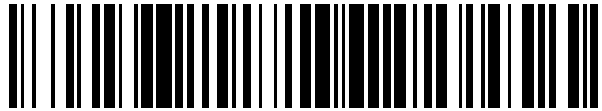


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 405 605**

51 Int. Cl.:

C12N 5/095 (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.03.2010 E 10723417 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.03.2013 EP 2411508**

54 Título: **Células iniciadoras de tumores y procedimientos de uso de las mismas**

30 Prioridad:

27.03.2009 US 164272 P

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

31.05.2013

73 Titular/es:

**WYETH LLC (100.0%)
Five Giralda Farms
Madison, NJ 07940, US**

72 Inventor/es:

**DAMELIN, MARC, ISAAC;
GELES, KENNETH, G.;
GOLAS, JONATHON, P.;
BOGHAERT, ERWIN y
ZHOU, BIN-BING, S.**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 405 605 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Células iniciadoras de tumores y procedimientos de uso de las mismas

Solicitud relacionada

5 Se reivindica prioridad respecto de la Solicitud Provisional de Estados Unidos N° 61/164.272, presentada el 27 de marzo del 2009, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere, en general, a células altamente tumorigénicas, denominadas también células madre cancerosas o células iniciadoras de tumores, a procedimientos para aislarlas y a marcadores de células iniciadoras de tumores para su uso en dichos procedimientos. Más particularmente, la presente invención se refiere a células iniciadoras de tumores que tienen altos niveles de expresión de 5T4 (5T4^{alto}), opcionalmente con niveles bajos o sin expresión de CD24 (CD24^{bajo}) y con expresión de CD44 (CD44⁺). Las poblaciones de células iniciadoras de tumores desveladas son útiles para la identificación de nuevos fármacos y dianas para la terapia contra el cáncer y para ensayar la eficacia de fármacos existentes contra el cáncer.

Antecedentes de la invención

15 Las rutas señaladoras que regulan la autorrenovación y diferenciación contribuyen a la heterogeneidad celular dentro de los tumores. Los diversos estados de autorrenovación y diferenciación se ponen de manifiesto en las subpoblaciones tumorales y células tumorales individuales que presentan niveles dispares de tumorigenicidad *in vivo* y clonogenicidad *in vitro*. Véase Lobo y col., Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 2007 23: 675-699; Reya y col., Nature, 2001, 414: 105-111. El desarrollo de nuevos modelos tumorales ha comenzado a permitir la caracterización de la heterogeneidad tumoral a niveles celulares. Implantes de tumores sólidos en ratones inmunocomprometidos presentan una rica arquitectura que refleja la histología de la muestra original pero que no está recapitulada en xenoinjertos de líneas celulares cultivadas en suero. El cultivo de células cancerosas en medio aséptico definido y/o en matrices tridimensionales conserva las características fisiológicas de las células más que el cultivo en medio con suero (Lee y col., Cancer Cell, 2006, 9: 391-403). La separación de células activadas por fluorescencia (FACS) de células de tumores, xenoinjertos y líneas celulares ha facilitado la caracterización molecular de subpoblaciones tumorales específicas.

20 En muchos tumores, las células definidas por marcadores de superficie específicos forman tumores más eficazmente que otras células en el mismo tumor. Estas células se denominan como alternativa células iniciadoras de tumores multipotentes, células madre cancerosas, células iniciadoras de tumores y células iniciadoras de cáncer. Las células iniciadoras de tumores se identificaron en primer lugar en el sistema hematopoyético (Bonnet y Dick, Nat. Med., 1997, 3(7): 730-737) y desde entonces se han identificado en tumores sólidos, incluyendo tumores cerebrales, de mama, colon, cabeza y cuello, pulmón, melanoma, páncreas y próstata. Véase Visvader y Lindeman, Nat. Rev. Cancer, 2008, 8: 755-768 y referencias citadas en la misma. En un tipo de tumor particular, puede usarse el mismo conjunto de marcadores de superficie celular para aislar células iniciadoras de tumores de muestras de tumores recientes, xenoinjertos y líneas celulares. Véase por ejemplo, Al-Hajj y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003, 100: 3983-3988; Filmore y Kuperwasser, Breast Cancer Res., 2008, 10: R25; Hermann y col., Cell Stem Cell, 2007, 1: 313-323; Matsui y col., Blood, 2004, 103: 2332-2336. Se ha mostrado recientemente que CD44, un marcador de células iniciadoras de tumores en diversos tipos de tumores, tiene un papel directo en la tumorigénesis y están reprimidas por p53 (Godar y col., Cell, 2008, 134: 62-73).

35 40 Las células iniciadoras de tumores presentan resistencia a terapias convencionales. Por ejemplo, en muestras de pacientes con cáncer de mama que habían recibido quimioterapia había una gran riqueza de células iniciadoras de tumores, lo que sugiere una explicación para la reincidencia de la enfermedad después del tratamiento (Yu y col., Cell, 2007, 131: 1109-1123). De manera similar, células iniciadoras de tumor CD133⁺ en glioblastoma eran resistentes a radiación lo cual erradicaba las células CD133⁻ más frecuentes (Bao y col., Cancer Res., 2006, 68: 6043-6048). Por tanto, en el contexto de terapia, la eliminación de células iniciadoras de tumor podría requerir mecanismos diana distintos de los usados para dirigirse al volumen del tumor.

45 Para desarrollar tratamientos que aumentan significativamente la supervivencia del paciente prolongada en cáncer, las células iniciadoras de tumores responsables de la recurrencia tumoral y metástasis representan una importante diana terapéutica para esta enfermedad. Para acometer dicha necesidad, la presente invención proporciona poblaciones aisladas y enriquecidas de células iniciadoras de tumores que pueden usarse para ensayar la eficacia de nuevos y existentes fármacos contra el cáncer.

Sumario de la invención

55 La presente invención proporciona poblaciones de células iniciadoras de tumor aisladas y enriquecidas. En un aspecto de la invención, una población de células iniciadoras de tumores aislada deriva de una población de células tumorales, comprendiendo la población de células iniciadoras de tumor aislada al menos un 90% de células iniciadoras de tumores, en el que las células iniciadoras de tumores (i) expresan 5T4 a un nivel que es al menos dos

veces superior al de las células no tumorigénicas del mismo origen, (ii) son tumorigénicas, (iii) pueden migrar, (iv) pueden autorrenovarse y (v) generan tumores que comprenden células no tumorigénicas. En otro aspecto de la invención, se proporciona una población de células iniciadoras de tumores enriquecida, que deriva de una población de células tumorales que comprende células iniciadoras de tumores y células no tumorigénicas, y en el que las células iniciadoras de tumores (i) expresan 5T4 a un nivel que es al menos 2 veces superior al de las células no tumorigénicas del mismo origen, (ii) son tumorigénicas, (iii) pueden migrar, (iv) pueden autorrenovarse, (v) generan tumores que comprenden células no tumorigénicas y (vi) están enriquecidas al menos 2 veces en comparación con la población de células tumorales. Las poblaciones de células iniciadoras de tumores aisladas o enriquecidas también pueden expresar CD24 a un nivel que es al menos 2 veces inferior al de las células no tumorigénicas del mismo origen y/o expresar CD44.

También se proporcionan procedimientos de preparación de poblaciones de células iniciadoras de tumores aisladas y enriquecidas. Por ejemplo, un procedimiento representativo de aislamiento o enriquecimiento de una población de células iniciadoras de tumores incluye las etapas de (a) proporcionar células tumorales disociadas, en el que una mayoría de las células exprese 5T4 a un nivel bajo y una minoría de las células exprese 5T4 a un nivel alto; (b) poner en contacto las células tumorales disociadas con un agente que se una específicamente a 5T4; y (c) seleccionar células que se unan específicamente al agente de (b) a un grado que presente un nivel alto de expresión de 5T4 que sea al menos aproximadamente 2 veces mayor que el nivel bajo; mediante lo cual una población de células iniciadoras de tumores se aísla o enriquece. Opcionalmente, los procedimientos para preparar una población de células iniciadoras de tumor que expresen 5T4 aisladas o enriquecidas incluye las etapas adicionales de poner en contacto las células tumorales disociadas con un agente que se une específicamente a CD44; y seleccionar células que se unen específicamente al agente para un nivel que presente expresión de CD44. Opcionalmente, los procedimientos para la preparación de una población de células iniciadoras de tumor que expresen 5T4 aislada o enriquecida también pueden incluir las etapas de poner en contacto las células tumorales disociadas con un agente que se una específicamente a CD24; y seleccionar células que se unan específicamente al agente a un grado que presente un nivel bajo de expresión de CD24 que sea al menos aproximadamente 5 veces inferior al de las células no tumorigénicas del mismo origen. Como alternativa, la población de células iniciadoras de tumores puede enriquecerse cultivando las células tumorales primarias en condiciones asépticas. En otro procedimiento representativo adicional de la invención, el aislamiento o enriquecimiento de una población de células iniciadoras de tumores que expresen 5T4 puede incluir poner en contacto las células tumorales disociadas con un agente que se una específicamente a CD24; y agotar las células que se unan específicamente al agente a un grado que presente un alto nivel de expresión de CD24 que sea al menos aproximadamente 5 veces mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen.

