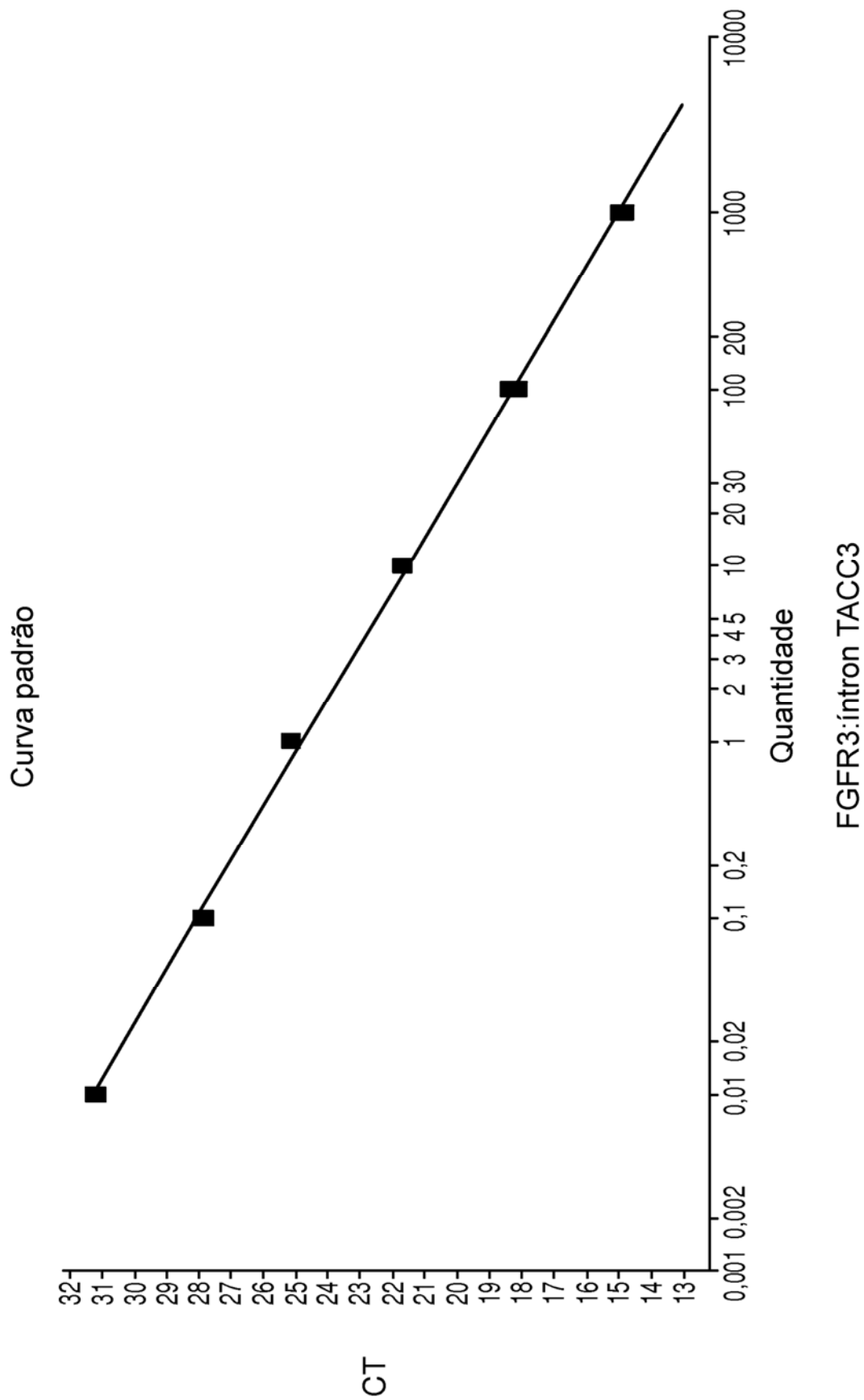


**FIG. 6B**

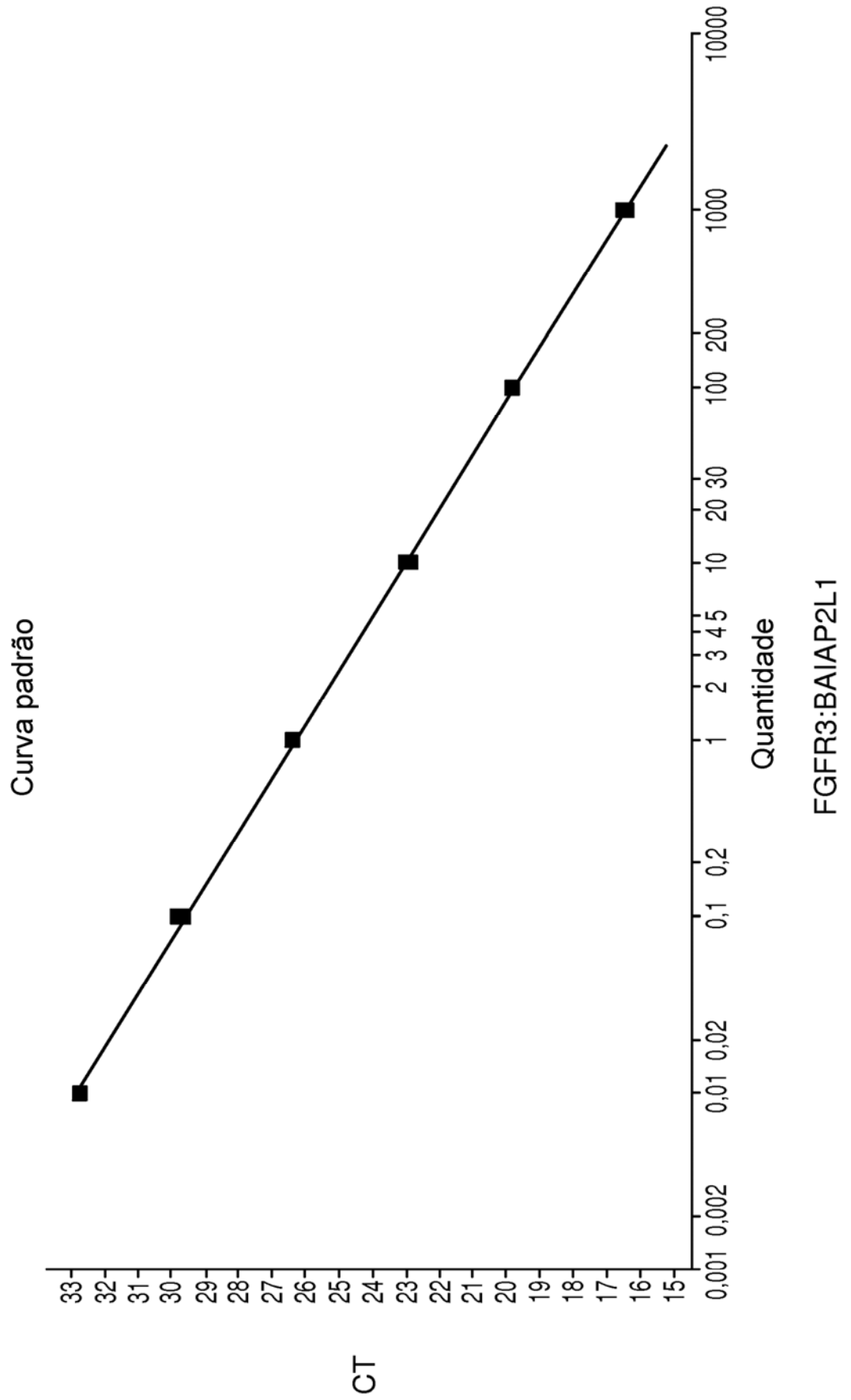
Curva padrão



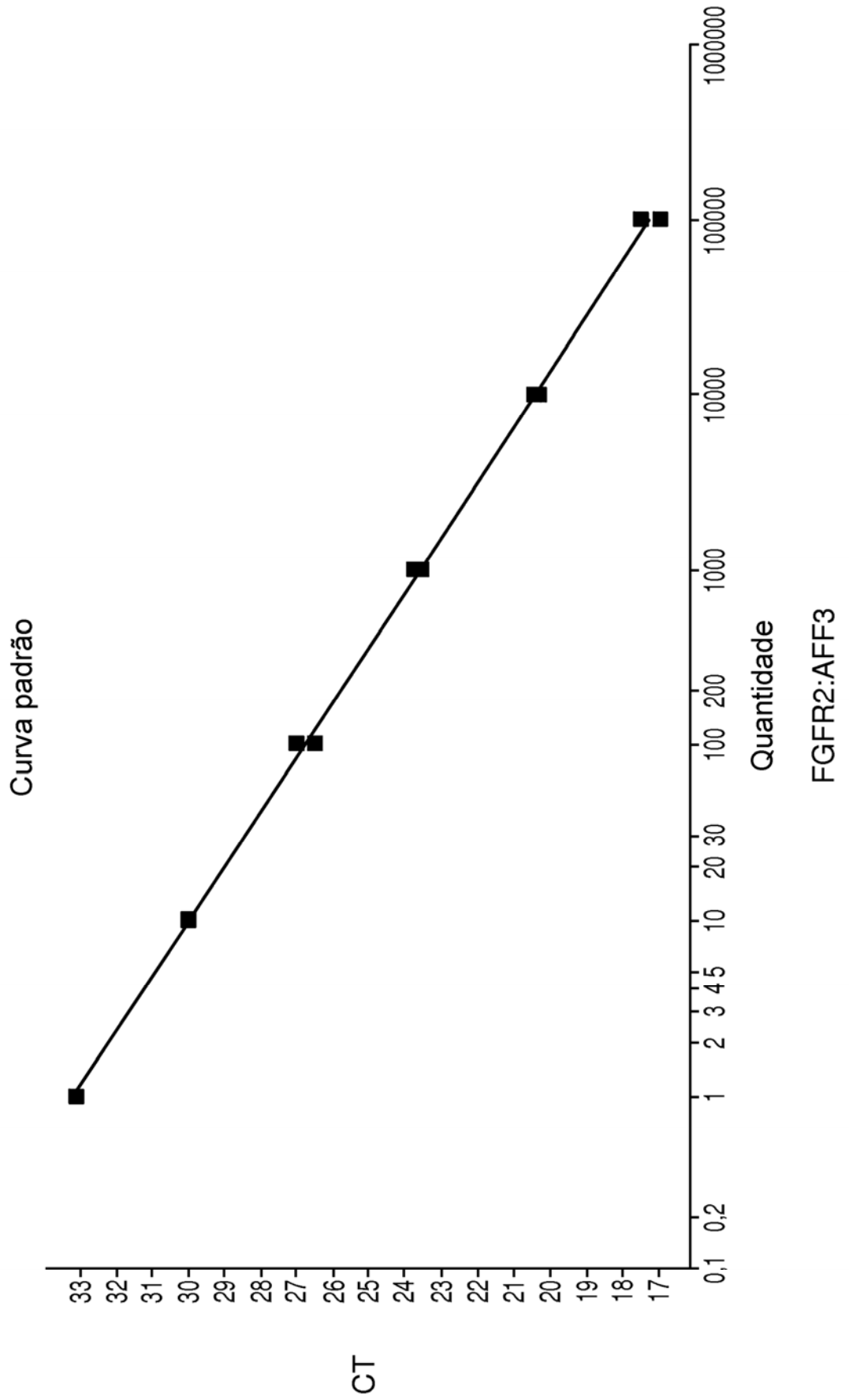


**FIG. 6C**

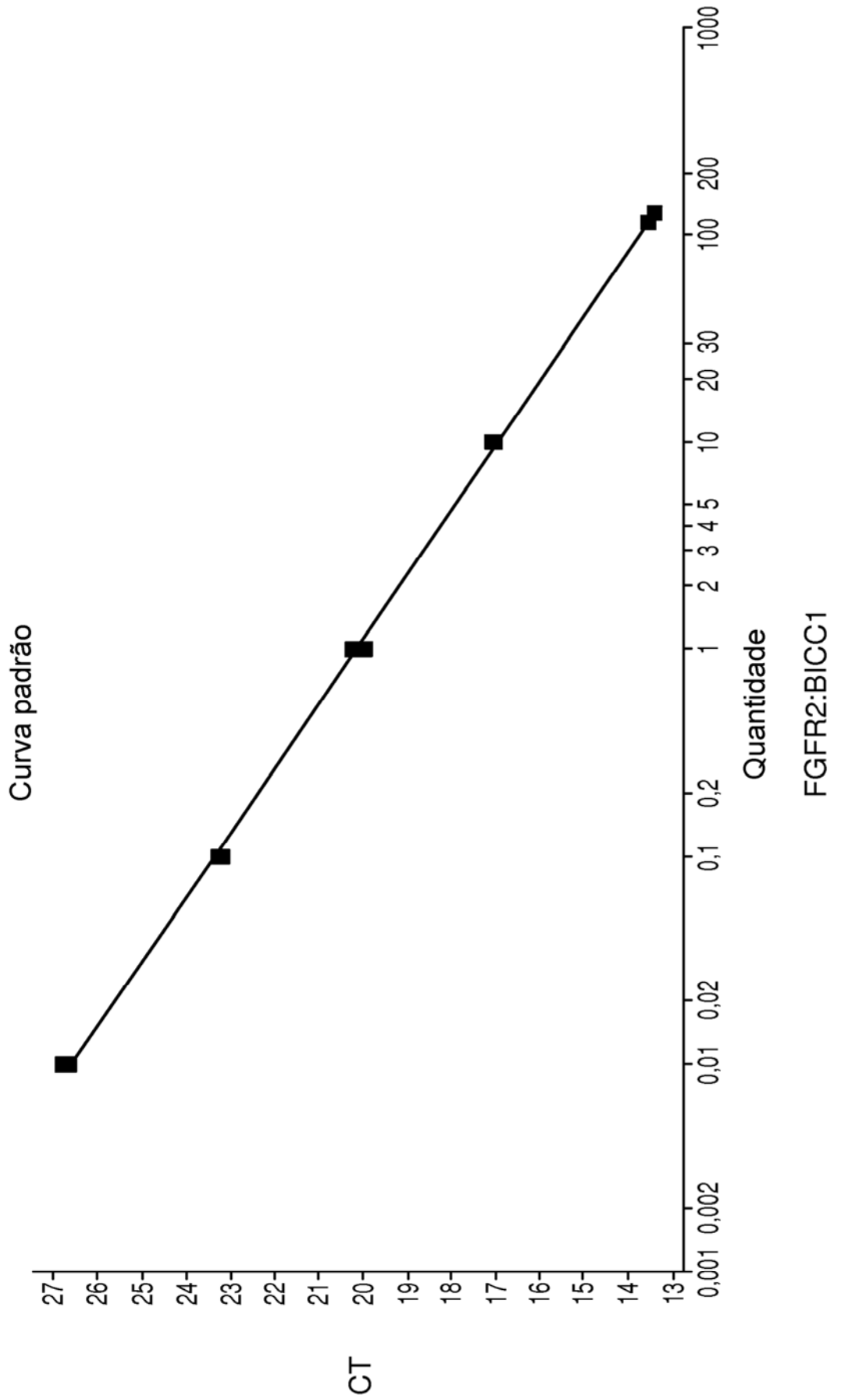