Adicionalmente aún se proporcionan procedimientos para ensayar la eficacia de un fármaco contra el cáncer o un fármaco candidato contra el cáncer usando las poblaciones de células iniciadoras de tumores aisladas o enriquecidas desveladas. Por ejemplo, dichos procedimientos pueden incluir las etapas de (a) proporcionar una población de células iniciadoras de tumores aislada o enriquecida; (b) poner en contacto las células iniciadoras de tumores con un fármaco contra el cáncer o un fármaco candidato contra el cáncer; (c) observar un cambio en el potencial tumorigénico de las células iniciadoras de tumores después de poner en contacto las células iniciadoras de tumores con el fármaco contra el cáncer o fármaco candidato contra el cáncer.

Breve descripción de las figuras

Las Figuras 1A-1H muestran que el fenotipo celular $CD24^{-/bajo}CD44^{+}$ marca las líneas iniciadoras de tumores en la línea de cáncer pulmonar no microcítico H460T (NSCLC). Las células $CD24^{-/bajo}CD44^{+}$ están marcadas "CD24^{-/bajo}" y las células $CD24^{alto}CD44^{+}$ están marcadas "CD24^{alto}".

La Figura 1A muestra los resultados de análisis de citometría de flujo usando la expresión de CD24 y CD44. Distintas poblaciones de H460T se revelaron por citometría de flujo y se marcaron con anticuerpos anti-CD24 y anti-CD44.

La Figura 1B muestra ratones que recibieron implantes subcutáneos de células $CD24^{-/bajo}CD44^{+}$ o células $CD24^{alto}CD44^{+}$. Las flechas indican sitios de implante.

La Figura 1C es un gráfico lineal que muestra un resultado de análisis cuantitativo de la observación en la Figura 1B. Los valores indican la medición tumoral promedio \pm ETM (error típico de la media).

La Figura 1D es un gráfico lineal que muestra tumorigénesis CD44 basándose en la expresión de CD44 en células H460T. Las células $CD24^{-/bajo}CD44^{alto}$ y $CD24^{-/bajo}CD44^{bajo}$ se seleccionaron e implantaron subcutáneamente en los ratones. Los valores indican la medición tumoral promedio \pm ETM.

La Figura 1E es un gráfico lineal que muestra un crecimiento esferoide de poblaciones seleccionadas. Células $CD24^{-/bajo}CD44^{+}$ o $CD24^{alto}CD44^{+}$ aisladas por FACS se cultivaron en suspensión durante 5 días para promover la formación de esferoides. Los esferoides de un diámetro de 0,2 mm se transfirieron a pocillos individuales de una placa de 24 pocillos y se midieron durante un tiempo de evolución de dos semanas. Los valores indican el volumen esferoide promedio \pm DT (desviación típica de la media).

La Figura 1F es un gráfico lineal que muestra la respuesta diferencial de poblaciones de $CD24^{-/bajo}CD44^{alto}$ y $CD24^{-/bajo}CD44^{bajo}$ para inhibidor mTOR CCI-779.

La Figura 1G es un gráfico de barras que muestra los resultados de un ensayo de migración transpocillo. Células $CD24^{-/bajo}CD44^{+}$ migraron eficazmente en respuesta al suero. El valor $CD24^{-/bajo}CD44^{+}$ muestra la media

de número de células normalizadas frente a $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ en cada experimento (\pm DT (n=4)).

La Figura 1H muestra microfotografías que representan una migración eficaz sobre fibronectina de esferoides $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ 72 horas después de situar los esferoides sobre portaobjetos revestidos con fibronectina.

Las Figuras 2A-2E muestran la multipotencia de células $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ en H460T. Las células $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ se marcaron " $CD24^{-/\text{bajo}}$ " y las células $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ se marcaron " $CD24^{\text{alto}}$ ".

La Figura 2A muestra los resultados de análisis de citometría de flujo de células $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ y $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ después de un cultivo de tres semanas. Se revelaron poblaciones distintas basándose en la expresión de CD24 y CD44.

La Figura 2B muestra los resultados de los análisis de citometría de flujo de la expresión de CD24 y CD44 en un tumor representativo de células seleccionadas $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$.

La Figura 2C muestra los resultados de análisis de citometría de flujo de la expresión de CD24 y CD44 en líneas clonales, establecidas a partir de células seleccionadas sencillas $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ o $CD24^{\text{alto}}CD44^+$. La proporción de células $CD24^{\text{alto}}$ en los clones $CD24^{-/\text{bajo}}$ de transición varió de 10-70% dependiendo del clon. La distribución de CD24 en cada clon fue constante a lo largo de los meses en el cultivo.

La Figura 2D muestra un gráfico lineal que muestra un crecimiento tumoral de líneas clonales presentadas en la Figura 2C. Se seleccionaron células $CD24^{-/\text{bajo}}$ de clones $CD24^{-/\text{bajo}}$ y se seleccionaron células $CD24^{\text{alto}}$ de clones $CD24^{\text{alto}}$. Los valores indican la medición tumoral promedio \pm ETM. Tr clon de transición; St clon estable.

La Figura 2E muestra un gráfico lineal que muestra el crecimiento tumoral de células $CD24^{-/\text{bajo}}$ y $CD24^{\text{alto}}$ aisladas mediante FACS de clones $CD24^{-/\text{bajo}}$ de transición. Los valores indican la medición tumoral promedio \pm ETM.

Las Figuras 3A-3C muestran la multipotencia de células H460T seleccionadas basándose en la expresión de CD24.

La Figura 3A es un dibujo esquemático del diseño experimental. Se marcaron células seleccionadas con CFSE 2,5 μ M (Invitrogen of Carlsbad, California, Estados Unidos), se lavaron abundantemente y después se sembraron en placa con otra población seleccionada en la proporción de la población parental (1 $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ a 3 $CD24^{\text{alto}}CD44^+$). El CFSE a 2,5 μ M tuvo escaso o ningún efecto sobre el crecimiento de células H460T a lo largo de la evaluación de este experimento. Después de tres días, los cultivos se analizaron para determinar la CD24 y las poblaciones iniciales pudieron diferenciarse basándose en CFSE.

La Figura 3B muestra los resultados de análisis de citometría de flujo de poblaciones marcadas y no marcadas cultivadas individualmente o en combinación.

La Figura 3C es un histograma de experimentos duplicados mostrados en la Figura 3B. La transición de células $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ a $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ fue comparable cuando las células se cultivaron solas o se cocultivaron con células $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ o $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$. La estabilidad del fenotipo $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ se observó cuando células $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ se cultivaron solas o se cocultivaron con células $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ o $CD24^{\text{alto}}CD44^+$.

Las Figuras 4A-4C muestran células iniciadoras de tumor que identifican $CD24^{-/\text{bajo}}$ en células HCC2429 cultivadas.

La Figura 4A muestra los resultados de análisis de citometría de flujo de HCC2429 basándose en la expresión de CD24.

La Figura 4B es un gráfico lineal que muestra una tumorigenicidad diferencial de poblaciones $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ o $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ de HCC2429. Los valores indican la medición tumoral promedio \pm ETM.

La Figura 4C muestra los resultados de análisis de citometría de flujo de poblaciones $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ o $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ 2 semanas después de la selección. Las células $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ pueden convertirse a $CD24^{\text{alto}}CD44^+$, pero $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ no se convierten a células $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$.