**FIG. 6D**



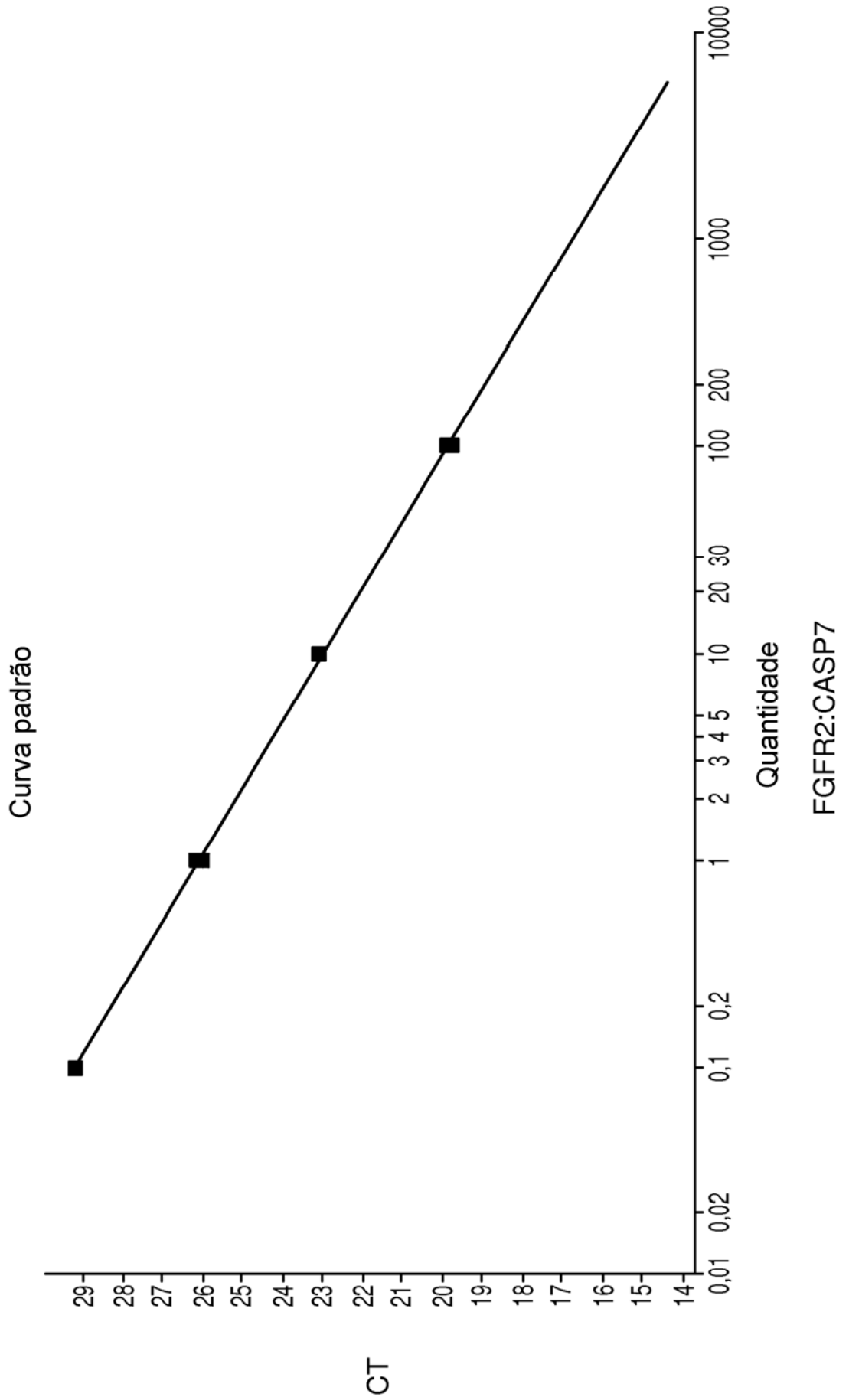
**FIG. 6E**



**FIG. 6F**

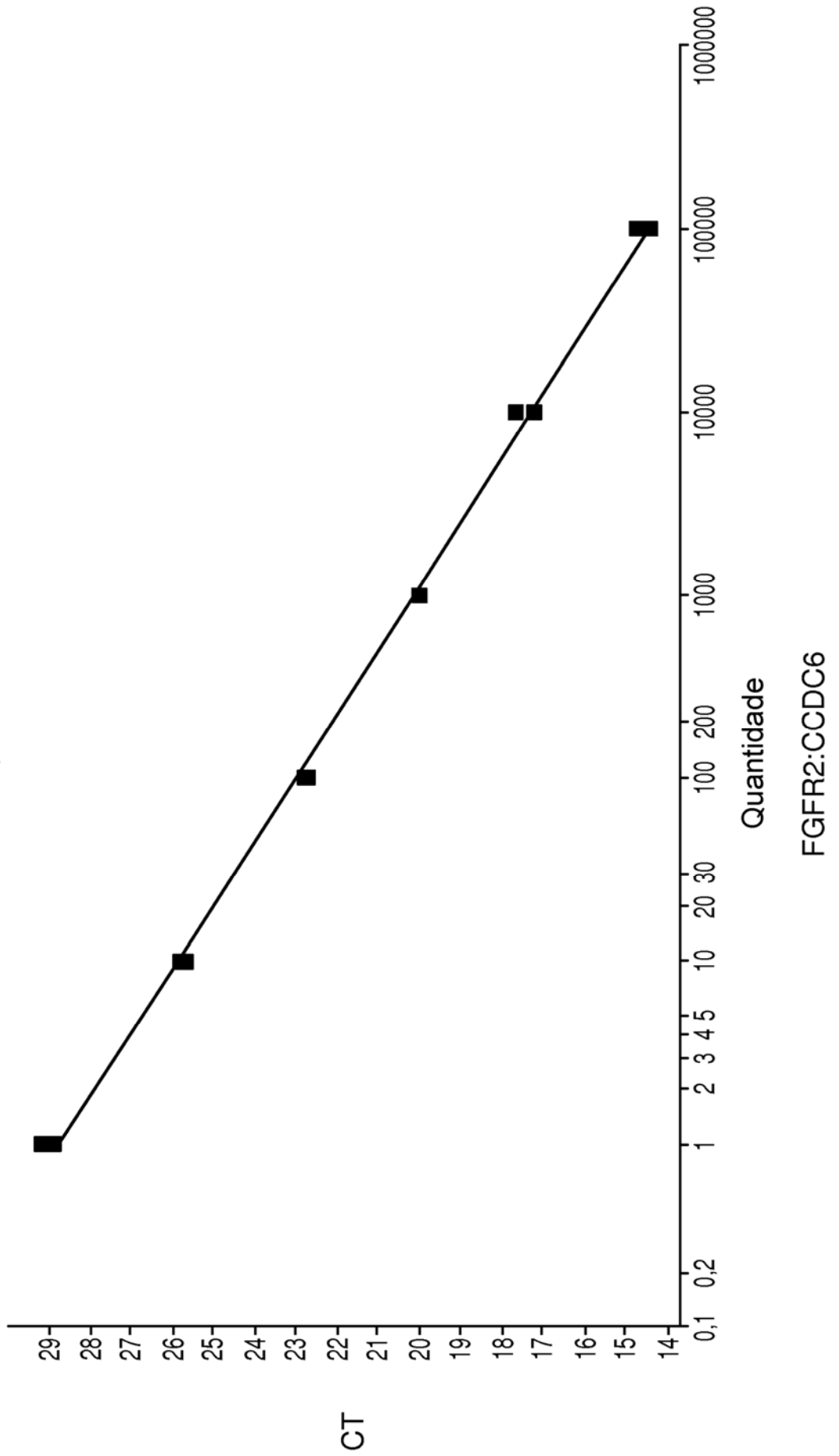


**FIG. 6G**



**FIG. 6H**

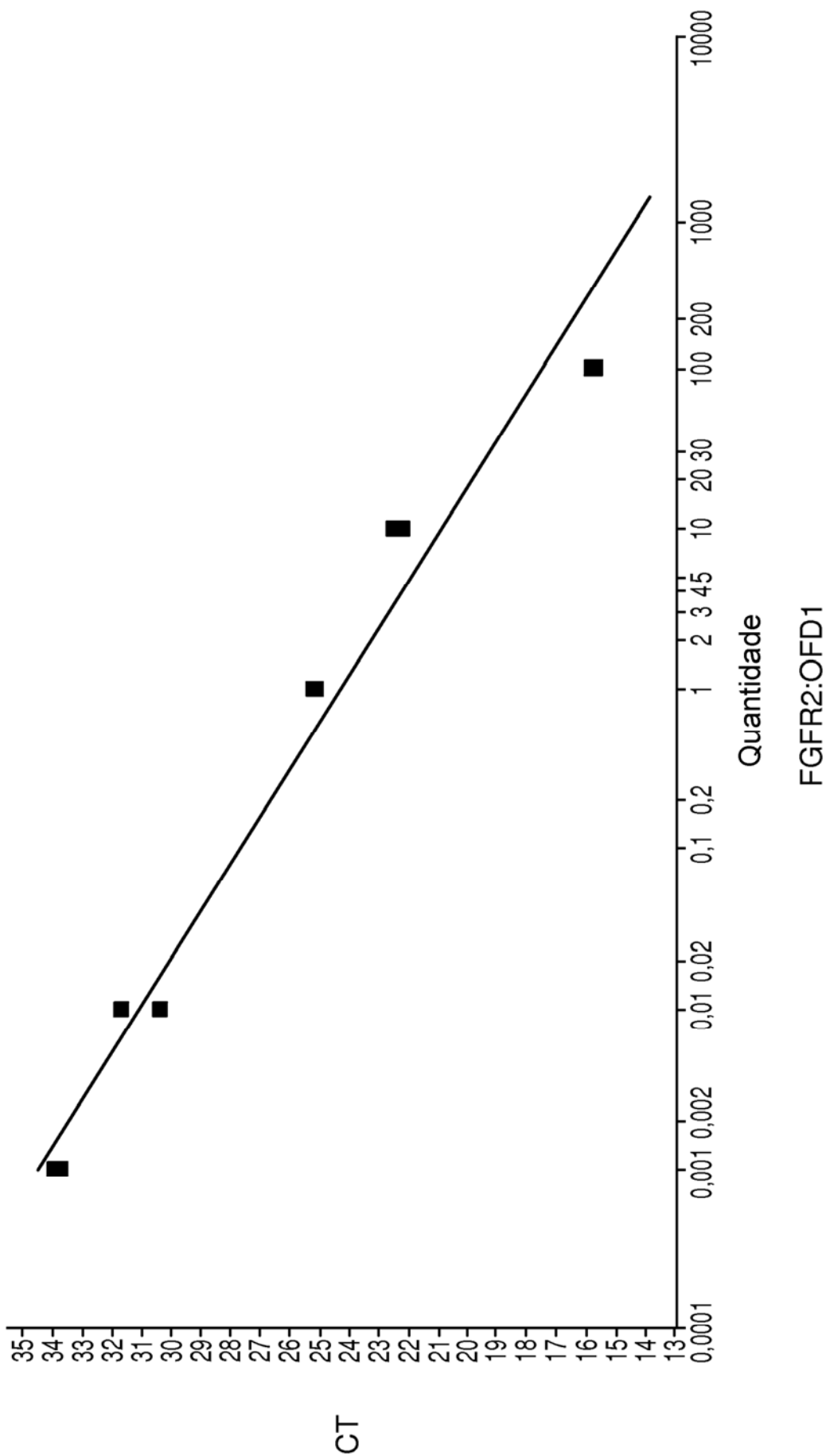
Curva padrão



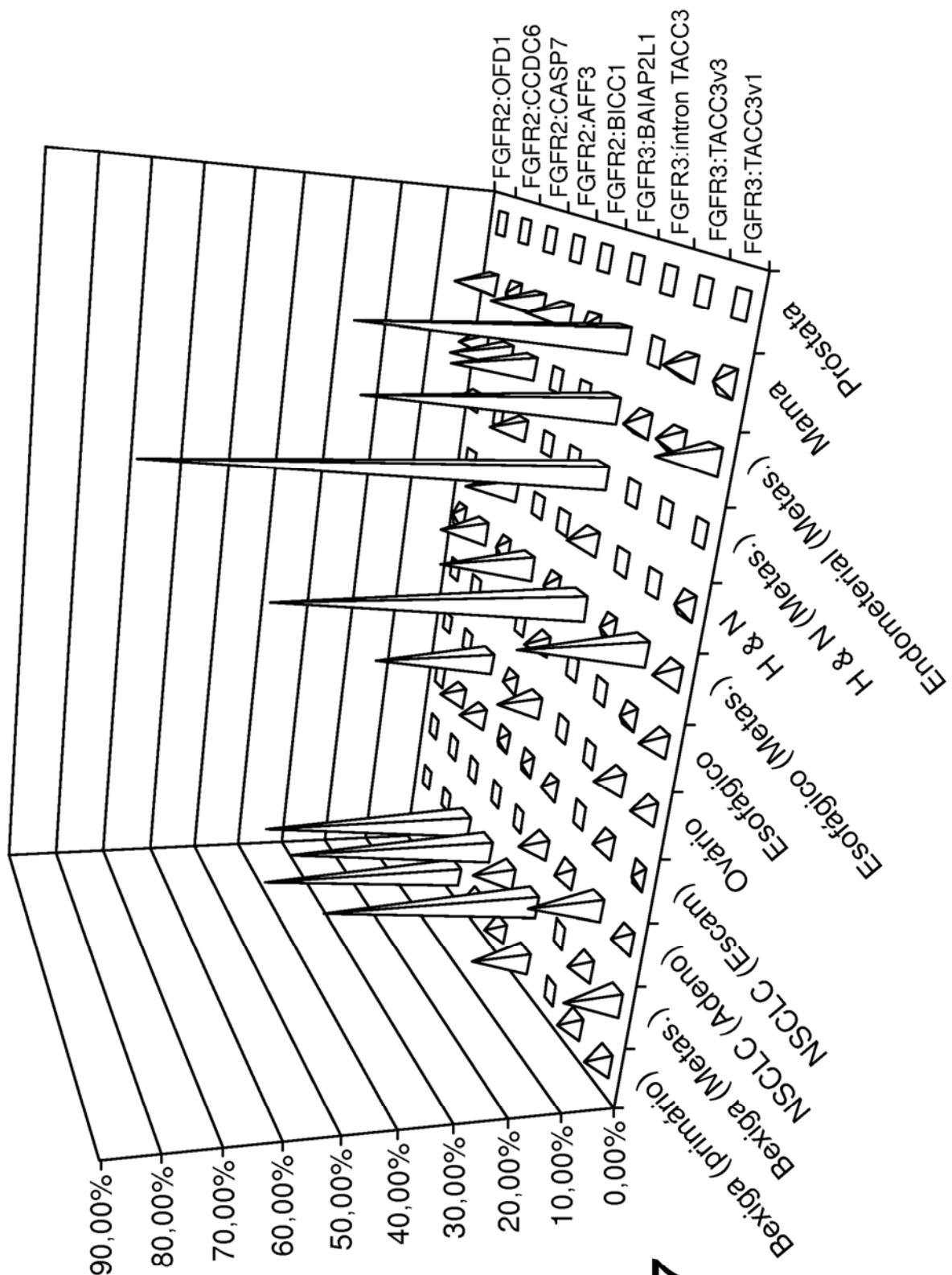