La Figura 5 es un gráfico de barras que muestra los niveles de ARNm de CD24 en matrices oligonucleotídicas GENECHIP[®] de Affymetrix hibridadas con muestras por triplicado de transcritos de ARNm preparados a partir de células $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ y $CD24^{\text{alto}}CD44^+$.

Las Figuras 6A-6B muestran que la proteína oncofetal 5T4 (TPBG) se expresa en células iniciadoras de tumores multipotentes H460T.

La Figura 6A es un gráfico de barras que muestra niveles de ARNm de 5T4 (TPBG) en matrices oligonucleotídicas GENECHIP[®] de Affymetrix hibridadas con transcritos de ARNm preparados a partir de células $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ y $CD24^{\text{alto}}CD44^+$. Los valores indican el promedio de muestras por triplicado \pm DT.

La Figura 6B muestra los resultados de análisis de inmunotransferencia para detectar la expresión de 5T4 en células $CD24^{-/\text{bajo}}CD44^+$ y $CD24^{\text{alto}}CD44^+$ cultivadas en medios o tratadas con vehículo o ácido todo trans retinoico.

Las Figuras 7A-7G muestran perfiles de expresión génica asociados con células de cultivo primario 87426 no diferenciadas y diferenciadas.

La Figura 7A muestra microfotografías de cultivo primario 87426 de NSCLC en condiciones que promueven el crecimiento (izquierda) y diferenciación de la interfaz aire-líquido (derecha). Barras de escala, 200 μ M.

La Figura 7B muestra los resultados de análisis de inmunotransferencia para detectar la expresión de 5T4 en los momentos indicados durante la diferenciación.

La Figura 7C muestra los niveles de ARNm en matrices oligonucleotídicas GENECHIP[®] de Affymetrix hibridadas con transcritos de ARNm preparados a partir de células de cáncer pulmonar de cultivo primario en condiciones de crecimiento o diferenciación. Los valores representan promedios \pm DT. FN1, fibronectina; VIM, vimentina.

La Figura 7D muestra los resultados de experimentos de perfilado génico para comparar la expresión génica en el cultivo de la línea celular (H460T) y modelos tumorales de cultivo primario (87426A1), véase Ejemplo 3. Se

comparó la diferencia de expresión para los genes que están por encima del nivel del ruido en el conjunto de datos H460T. El análisis estadístico produjo la Tasa de Descubrimiento Falso de 0,0015.

La Figura 7E es un gráfico de barras que muestra niveles de ARNm de CD24 y CD44 en cultivo primario aséptico de células 87426 los días 0, 12 y 24 de diferenciación. Los cultivos se conservaron en medio de crecimiento BEBM o se diferenciaron durante 12 y 24 días en medio CnT-23 que contenía ácido retinoico 50 nM y CaCl² 1 mM, sin exponer células a la interfaz aire-líquido.

La Figura 7F muestra la distribución de la expresión de CD24 y CD44 en muestras por duplicado a partir del experimento presentado en la Figura 7D. Después de 12 días de diferenciación como un cultivo monocapa, los niveles de la expresión de CD24 en superficie aumentaron y se mantuvieron hasta 24 días. Los niveles en superficie celular de la expresión de CD44 disminuyeron a los 12 días y se redujeron más a los 24 días de diferenciación.

La Figura 7G es un gráfico de barras que muestra niveles de ARNm de factores de angiogénesis en cultivo primario aséptico de células 87426 el día 0, 12 y 24 de diferenciación. Los niveles de ARNm se determinaron usando el perfilado de expresión génica como se describe en el Ejemplo 6.

Las Figuras 8A-8B muestran la expresión 5T4 heterogénea en xenoinjertos de implante primario de NSCLC.

La Figura 8A muestra análisis de citometría de flujo de la expresión de 5T4 en xenoinjertos disociados de la línea 37622 (panel izquierdo), células cultivadas establecidas de xenoinjertos 37622 en medio aséptico (panel central; mostrado después de cinco semanas en cultivo) y en xenoinjertos de células implantadas de cultivo aséptico (panel derecho).

La Figura 8B es una tabla que muestra la frecuencia tumoral en animales a los que se les implantaron células 5T4^{alto} o 5T4^{bajo} de xenoinjertos 37622 o 60257 disociados (Nº 1, Nº 2 indican experimentos duplicados).

Las Figuras 9A-9D muestran que Sox-2 induce la diferenciación de células CD24^{-bajo}.

La Figura 9A es un gráfico de barras que muestra niveles de ARNm de Sox-2 de matrices oligonucleotídicas GENECHIP[®] de Affymetrix hibridadas con transcritos preparados a partir de clones CD24^{-bajo}.

La Figura 9B muestra los resultados de análisis de inmunotransferencia para detectar transcritos Sox-2 y Sox-11 en clones CD24^{-bajo} estables transfectados con Sox-2-Flag, Sox-11-Flag, vector vacío o sin ADN. Las células se recogieron 24 horas después de la transfección y se sometieron a inmunotransferencia con anticuerpo anti-Flag (parte superior) o anti-β-actina.

La Figura 9C muestra los resultados de análisis de citometría de flujo de CD24 en clones CD24^{-bajo} transfectados con Sox-2-Flag, Sox-11-Flag, vector vacío o sin ADN después de tres semanas en cultivo.

La Figura 9D es un histograma de los datos presentados en la Figura 9C que muestra el porcentaje de células CD24^{alto} en cada muestra.

Las Figuras 10A-10B muestran la sensibilidad de células CD24^{-bajo}CD44⁺ frente a un conjugado anti-5T4-caliqueamicina. Las células CD24^{-bajo}CD44⁺ se marcaron "CD24^{-bajo}" y las células CD24^{alto}CD44⁺ se marcaron "CD24^{alto}".

La Figura 10A es un gráfico lineal que muestra los resultados de un ensayo con MTS de cuatro días. Las retículas indican la sensibilidad frente a caliqueamicina libre.

La Figura 10B es un gráfico lineal que muestra los resultados de un ensayo clonogénico. Las retículas indican la sensibilidad frente a caliqueamicina libre.

La Figura 11 es un gráfico lineal que muestra el crecimiento tumoral de células 5T4^{alto} y 5T4^{bajo} en la línea clonal H460T 24N-26, que muestra una expresión más elevada que en la línea celular parental H460T. Se seleccionaron células basándose en la expresión de 5T4 y se implantaron subcutáneamente en ratones. Los valores indican la medición tumoral promedio ± ETM.

Las Figuras 12A-12C muestran regresión de volumen tumoral de xenoinjertos de implante primario tratado con un anticuerpo anti-5T4 conjugado con caliqueamicina. Rombo, vehículo; cuadrado, anti-5T4 conjugado con caliqueamicina; círculo, anti-CD33 conjugado con caliqueamicina; triángulo, cisplatino; asterisco (*), p<0,05.

La Figura 12A es un gráfico lineal que muestra regresión de volumen tumoral de xenoinjertos 37622 después del tratamiento con anticuerpo anti-5T4 conjugado con caliqueamicina. A los animales se les administró anticuerpo anti-5T4 conjugado con caliqueamicina los días 1, 5 y 9 después de la separación por etapas. Los valores indican el volumen tumoral promedio ± ETM.

La Figura 12B es un gráfico lineal que muestra la regresión de volumen tumoral de xenoinjertos 60274 después del tratamiento con anticuerpo anti-5T4 conjugado con caliqueamicina. A los animales se les administró anticuerpo anti-5T4 conjugado con caliqueamicina los días 1, 5 y 9 después de la separación por etapas. Los valores indican volumen tumoral promedio ± ETM.

La Figura 12C es un gráfico lineal que muestra regresión de volumen tumoral de xenoinjertos 60274 después del tratamiento con anticuerpo anti-5T4 conjugado con caliqueamicina. A los animales se les administró anticuerpo anti-5T4 conjugado con caliqueamicina los días 1, 5 y 9 después de la separación por etapas. Los valores indican volumen el tumoral promedio ± ETM.