FGFR2:CCDC6

**FIG. 6I**

Curva padrão



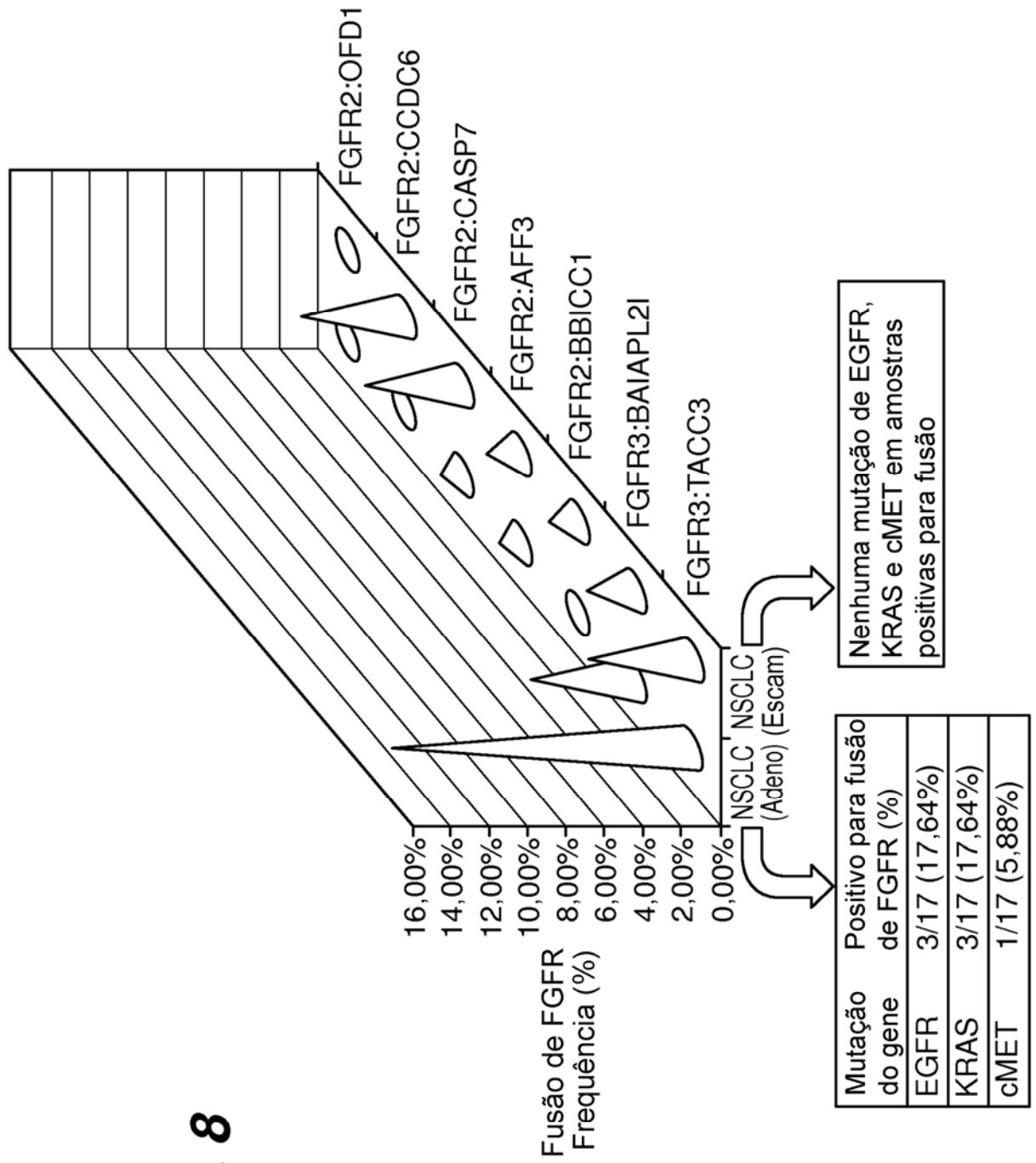
FGFR2:OFD1



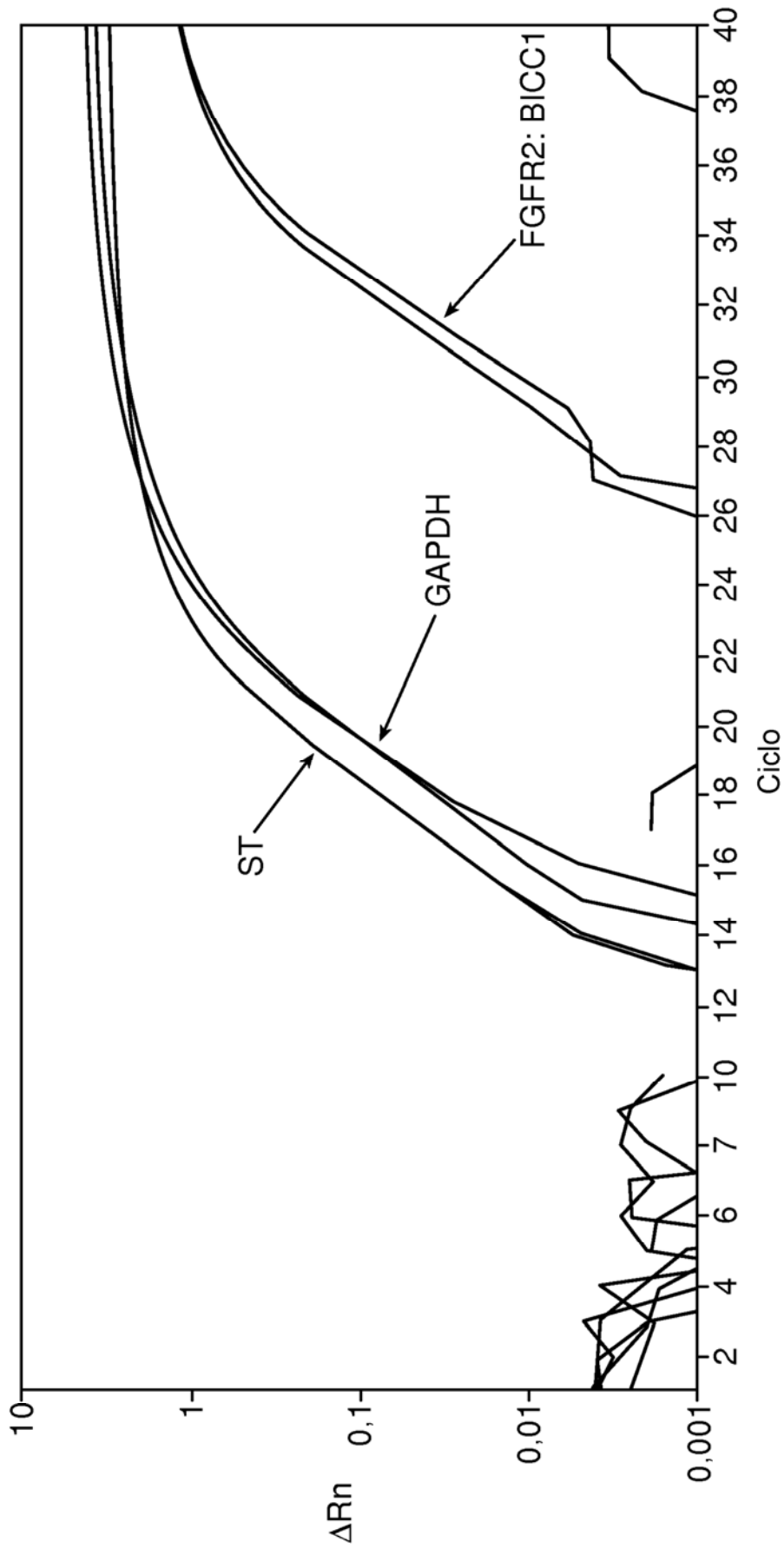
**FIG. 7**



**FIG. 8**



**Resultados: Pt#1000081**  
Gráfico de amplificação



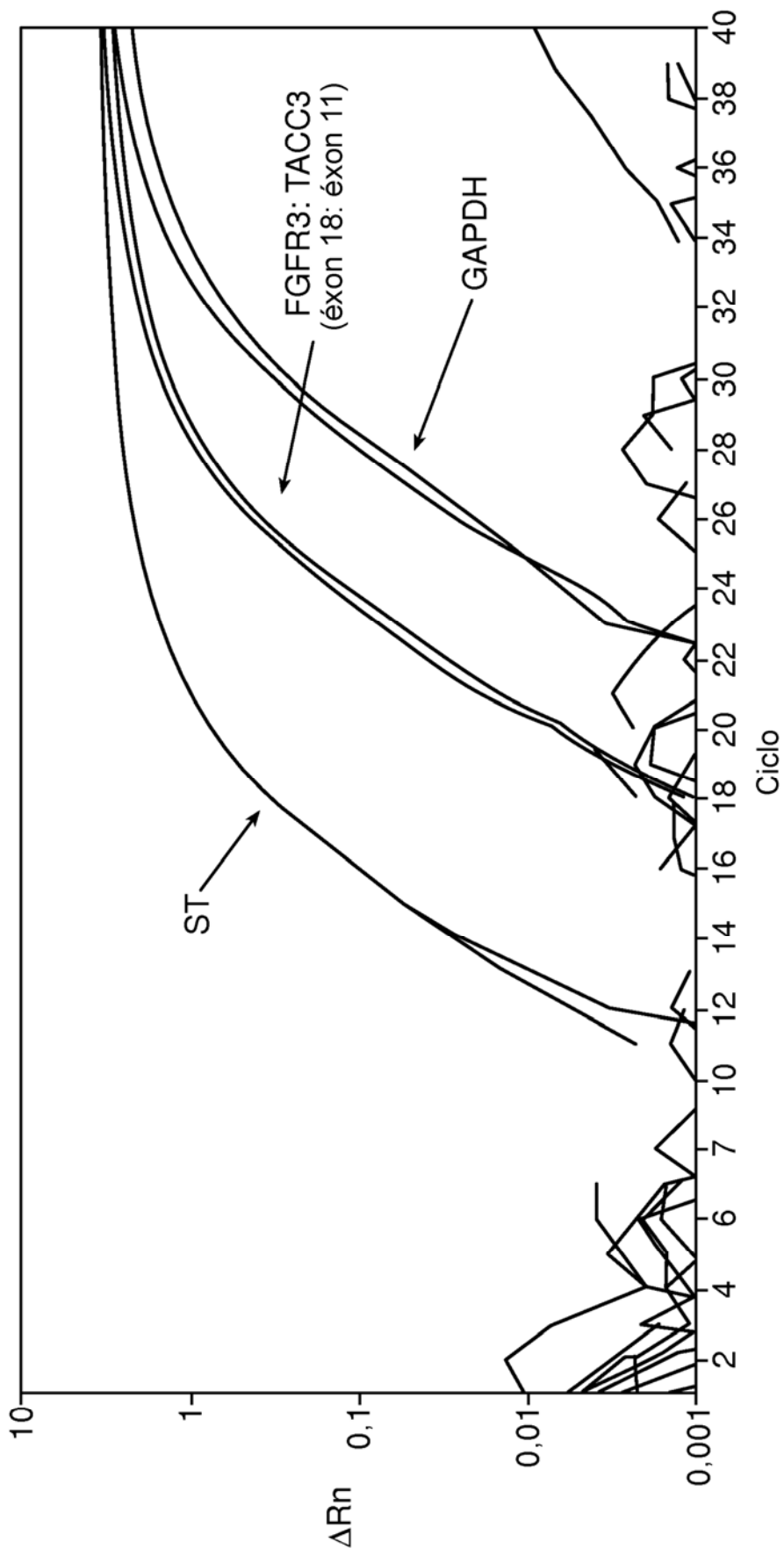
Amostra	Ct
GAPDH	21,140
ST	18,604
FGFR2: BICC1	32,764

ST=controle de ensaio de molde sintético  
GAPDH = controle da amostra de QC

**FIG. 9A**

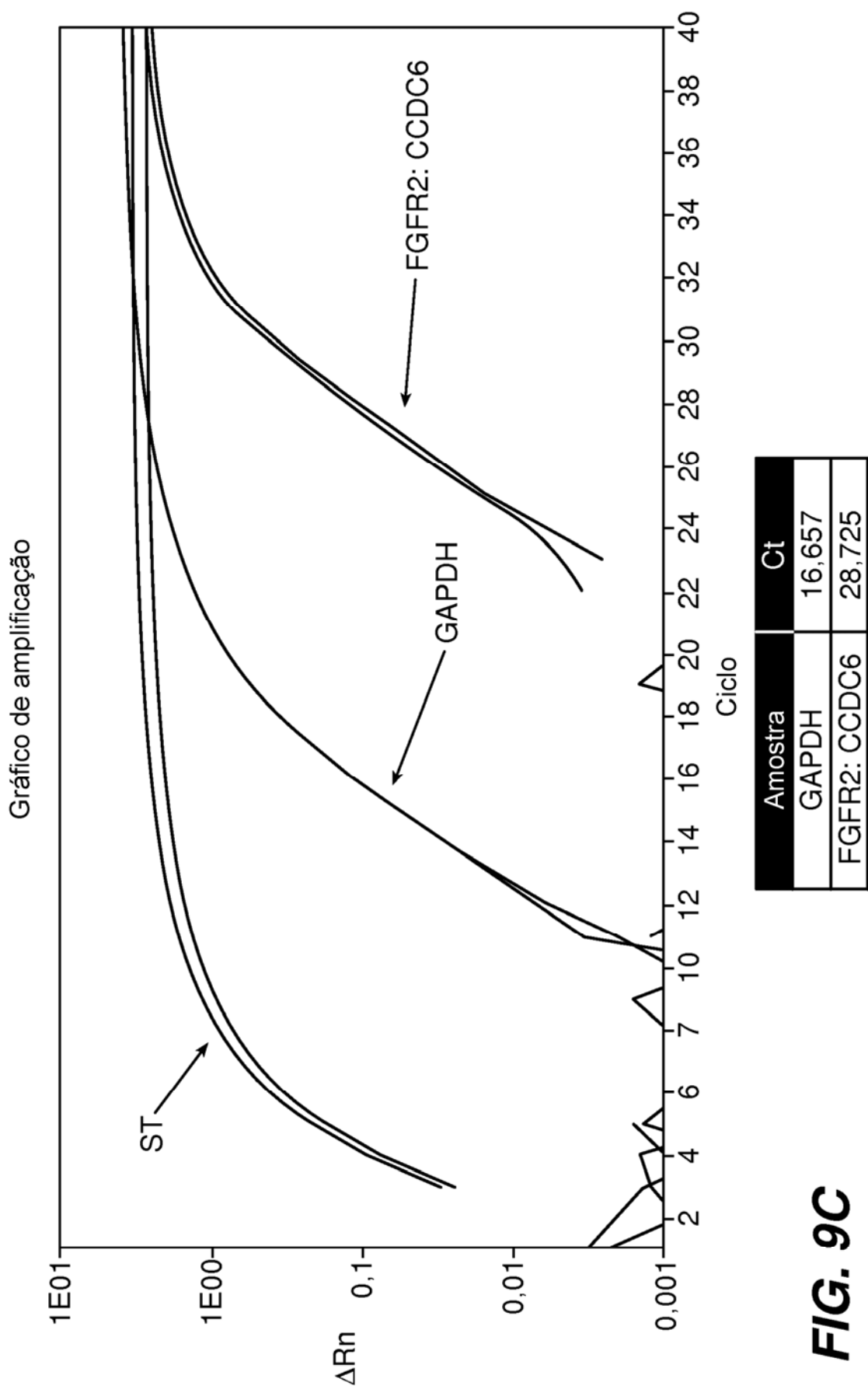