La Figura 13 es un gráfico de barras que muestra niveles de ARNm de 5T4 (TPBG) en una matriz oligonucleotídica GENECHIP[®] de Affymetrix hibridada con transcritos de tumores múltiples (T1, T2, T3) de línea de implante primario NSCLC 37622, 60274 y 60257. Los xenoinjertos 37622 procedían de ratones desnudos y los xenoinjertos 60274 y 60257 procedían de ratones nod-scid (diabéticos no obesos con inmunodeficiencia severa combinada).

Descripción detallada de la invención

5 La presente invención proporciona procedimientos para la identificación prospectiva de células iniciadoras de tumores que expresan el antígeno oncofetal 5T4 y, opcionalmente, también expresan CD44 y bajos niveles de CD24. Estas células son muy tumorigénicas *in vitro* e *in vivo*, se autorrenuevan, pueden migrar y tienen la capacidad de diferenciarse. Las poblaciones de células iniciadoras de tumores desveladas también pueden mostrar resistencia a apoptosis y contribuir a reincidencia del cáncer y metástasis. También se proporcionan procedimientos para aislar poblaciones de células iniciadoras de tumores y para enriquecer células iniciadoras de tumores dentro de una población. Adicionalmente aún se proporcionan nuevos marcadores de células iniciadoras de tumores.

10 Las poblaciones de células iniciadoras de tumores desveladas en el presente documento son útiles para estudiar los efectos de agentes terapéuticos sobre el crecimiento tumoral, reincidencia y metástasis. Las células iniciadoras de tumores aisladas pueden usarse para identificar dianas terapéuticas excepcionales que pueden usarse para generar anticuerpos que dirigen células iniciadoras de tumores. Las células iniciadoras de tumores aisladas pueden también usarse en ensayos de exploración para mejorar la probabilidad de que los fármacos seleccionados basándose en la actividad *in vitro* o basándose en la citotoxicidad de las poblaciones tumorales que incluyan células no tumorigénicas erradicarán exitosamente enfermedades e impedirán la reincidencia *in vivo*. Las células iniciadoras de tumores aisladas de pacientes también pueden usarse para predecir el resultado de enfermedades y/o la sensibilidad frente a terapias conocidas.

I. Células iniciadoras de tumor

20 En la técnica es conocido que una célula iniciadora de tumor significa una célula (1) que puede generar uno o más tipos de progenie con potencial de desarrollo o proliferativo reducido (por ejemplo células diferenciadas); (2) que tiene una amplia capacidad proliferativa; y (3) puede autorrenovarse o automantenerse. Véase, por ejemplo, Potten y col., *Development*, 1990, 110: 1001-1020. Por tanto, las células iniciadoras de tumores comparten propiedades de células madre encontradas en tejidos adultos (incluyendo células sanguíneas, intestinales, sistema ductal de mama y piel) que constantemente reponen células perdidas durante las funciones tisulares normales.

25 El ejemplo mejor conocido de renovación de células adultas mediante la diferenciación de células madre es el sistema hematopoyético. El desarrollo de precursores inmaduros, tales como células madre hematopoyéticas y células progenitoras, responde a señales moleculares formando gradualmente los diversos tipos de células sanguíneas y linfoides. Las células madre también se encuentran en otros tejidos, incluyendo tejidos epiteliales (Slack, *Science*, 2000, 287: 1431-1433) y tejidos mesenquimales (Patente de Estados Unidos N° 5.942.225). Las células madre cancerosas pueden originarse de cualquiera de estos tipos de células, por ejemplo, debido a lesiones genéticas en células madre normales o mediante una proliferación mal regulada de células madre y/o células diferenciadas.

35 Las células iniciadoras de tumores de la presente invención pueden derivar de cualquier cáncer que comprenda células madre tumorigénicas, es decir, células multipotentes que tengan una capacidad de proliferar amplia o indefinidamente y que den lugar a la mayoría de las células cancerosas. Dentro de un tumor establecido, la mayoría de las células ha perdido la capacidad de proliferar ampliamente y formar nuevos tumores, y un pequeño subconjunto de células iniciadoras de tumor prolifera para regenerar de esta manera las células iniciadoras de tumores así como dar lugar a células tumorales que carecen de potencial tumorigénico. Las células iniciadoras de tumores pueden dividirse asimétrica y simétrica y pueden mostrar tasas de proliferación variables.

40 A diferencia de las células iniciadoras de tumor, las células tumorales no tumorigénicas no forman un tumor palpable después de trasplante en un huésped inmunocomprometido, en el que si el mismo número de células cancerosas disociadas, no fraccionadas se trasplantaran en las mismas circunstancias, las células iniciadoras de tumor formarían un tumor palpable en el mismo periodo. Los expertos en la técnica médica saben que un tumor palpable es un tumor que puede manipularse, tocarse o sentirse. Las células no tumorigénicas también han demostrado una migración disminuida en comparación con las células iniciadoras de tumores, una incapacidad de generar células iniciadoras de tumor y una expresión aumentada de marcadores de diferenciación.

45 Los cánceres representativos a partir de los cuales pueden aislarse las células iniciadoras de tumores incluyen cánceres caracterizados por tumores sólidos, incluyendo tumores que expresan 5T4 tales como tumores pulmonares, de ovario, colorrectales y gástricos. Cánceres representativos adicionales de los cuales pueden aislarse células iniciadoras de tumor incluyen neuroma acústico, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia mielóide aguda, adenocarcinoma, carcinoma adenoescamoso, carcinoma adrenocortical, linfoma relacionado con SIDA, cáncer anal, angiosarcoma, astrocitoma, linfomas de linfocitos B y leucemias, carcinoma de células basales, carcinoma basaloide, cáncer de conducto biliar, carcinoma de conducto biliar, cáncer de vejiga, carcinoma de vejiga, tumor cerebral, cáncer de mama, carcinoma broncogénico, enfermedad voluminosa NHL y Macroglobulinemia de Waldenstrom, carcinosarcoma, astrocitoma cerebelar, astrocitoma cerebral, cáncer de cuello uterino, condrosarcoma, cordoma, coriocarcinoma, leucemia leucocítica crónica, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, carcinoma de células claras, cáncer de colon, cáncer colorrectal, craneofaringioma, linfoma de linfocitos T cutáneos, cistadenocarcinoma, carcinoma embrionario, cáncer endometrial, endoteliosarcoma, ependimoma, carcinoma epitelial, cáncer esofágico, sarcoma de Ewing, tumor de Ewing,

5 fibrosarcoma, cáncer de vesícula biliar, tumor trofoblástico gestacional, carcinoma de células gigantes, glioma, leucemia de células pilosas, hemangioblastoma, hemangiomas de la infancia y juventud, malignidades hematopoyéticas, malignidades hematopoyéticas que incluyen leucemia linfoblástica aguda, hepatoma, NHL inmunoblástico de alto grado, NHL linfoblástico de alto grado, NHL de células no escindidas pequeñas de alto grado, linfoma de Hodgkin, cáncer hipofaríngeo, incluyendo pero sin limitación linfoma no Hodgkin (NHL) folicular/de grado bajo, NHL difuso de grado intermedio, NHL de grado intermedio/folicular, carcinoma de células del islote, sarcoma de Kaposi, cáncer renal, carcinoma de células grandes con fenotipo rabdoide, carcinoma pulmonar de células grandes, cáncer laríngeo, leiomioma, liposarcoma, cáncer hepático, cáncer pulmonar, carcinoma pulmonar, linfangioendoteliosarcoma, linfangiosarcoma, leucemia linfoblástica, leucemia linfocítica, carcinoma similar a linfoepitelioma, melanoma maligno, mesotelioma maligno, timoma maligno, carcinoma medular, meduloblastoma, melanoma, meningioma, mesotelioma, leucemia monocítica, mieloma múltiple, micosis fungoide, leucemia mielógena, mixosarcoma, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, linfoma no Hodgkin, carcinoma pulmonar no microcítico, oligodendroglioma, cáncer bucal, cáncer orofaríngeo, sarcoma osteogénico, osteosarcoma, cáncer de ovario, cáncer epitelial de ovario, tumor de células germinales de ovario, cáncer pancreático, carcinoma pancreático, adenocarcinoma papilar, carcinoma papilar, cáncer paratiroideo, cáncer de pene, pinealoma, tumor pituitario, leucemia promielocítica, cáncer de próstata, cáncer de próstata, blastoma pulmonar, cáncer rectal, carcinoma de células renales, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de glándulas salivares, sarcomas, carcinoma de glándulas sebáceas, seminoma, cáncer de piel, cáncer pulmonar microcítico, carcinoma pulmonar microcítico, cáncer de intestino delgado, NHL linfocítico pequeño (SL), carcinoma de tejido blando, carcinoma de células escamosas, carcinoma pulmonar de células escamosas, cáncer de estómago, carcinoma de glándulas sudoríparas, sinovioma, cáncer testicular, cáncer tiroideo, cáncer uterino, sarcoma uterino, cáncer vaginal, cáncer vulvar y tumor de Wilm.