### Resultados: Pt#33000158

Gráfico de amplificação



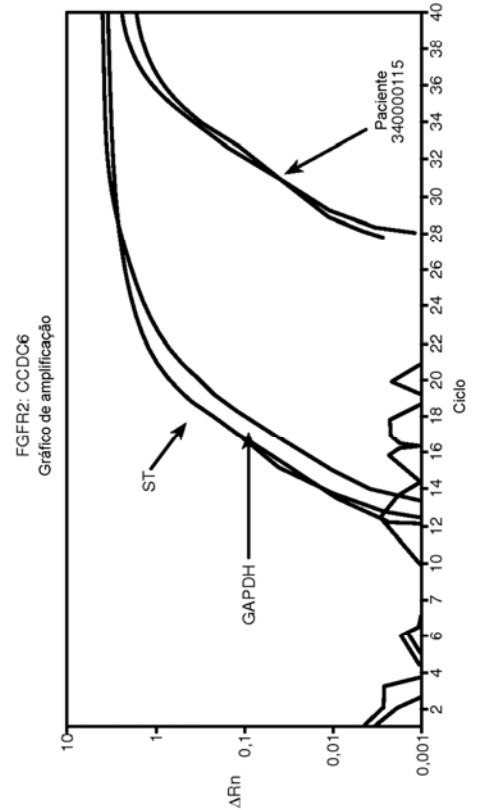
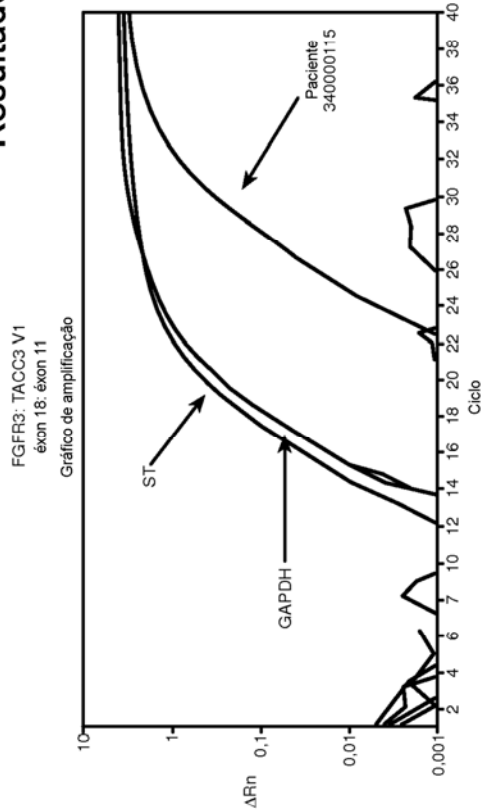
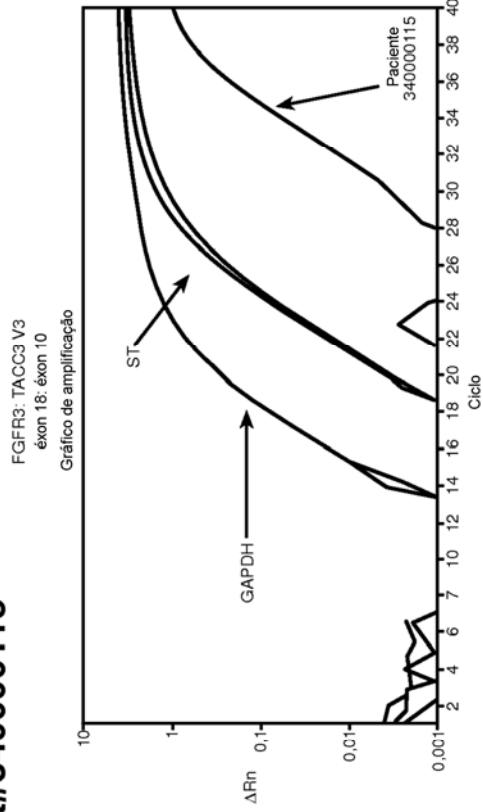
Amostra	Ct
GAPDH	29,278
ST	17,329
FGFR3: TACC3V1	24,956

**FIG. 9B**

**FIG. 9C**

# FIG. 9D

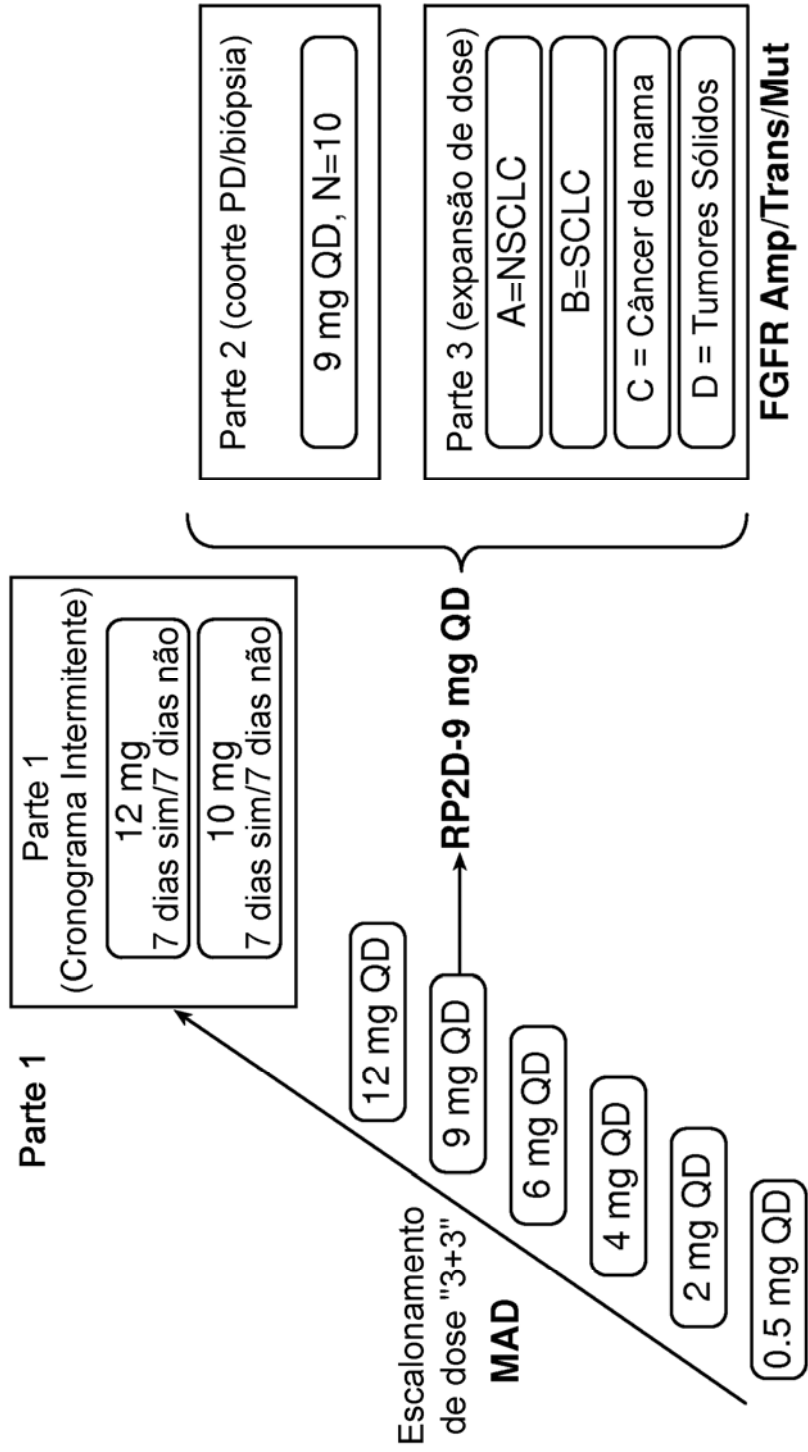
## Resultados: Pt#340000115



Ensaio	Ct da amostra	Ct St
FGFR3: TACC3 V1	28,67	18,35
FGFR3: TACC3 V3	35,0	24,89
FGFR2: CCDC6	32,45	16,74