25 Las células iniciadoras de tumores también pueden derivar de células asociadas con una enfermedad proliferativa, es decir, una clase de diversos trastornos y enfermedades caracterizados por una ausencia de control o una división celular o proliferación mal controlada. Las enfermedades proliferativas incluyen trastornos asociados con un sobrecrecimiento de tejidos conectivos, tales como diversas afecciones fibróticas incluyendo esclerodermia, artritis, artritis juvenil, artritis gotosa y cirrosis hepática y afecciones tales como reestenosis, arteriosclerosis y retinopatía diabética proliferativa.

I.A. Marcadores de células iniciadoras de tumores

30 Usando marcadores moleculares positivos y negativos pueden seleccionarse células iniciadoras de tumores. Un reactivo que se une a un marcador positivo para células iniciadoras de tumores (es decir, un marcador expresado por células iniciadoras de tumores a altos niveles en comparación con células no tumorigénicas o diferenciadas) puede usarse para la selección de células iniciadoras de tumores. Los marcadores positivos para células iniciadoras de tumores también pueden estar presentes en células cancerosas no tumorigénicas, es decir, células cancerosas distintas de células iniciadoras de tumores, pero a niveles reducidos. Los marcadores que se expresan a amplio nivel pueden mostrar un cambio medible en el nivel de expresión en las células iniciadoras de tumores y/o pueden proporcionar resolución de células iniciadoras de tumores cuando se usan en combinación con marcadores adicionales positivos o negativos. Puede usarse un reactivo que se una a un marcador negativo de células iniciadoras de tumores (es decir, un marcador no expresado o expresado a niveles mediblemente reducidos por células iniciadoras de tumores para la eliminación de aquellas células tumorales en la población que no sean células iniciadoras de tumores. Para la selección usando marcadores moleculares positivos y negativos, los marcadores útiles incluyen aquellos que se expresan sobre la superficie de la célula de modo que las células vivas se presten a clasificación y rastreo.

45 Cuando se evalúan niveles de expresión usando técnicas tales como inmunotransferencia, los marcadores positivos a células iniciadoras de tumores se expresan típicamente a una nivel que es al menos aproximadamente 2 veces mayor que el de las células diferenciadas del mismo origen o células no tumorigénicas, por ejemplo, al menos aproximadamente 4 veces mayor, o al menos aproximadamente 5 veces mayor, o al menos aproximadamente 8 veces mayor, o al menos aproximadamente 10 veces mayor, o al menos aproximadamente 15 veces mayor, o al menos aproximadamente 20 veces mayor, o al menos aproximadamente 50 veces mayor, o al menos aproximadamente 100 veces mayor. Cuando se evalúan los niveles de expresión usando citometría de flujo, los marcadores positivos a células iniciadoras de tumores se expresan típicamente a un nivel que es al menos aproximadamente 0,5 log mayor que las células diferenciadas del mismo origen o células no tumorigénicas, por ejemplo, al menos aproximadamente 1 log mayor, al menos aproximadamente 1,5 log mayor, al menos aproximadamente 2 log mayor, o al menos aproximadamente 3 log mayor. A la inversa, cuando se evalúan niveles de expresión usando técnicas tales como inmunotransferencia, los marcadores negativos a células iniciadoras de tumores se expresan típicamente a un nivel que es al menos aproximadamente 2 veces menor que el de las células diferenciadas del mismo origen o células no tumorigénicas, por ejemplo, al menos aproximadamente 4 veces menor, o al menos aproximadamente 8 veces menor, o al menos aproximadamente 10 veces, o al menos aproximadamente 15 veces menor, o al menos aproximadamente 20 veces menor, o al menos aproximadamente 50 veces menor, o al menos aproximadamente 100 veces menor. Cuando se evalúan niveles de expresión utilizando citometría de flujo, los marcadores negativos a células iniciadoras de tumores se expresan típicamente a un nivel que es al menos aproximadamente 0,5 log menos que en las células diferenciadas del mismo origen o células no tumorigénicas, por ejemplo, al menos aproximadamente 1 log inferior, al menos aproximadamente 1,5 log inferior, al menos

aproximadamente 2 log inferior o al menos aproximadamente 3 log inferior.

En el presente documento se desvelan marcadores 5T4, CD44 y CD24 que pueden usarse en solitario o en combinación para la identificación prospectiva y aislamiento de células iniciadoras de tumores pulmonares. La expresión de 5T4 y CD44 son marcadores positivos, mientras que la expresión de CD24, es un marcador negativo. Por tanto, las células iniciadoras de tumores de la invención incluyen aquellas que expresan altos niveles de 5T4 (5T4^{alto}), niveles de moderado a alto de CD44 (CD44⁺), y/o escasa expresión o sin expresión de CD24 (CD24^{-bajo}).

El antígeno oncofetal 5T4 es una glucoproteína transmembrana altamente glucosilada de 72 kDa que comprende un núcleo no glucosilado de 42 kDa (Hole y col., Br. J. Cancer, 1988, 57: 239-46; Hole y col., Int. J. Cancer, 1990, 45: 179-84; Publicación Internacional PCT N° WO89/07947; Patente de Estados Unidos N° 5.869.053). El 5T4 humano se expresa en numerosos tipos de cánceres incluyendo carcinomas de la vejiga, de mama, de cuello uterino, endometrio, pulmón, esófago, ovario, páncreas, estómago y testículos y sustancialmente está ausente en tejidos normales, excepto en sincitiotrofoblastos placentarios (véase, por ejemplo Southall y col., Br. J. Cancer, 1990, 61: 89-95 (distribución inmunohistológica del antígeno 5T4 en tejidos normales y malignos); Mieke y col., Clin. Cancer Res., 1997, 3: 1923-1930 (expresión de la molécula de adhesión intercelular 1 baja y 5T4 alta en células tumorales se correlaciona con una supervivencia libre de enfermedad reducida en pacientes con carcinoma colorrectal); Starzynska y col. Br. J. Cancer 1994, 69: 899-902 (significación del pronóstico de la expresión del antígeno oncofetal 5T4 en carcinoma colorrectal); Starzynska y col., Br. J. Cancer, 1992, 66: 867-869 (la expresión del antígeno 5T4 en carcinoma colorrectal y gástrico); Jones y col., Br. J. Cancer, 1990, 61: 96-100 (expresión de antígeno 5T4 en cáncer de cuello uterino); Connor y Stern, Int. J. Cancer, 1990, 46: 1029-1034 (pérdida de expresión de MHC de clase I en carcinomas de cuello uterino); Ali y col., Oral Oncology, 2001, 37: 57-64 (modelo de expresión del antígeno oncofetal 5T4 en mucosa oral normal, displásica y maligna); Publicación Internacional PCT N° WO89/0794; Patente de Estados Unidos N° 5.869.053). Por ejemplo, los tejidos indicados que no tienen expresión de 5T4 incluyen el hígado, piel, bazo, timo, sistema nervioso central (SNC), glándula adrenal, y ovarios. Los tejidos que se indica que tienen expresión focal o baja de 5T4 incluyen el hígado, piel, bazo, ganglios linfáticos, amígdala, tiroides, próstata y vesículas seminales. La expresión difusa de débil a moderada de 5T4 se ha descrito en el riñón, pulmón, páncreas, faringe y tracto gastrointestinal. El único tejido indicado que tiene alta expresión de 5T4 es el sincitiotrofoblasto, y 5T4 también está ausente en suero normal o en el suero de mujeres en gestación (es decir, niveles < 10 ng/ml). La sobreexpresión de 5T4 en tumores se ha correlacionado con una progresión de la enfermedad, y la valoración de la expresión de 5T4 se ha sugerido como un enfoque útil para identificar pacientes con un mal pronóstico. Véase, por ejemplo, Mulder y col., Clin. Cancer Res., 1997, 3: 1923-1930; Naganuma y col., Anticancer Res., 200, 22: 1033-1038; Starzynska y col., Br. J. Cancer, 1994, 69: 899-902; Starzynska y col., Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 1998, 10: 479-484; Wrigley y col., Int. J. Gynecol. Cancer, 1995, 5: 269-274.