ST=controle de ensaio de molde sintético  
GAPDH = controle da amostra de QC

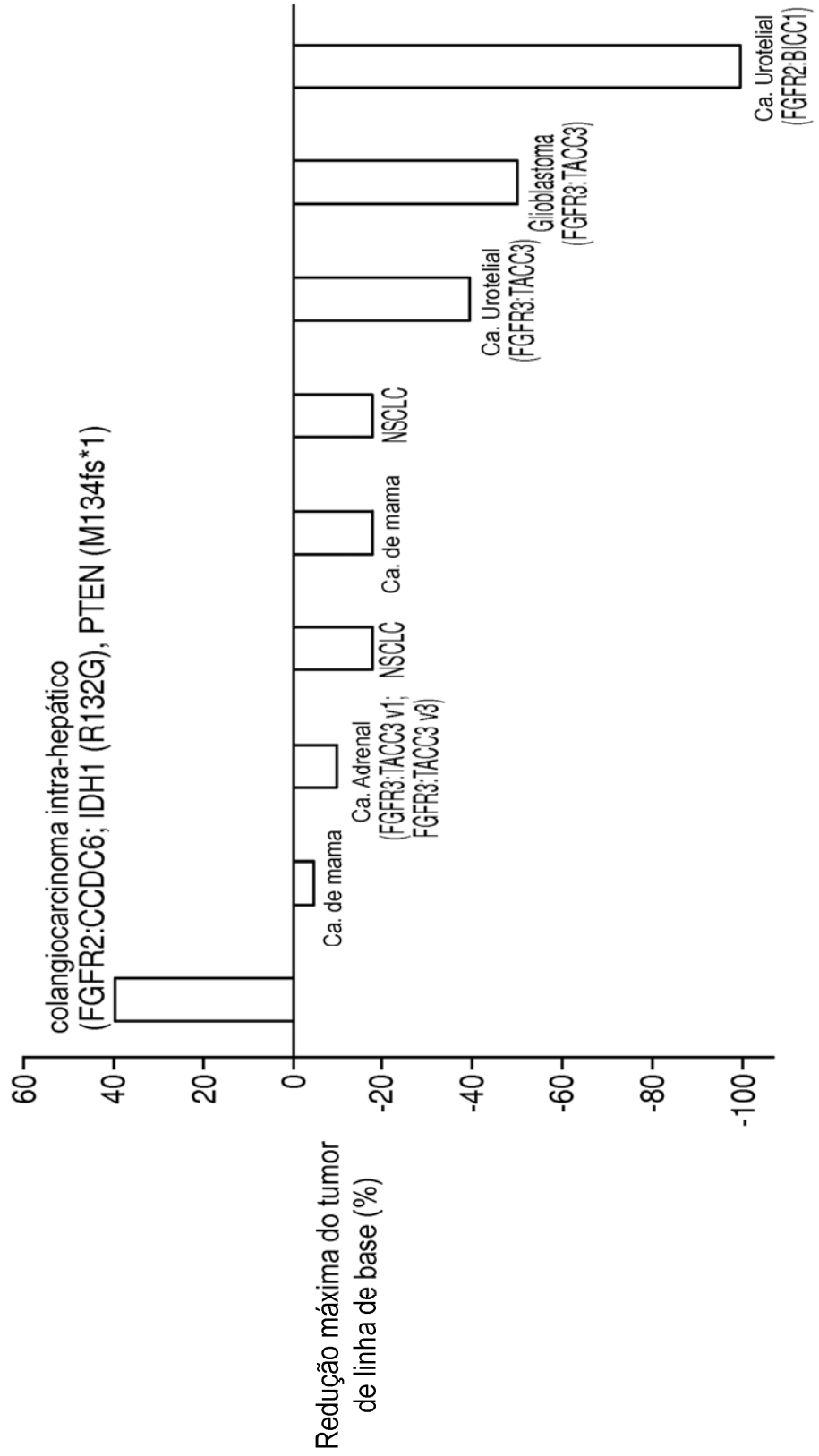
**FIG. 10**



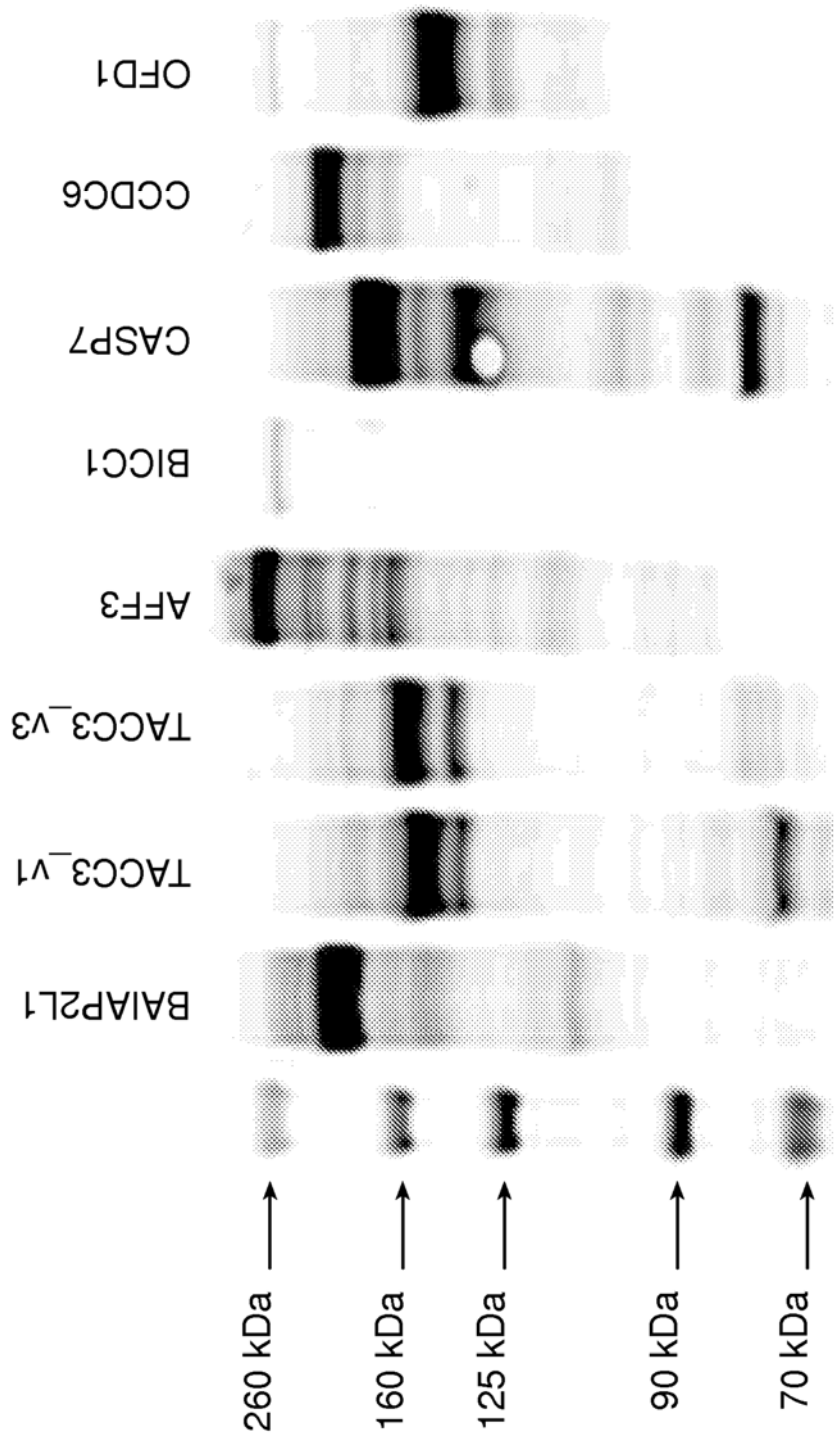
Coortes de expansão de dose, N=24/Coorte

## FIG. 11

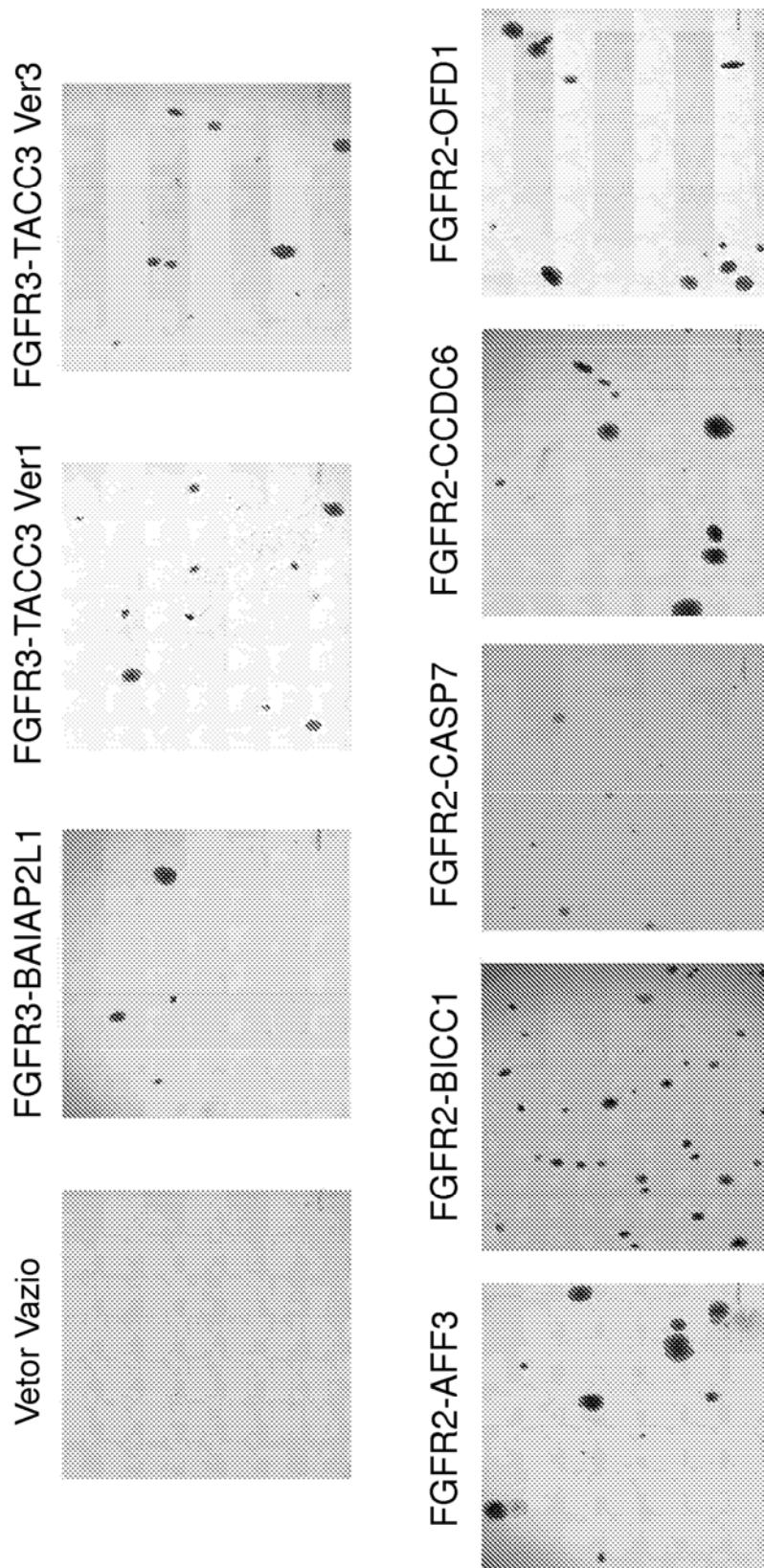
Dados preliminares da atividade clínica em pacientes cujos tumores carregam alterações gênicas de FGFR do estudo de fase 1 com JNJ-42756493 1 (EDI10001)



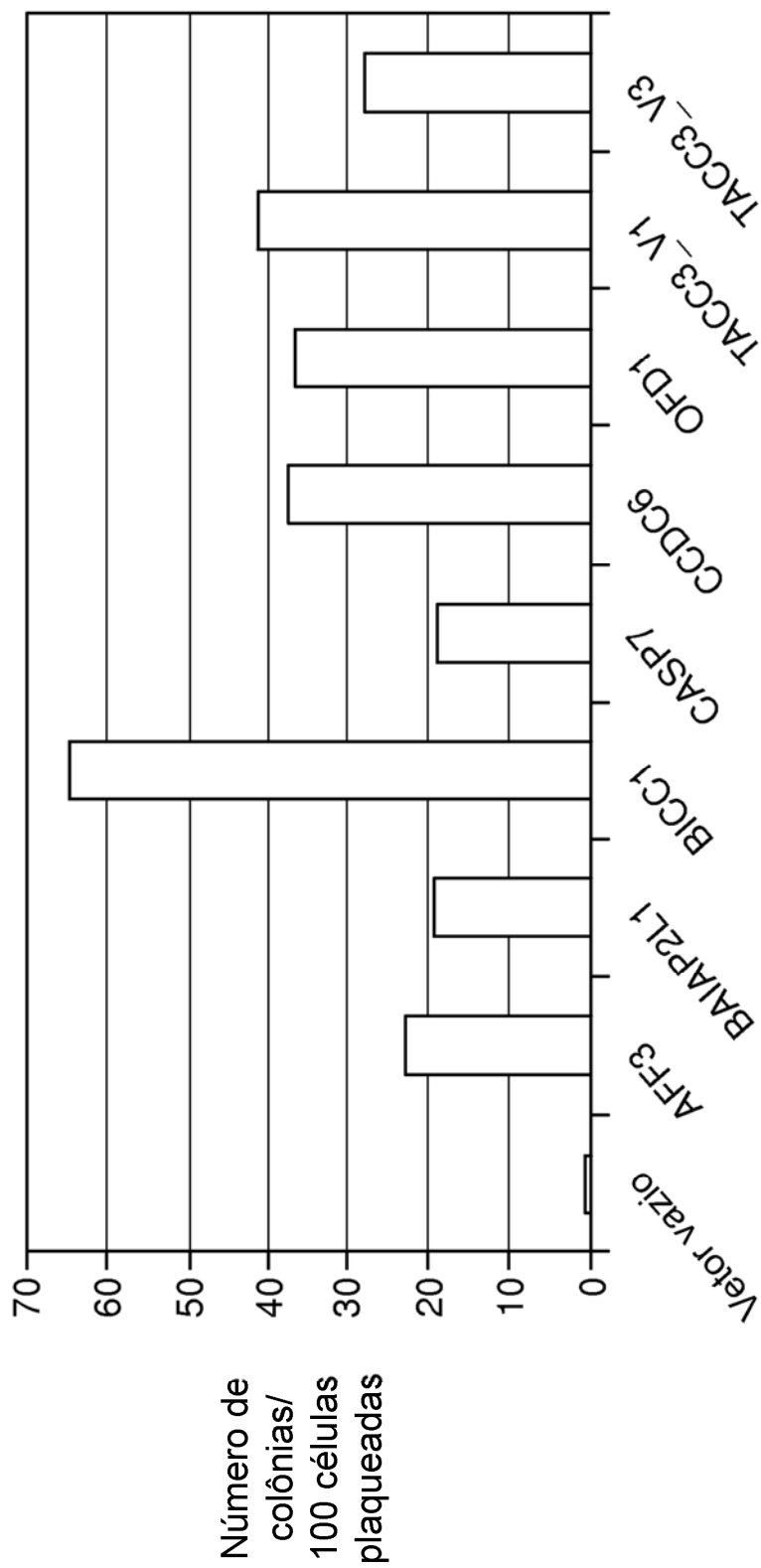
**FIG. 12**



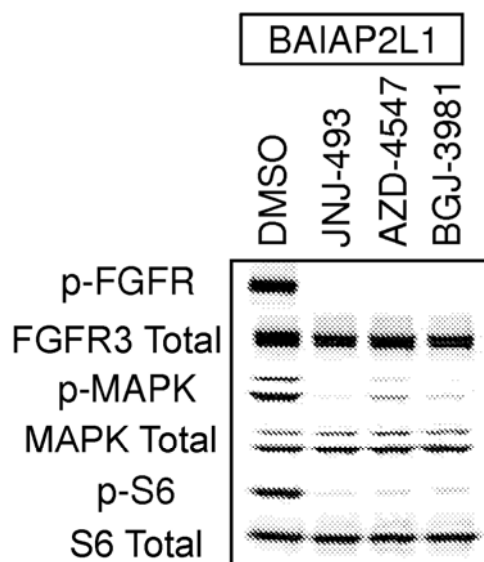
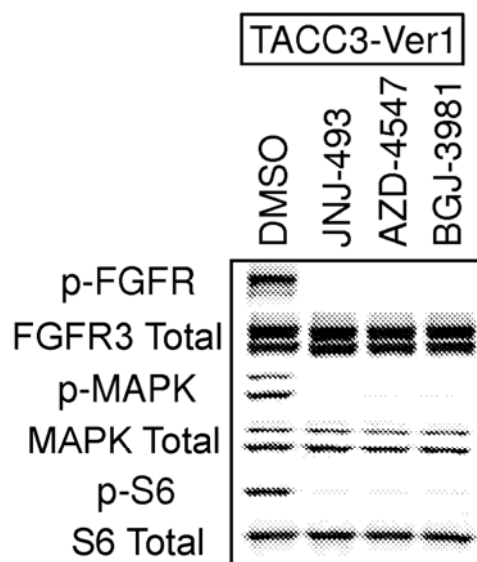
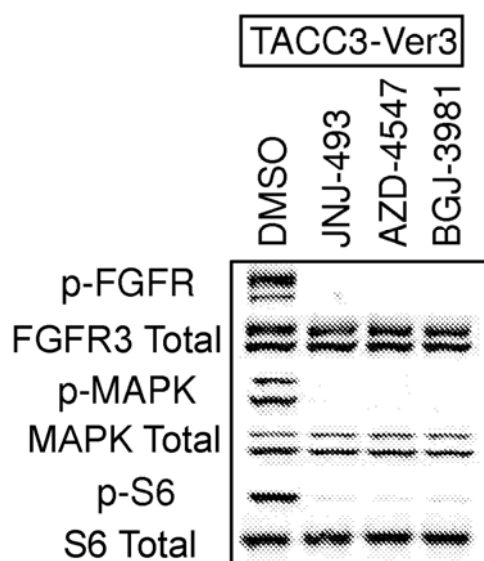
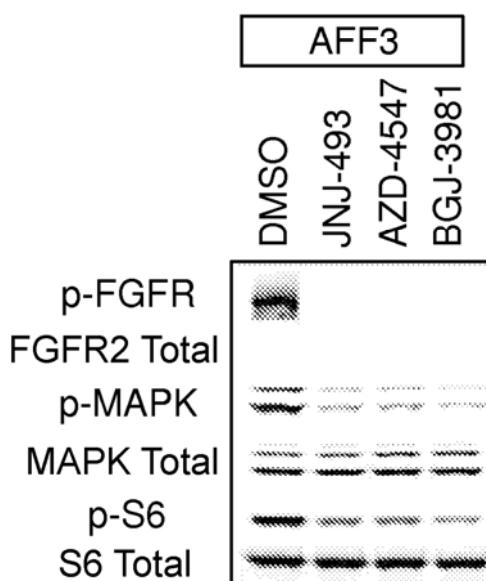


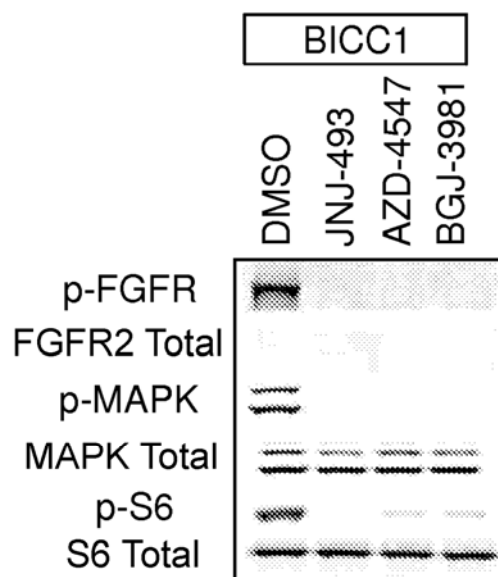
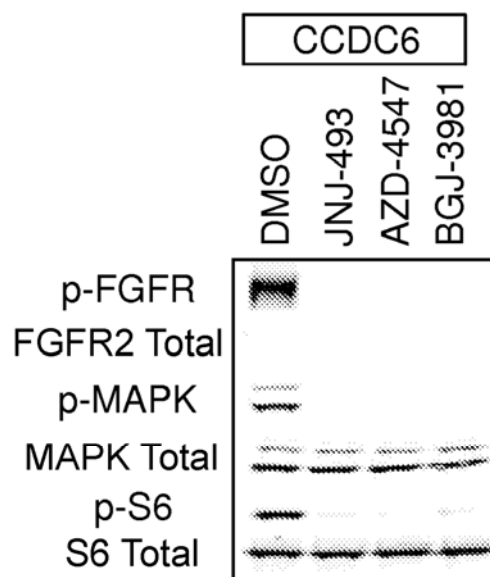
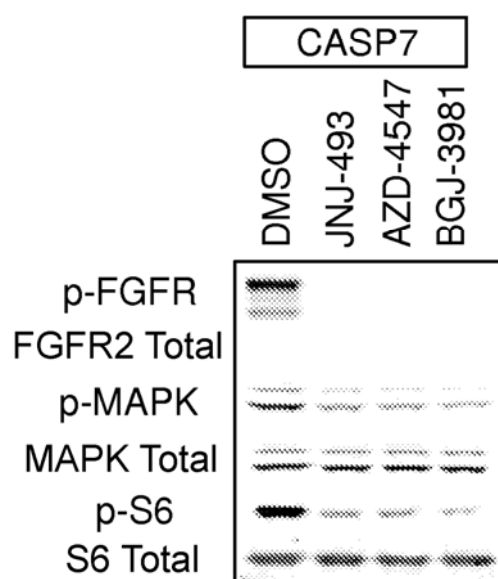
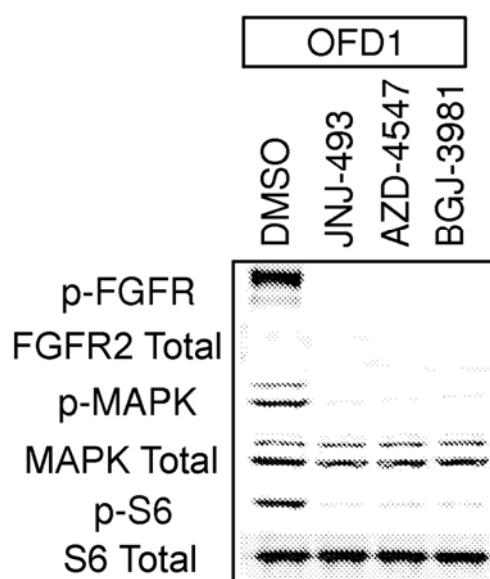
**FIG. 13A**

Câmaras de seis poços

**FIG. 13B**

\*\* Os resultados são representativos de dois experimentos independentes

**FIG. 14A****FIG. 14B****FIG. 14C****FIG. 14D**

**FIG. 14E****FIG. 14F****FIG. 14G****FIG. 14H**

## RESUMO

Patente de Invenção: "**MÉTODOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE UM PACIENTE COM CÂNCER DE BEXIGA QUE É RESPONSIVO AO TRATAMENTO COM UM INIBIDOR DO FGFR E KIT**".

A presente invenção refere-se a métodos para a identificação de um paciente com câncer que será responsivo ao tratamento com um inibidor do receptor do fator de crescimento de fibroblasto (FGFR) e métodos para o tratamento de pacientes com câncer. Os métodos envolvem a avaliação de uma amostra biológica obtida do paciente quanto à presença de um ou mais mutantes de FGFR a partir de um painel de genes FGFR mutantes. Kits e iniciadores para a identificação da presença de um ou mais genes FGFR mutantes em uma amostra biológica são também apresentados na presente invenção.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

### Código de Controle

Campo 1



Campo 2



### Outras Informações:

- Nome do Arquivo: P270180 List Seq.txt
- Data de Geração do Código: 18/03/2024
- Hora de Geração do Código: 17:48:45
- Código de Controle:
  - Campo 1: 63CA11F9FF2095B9
  - Campo 2: DDD6B082951412CF