CD44 es una glucoproteína transmembrana que participa en la metástasis del cáncer modulando la adhesión celular, motilidad, degradación de la matriz, proliferación y/o supervivencia celular. Véase, por ejemplo Marhaba y Zoller, J. Mol. Histol., 2004, 35(3): 211-231. El antígeno CD24 es un marcador de glucoproteína de la superficie celular de diferenciación que se usa como un marcador negativo, es decir, las células iniciadoras de tumores presentan una escasa o ninguna expresión CD24 (CD24^{-bajo}). En solitario o en combinación, las células que expresan CD44 y CD24^{-bajo} se han usado para identificar células iniciadoras de tumores en muchos tipos de tumores, incluyendo tumores de mama, colon, cabeza y cuello y páncreas. Véase por ejemplo, Al-Hajj y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003, 100: 3983-3988; Yu y col., Cell, 2007, 131: 1109-1123; Dalerba y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007, 104: 10158-10163; Prince y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007, 104: 973-978; y Li y col., Cancer Res., 2007, 67: 1030-1037.

Además de los marcadores 5T4 y CD44⁺ descritos en el presente documento, otros posibles marcadores positivos a células iniciadoras de tumores en cáncer de pulmón incluyen SLUG, fibronectina (FN1) y vimentina (VIM) (véase Figura 7C); factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A), factor de crecimiento endotelial vascular B (VEGF-B); factor de crecimiento endotelial vascular C (VEGF-C); factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), y factor de crecimiento similar a insulina I (PIGF) (véase Figura 7F); CD133 (véase Eramo y col., Cell Death Differ., 2008, 15: 504-514); y CD117 (Donnenberg y col., J. Control Release, 2007, 122(3): 385-391). Como posibles marcadores positivos de células iniciadoras de tumores representativos adicionales en cáncer de pulmón se incluye el receptor de tipo III del factor β de crecimiento transformante (TGF β RIII), el receptor de netrina UNC5D (Unc5D), la proteína 4 que contiene el dominio fosfolipasa similar a patatina (PNPLA4), canal 2 rectificador interno de potasio (KCNJ2), receptor A del ácido gamma-aminobutírico (GABA), beta 3 (GABRB3), dihidropirimidin deshidrogenasa (DPYD), antígeno 1 asociado a esperma (SPAG1), célula intestinal quinasa (de tipo MAK) (ICK), estañocalcina 2 (STC2), defensina β 1 (Def β 1) y FLJ38736. Véase el Ejemplo 5.

Otros marcadores de células iniciadoras de tumores positivos adicionales incluyen CD133 (Bao y col., Nature, 2006, 444: 756-760; O'Brien y col., Nature, 2007, 445: 106-110; Ricci-Vitiani y col., Nature, 2007, 445: 111-115; y Hermann y col., Cell Stem Cell, 2007, 1: 313-323), ALDH1 (Yu y col., Cell 2007, 131: 1109-1123), EpCAM^{alto} (Dalerba y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2007, 104: 10158-10163); antígeno específico epitelial (ESA, Li y col., Cancer Res., 2007, 67: 1030-1037); CD90 (Li y col., Cancer Res., 2007, 67: 1030-1037); ABCG5 (Schatton y col., Nature, 2008, 451: 345-349); ABCG2 (Patrawala y col., Cancer Res., 2005, 65(14): 6207-6219; Kondo y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2004, 101(3): 781-786); receptor 1 de VEGF (VEGFR-1), VEGFR-2, VEGFR-3 y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (véase Figura 7F y Andersen y col., J. Thorac. Oncol., 2009, [Epub antes de la

impresión]); enolasa específica de neuronas (NSE), fragmento de citoqueratina 19 (CYFRA), antígeno Carcinoembrionario (CEA), antígeno de carcinoma de células escamosas (SCC), CA 125, CA 15.3 y TAG-72.3 (véase Molina y col., *Tumour Biol.*, 2008, 29(6): 371-380); VLA-2, T débil (inductor débil de apoptosis similar a TNF), EphB2, EphB3, Sca-1 humano (BIG1), CD34, β 1 integrina (CD29), CD150, CXCR4 y miembros de conjuntos de genes que se correlacionan inversamente con cultivos primarios diferenciados como se expone en las Tablas 1 y 2. Véase Ejemplos 3 y 5.

Marcadores que pueden usarse para la selección de células iniciadoras de tumores basándose en expresión baja o negativa incluyen cualquier gen expresado en células diferenciadas o no tumorigénicas. Se conocen numerosas moléculas de este tipo en la técnica. Además del marcador CD24^{-bajo} descrito en el presente documento, marcadores negativos de células iniciadoras de tumores de cáncer pulmonar incluyen MUC1/CD227 y citoqueratina 4 (KRT4) (véase Figura 7C y Kuemmel y col., *Lung Cancer*, 2009, 63(1): 98-105). Aún más marcadores útiles para aislar o enriquecer células iniciadoras de tumores de cáncer de pulmón incluyen CEA, SLX, CYFRA, SCC, péptido liberador de progastrina (ProGRP). Véase, Komagata y Yoneda, *Gan To Kagaku Ryoho*, 2004, 31(10); 1609-1613. Los marcadores representativos adicionales que pueden usarse para la selección de células iniciadoras de tumores basándose en la expresión baja o negativa incluyen miembros de conjuntos de genes que se correlacionan con cultivos primarios diferenciados como se expone en las Tablas 1 y 2. Véase Ejemplos 3 y 5.

Los marcadores indicados anteriormente también pueden usarse para identificación de células iniciadoras de tumores en cánceres distintos de cáncer de pulmón.

En el caso de cáncer de colon o colorrectal u otros cánceres, los marcadores positivos adicionales que pueden ser útiles para la identificación de células iniciadoras de tumores incluyen la proteína reguladora del receptor F2 de prostaglandina (PTGFRN), CD166 (o molécula de adhesión leucocitaria activada, ALCAM), CD164, CD82, receptor 1 beta del factor de crecimiento de transformación (TGFBR1), MET, efrina-B2 (EFNB2), integrina alfa 6 (ITGA6: CD49f), factor 1 de crecimiento derivado de teratocarcinoma (TDGFI), factor de crecimiento similar a EGF de unión a heparina (HBEGF), transportador de la familia ABC ABCC4, transportador de la familia ABC ABCD3, gen 2 expresado diferencialmente en tumores (TDE2), integrina beta 1 (ITGB1), subfamilia 21 de receptores de factor de necrosis tumoral (TNFRSF21), CD81 y CD9 (miembros de la superfamilia transmembrana 4 (TM4SF o tetraspaninas)), KIAA1324, molécula de adhesión celular relacionada con antígeno carcinoembrionario 6 (CEACAM6), FZD6 y FZD7 (receptores Wnt), BMPR1A, JAG1, alfa integrina V (ITGAV), NOTCH2, SOX4, HES1, HES6, homólogo 1 atonal (ATOH1), E-cadherina (CDH1), receptor Eph B2 (EPHB2), homólogo del oncogén viral de la mieloblastosis v-myb (MYB), MYC, SOX9, PCGF1, PCGF4, PCGF5, ALDH1A1 y STRAP. Un marcador adicional negativo útil para identificación de células iniciadoras de tumores en cáncer de colon o colorrectal es el factor de linfocitos T 4 (TCF4). Véase por ejemplo la Publicación Internacional PCT N° WO 07/053648.

En un aspecto particular de la invención, una población de células iniciadoras de tumores aislados comprende una mayoría de células que expresan 5T4 a un nivel que es al menos aproximadamente 2 veces mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen. Las células iniciadoras de tumores también pueden expresar 5T4 a un nivel que es al menos aproximadamente 4 veces mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen, por ejemplo, al menos aproximadamente 5 veces mayor, o al menos aproximadamente 8 veces mayor, o al menos aproximadamente 10 veces mayor, o al menos aproximadamente 15 veces mayor, o al menos aproximadamente 20 veces mayor, o al menos aproximadamente 50 veces mayor, o al menos aproximadamente 100 veces mayor. Cuando se evalúa la expresión de 5T4 usando citometría de flujo, las células iniciadoras de tumor también pueden expresar 5T4 a un nivel que es al menos aproximadamente 0,5 log mayor que células no tumorigénicas del mismo origen, por ejemplo al menos aproximadamente 1 log mayor, o al menos aproximadamente 1,5 log mayor, o al menos aproximadamente 2 log mayor, o al menos aproximadamente 3 log mayor.

En otro aspecto de la invención, la población de células iniciadoras de tumores comprende una mayoría de células que expresan CD24 a un nivel que es al menos aproximadamente 2 veces menor que las células no tumorigénicas CD24⁺ del mismo origen. Las células iniciadoras de tumores también pueden expresar CD24 a un nivel que es al menos aproximadamente 4 veces menor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen, por ejemplo, al menos aproximadamente 5 veces inferior, o al menos aproximadamente 8 veces inferior, o al menos aproximadamente 10 veces inferior, o al menos aproximadamente 15 veces inferior, o al menos aproximadamente 20 veces inferior, o al menos aproximadamente 50 veces inferior, o al menos aproximadamente 100 veces inferior. Cuando la expresión de CD24 se evalúa usando citometría de flujo, las células iniciadoras de tumores también pueden expresar CD24 a un nivel que es al menos aproximadamente 0,5 log menor que células no tumorigénicas CD24⁺ del mismo origen, por ejemplo, al menos aproximadamente 1 log inferior, o al menos aproximadamente 1,5 log inferior, o al menos aproximadamente 2 log inferior, o al menos aproximadamente 3 log inferior.

La población de células iniciadoras de tumores también puede comprender una mayoría de células que expresen CD44 a un nivel que sea al menos aproximadamente 2 veces mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen. Las células iniciadoras de tumores también pueden expresar CD44 a un nivel que es al menos aproximadamente 4 veces mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen, por ejemplo, al menos aproximadamente 5 veces mayor, o al menos aproximadamente 8 veces mayor, o al menos aproximadamente 10 veces mayor, o al menos aproximadamente 15 veces mayor, o al menos aproximadamente 20 veces mayor, o al menos aproximadamente 50 veces mayor, o al menos aproximadamente 100 veces mayor. Cuando la expresión de

CD44 se evalúa usando citometría de flujo, las células iniciadoras de tumores también pueden expresar CD44 a un nivel que es al menos aproximadamente 0,5 log mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen, por ejemplo al menos aproximadamente 1 log mayor, o al menos aproximadamente 1,5 log mayor, o al menos aproximadamente 2 log mayor, o al menos aproximadamente 3 log mayor.

5 Una población de células iniciadoras de tumores aislada se elimina de su entorno natural (tal como en un tumor sólido) y es al menos aproximadamente 75% libre de otras células con las que está presente naturalmente, pero que carecen del marcador basándose en qué células se aislaron. Por ejemplo, las poblaciones de células iniciadoras de tumores aisladas como se desvela en el presente documento están al menos aproximadamente un 90% o al menos aproximadamente un 95% libres de células no tumorigénicas. Cuando se hace referencia a una población de células
10 iniciadoras de tumores que se describe como un porcentaje de pureza, o un porcentaje libre de células no tumorigénicas, la subpoblación de células madre y población de células de cáncer total se cuantifica típicamente como células vivas.

15 Una población enriquecida de células puede definirse basándose en el número aumentado de células que tienen un marcador particular en una población de células iniciadoras de tumores fraccionada en comparación con el número de células que tienen el marcador en la población de células cancerosas no fraccionada. También puede definirse basándose en la función tumorigénica como el número mínimo de células que forman tumores a una frecuencia de dilución limitante. Una población de células iniciadoras de tumores enriquecida puede enriquecerse aproximadamente 2 veces en el número de células madre en comparación con la población de células tumorales no fraccionada o enriquecerse aproximadamente 5 veces o más, tal como enriquecerse aproximadamente 10 veces o
20 más, o enriquecerse aproximadamente 25 veces o más, o enriquecerse aproximadamente 50 veces o más, o enriquecerse aproximadamente 100 veces o más. El enriquecimiento puede medirse con el uso de una cualquiera de las propiedades de células iniciadoras de tumores indicadas en el presente documento anteriormente, por ejemplo, niveles de expresión del marcador o tumorigenicidad.

25 La presente invención proporciona procedimientos para el aislamiento de las poblaciones de células iniciadoras de tumores desveladas. Por ejemplo, el procedimiento puede comprender (a) proporcionar células tumorales disociadas; (b) poner en contacto las células tumorales disociadas con un agente que se una específicamente a 5T4; (c) seleccionar células que se unan específicamente al agente de (b) a un nivel que sea al menos aproximadamente 5 veces mayor que el de las células que bien no exprese 5T4 o exprese 5T4 a un nivel bajo. El procedimiento también puede comprender una selección adicional basándose en cualquiera de los marcadores de células
30 iniciadoras de tumor positivos o negativos desvelados en el presente documento o de otra manera conocidos en la técnica. Cuando la selección se realiza usando un marcador negativo, por ejemplo, excluyendo células que expresen uno o más marcadores negativos, las células iniciadoras de tumores pueden identificarse como células que presentan una expresión reducida del marcador en comparación con las células diferenciadas o células no tumorigénicas. Procedimientos representativos para el aislamiento o enriquecimiento de poblaciones de células
35 iniciadoras de tumores 5T4^{alto}, CD24^{-bajo} y/o CD44⁺ se describen en los Ejemplos 1-4.

40 Las células iniciadoras de tumores pueden aislarse o enriquecerse mediante cualquier medio adecuado conocido en la técnica, incluyendo FACS usando un reactivo de unión a un marcador conjugado con fluorocromo y un cultivo primario usando condiciones asépticas. Dentro del ámbito de la invención también se encuentra cualquier otro procedimiento adecuado que incluya la adhesión a y la separación de fase sólida. Los procedimientos para la
45 separación pueden incluir separación magnética, usando perlas magnéticas revestidas con anticuerpo, cromatografía de afinidad y selección con anticuerpos adheridos a una matriz sólida, por ejemplo, una placa u otro soporte conveniente. Las técnicas que proporcionan una separación precisa incluyen separaciones de células activadas por fluorescencia, que pueden tener diversos grados de sofisticación, tal como canales de color múltiple, canales detectores de dispersión de luz obtusa y de ángulo bajo, canales de impedancia, etc. Las células muertas pueden eliminarse por selección con colorantes que se unen a células muertas (tal como yoduro de propidio (PI), o 7-AAD). Puede emplearse cualquier técnica que no sea indebidamente perjudicial para la viabilidad de las células seleccionadas.

I.B. Propiedades funcionales de células iniciadoras de tumores

50 Como se describe en el presente documento, las células iniciadoras de tumores de la invención son tumorigénicas *in vitro* e *in vivo*, tienen características de células tumorigénicas tales como clonogenicidad y una elevada naturaleza proliferativa. Se identificaron subpoblaciones de líneas celulares de tumor de pulmón que expresan 5T4^{alto}, CD44⁺, y/o CD24^{-bajo} y que están significativamente enriquecidas para formación de colonias y proliferación. Véanse Ejemplos 1-4. La inyección de células iniciadoras de tumores en un animal huésped regularmente da como resultado el establecimiento satisfactorio de tumores en más del 75% de las veces, tal como más del 80% de las veces, o más
55 del 85%, o más del 90%, o más del 95% de las veces o el 100% de las veces.

60 Las células madre cancerosas de la invención dan lugar a tumores con el mismo estado de diferenciación del tumor de origen. Por ejemplo, células iniciadoras de tumores aisladas de tumores mal y moderadamente diferenciados dan lugar a tumores mal y moderadamente diferenciados *in vivo*, respectivamente. El perfil molecular de los tumores resultantes es también similar al tumor del origen, a pesar de la previa selección de células iniciadoras de tumores. Por tanto, las células iniciadoras de tumores muestran una capacidad de diferenciarse o dan lugar a células no

tumorigénicas que constituyen la mayoría de las poblaciones cancerosas maduras.

Las células iniciadoras de tumores de la invención tienen una capacidad de autorrenovación, demostrado por la capacidad de las células CD44⁺ 5T4^{alto} y/o CD24^{-bajo} pero no células CD44⁺ 5T4^{bajo} y/o CD24^{+alto} para formar tumores regularmente. Esta característica permite que las células iniciadoras de tumores conserven multipotencia y un alto potencial proliferativo a lo largo de divisiones celulares repetidas.

Las células iniciadoras de tumores de la invención pueden migrar, como se demuestra por la capacidad de las células CD44⁺ 5T4^{alto} y/o CD24^{-bajo} de migrar. En un ensayo transpocillo, las células CD44⁺ 5T4^{alto} y/o CD24^{-bajo} migraron de una manera dependiente del suero más eficazmente en comparación con las células CD44⁺ 5T4^{bajo} y/o CD24^{+alto}. En otro ensayo, esteroides de células CD44⁺ 5T4^{alto} y/o CD24^{-bajo} migraron a través de portaobjetos revestidos con fibronectina, pero se observó escasa o ninguna migración de células en esferoides de células CD44⁺ 5T4^{bajo} y/o CD24^{+alto} después de veinticuatro horas.

II. Aplicaciones

Las poblaciones de células iniciadoras de tumores desveladas en el presente documento son útiles para estudiar los efectos de agentes terapéuticos sobre el crecimiento tumoral, reincidencia y metástasis. Cuando se aislaron de un paciente con cáncer, la eficacia de terapias particulares puede ensayarse y/o predecirse basándose en el perfil genético y molecular único de la población aislada. Por tanto, las poblaciones de células iniciadoras de tumores desveladas proporcionan medios para desarrollar terapias personalizadas contra el cáncer.

En un aspecto de la invención, las características genéticas y moleculares de las células iniciadoras de tumores se describen para identificar moléculas diana y/o rutas de señalización. Por consiguiente, la presente invención también proporciona matrices o micromatrices que contienen una fase sólida, por ejemplo, una superficie, a la cual se unen, bien directa o indirectamente, células iniciadoras de tumores (poblaciones enriquecidas de o aisladas), polinucleótidos extraídos de células iniciadoras de tumores, o proteínas extraídas de las células iniciadoras de tumores. Pueden generarse anticuerpos monoclonales y policlonales que se suscitan contra las poblaciones de células iniciadoras de tumores desveladas usando técnicas convencionales. La identificación de moléculas diana de células iniciadoras de tumores y agentes que se unen específicamente a células iniciadoras de tumores, complementarán y mejorarán estrategias actuales que dirigen la mayoría de las células no tumorigénicas.

También pueden sondarse micromatrices de ADN genómico de células iniciadoras de tumores para polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) para localizar los sitios de mutaciones genéticas que producen las células para hacerse precancerosas o tumorigénicas. El perfil genético y/o molecular de las células iniciadoras de tumores también puede usarse en pronóstico de pacientes. Véase, por ejemplo Glinsky y col., J. Clin. Invest., 2005, 115(6): 1503-1521, que describe una característica exclusiva de muerte por cáncer predictiva de fracaso de terapia.

En otro aspecto de la invención, la eficacia de fármacos contra el cáncer o fármacos candidatos contra el cáncer puede ensayarse poniendo en contacto células iniciadoras de tumores aisladas con un compuesto de ensayo y después ensayándolas para detectar un cambio en las propiedades de las células iniciadoras de tumores como se describe en el presente documento. Por ejemplo, las composiciones terapéuticas pueden aplicarse en células iniciadoras de tumores en cultivo a diversas dosificaciones, y la respuesta de estas células se controla durante diversos periodos de tiempo. Las características físicas de estas células pueden analizarse observando las células al microscopio. La expresión inducida o de otra manera alterada de los ácidos nucleicos y proteínas puede ensayarse como se conoce en la técnica, por ejemplo, usando técnicas de hibridación y de amplificación con Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para ensayar niveles de ácidos nucleicos, inmunohistoquímica, ensayos enzimáticos, ensayos de unión a receptores, ensayos de inmunoabsorbancia ligados a enzimas (ELISA), análisis electroforéticos, análisis con cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), transferencias de Western, radioinmunoensayos (RIA), separación de células activadas por fluorescencia (FAC), etc.

La capacidad de los compuestos terapéuticos para inhibir o disminuir el potencial tumorigénico de las células iniciadoras de tumores puede ensayarse poniendo en contacto las células iniciadoras de tumores y un compuesto de ensayo, permitiendo un periodo de tiempo suficiente para que se realice la respuesta y después sometiendo a ensayo el crecimiento de las células iniciadoras de tumores *in vitro*. Después de la exposición al compuesto de ensayo, las células iniciadoras de tumores pueden como alternativa trasplantarse en un animal hospedador (es decir, preparación de un modelo de xenoinjerto, que después se controla para el crecimiento tumoral, apoptosis de células cancerosas, supervivencia animal, etc.). En otro formato de exploración adicional, los compuestos de ensayo se administran a un animal huésped con xenoinjerto (es decir, un animal portador de células iniciadoras de tumores y/o un tumor resultante). Fenotipos adicionales que pueden ensayarse incluyen viabilidad, tasa de proliferación, capacidad regeneradora y distribución del ciclo celular de las células iniciadoras de tumores o células cancerosas no tumorigénicas resultantes, o cualquier otro fenotipo relevante con respecto al resultado terapéutico.

Los compuestos de ensayo incluyen fármacos y fármacos candidatos conocidos, por ejemplo, virus, proteínas, péptidos, aminoácidos, lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, anticuerpos, profármacos, moléculas pequeñas (por ejemplo, compuesto químicos) o cualquier otra sustancia que pueda tener un efecto sobre las células tumorales tanto si dicho efecto es nocivo, beneficioso o de otra manera. Los compuestos de ensayo incluyen, pero sin

limitación, 2' 2"-trichlorotrietilamina, 2-etilhidrazida, 2-pirrolin-doxorrubicina, 5-FU (5-fluorouracilo), 6-azauridina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, 6-mercaptapurina, 6-tioguanina, una camptotecina, una sarcodictina, ABRAXANE[®], ABT-510 (Laboratorios Abbott), aceglatona, acetogeninas, aclacinomisinas, actinomicina, ADRIAMYCIN[®], AG1478, AG1571 (SU 5271; Sugen), aldofosfamida glucósido, altretamina, aminoglutetimida, ácido aminolevulínico, aminopterina, amsacrina, ancitabina, andrógenos, Angiostatina (EntreMed), Angizima (AstraZeneca), anguidina, antimetabolitos, arabinosida ("Ara-C"), autramicina, azacitidina, azaserina, aciridinas, benzodopa, bestrabucilo, bevacizumab, bevacizumab (AVASTIN[®] Genentech), bexaroteno, bisantreno, bleomicina, BMS-275291 (Bristol Myers Squibb), Bortezomib (VELCADE[®] Millenium Pharm.), briostatina, busulfán, cactinomicina, calistatina, calusterona, capecitabina, carabicina, carboplatino, carbocuaona, carminomicina, carmofur, carmustina, carcinofilina, CC-1065, clorambucilo, cloranbucilo, clornafacina, clorozotocina, colofosfamida, cromomicinas, cisplatino, Combrestatina (Oxigene), CPT-11, criptoficinas, cianomorfolino-doxorrubicina, inhibidores de ciclooxigenasa-2 (COX-2), exisulind, ciclofosfamida, ciclosfosfamida, citarabina, CYTOXAN[®], dacarbacina, dactinomicina, daunomicina, daunorrubicina, defofamina, demecolcina, desoxidoxorrubicina, detorrubicih, diacuona, didesoxiuridina, difluorometilomitina (DMFO), docetaxel, dolastatina, doxilfluridina, doxorubicina, dromostanolona propionato, duocarmicina, edatraxato, edatrexato, eleuterobina, elformitina, acetato de elliptinio, antibióticos de enediina, eniluracilo, enocitabina, epirubicina, epitostanol, erlotinib (tarceva), Erlotinib (TARCEVA[®] Genentech/OSI Pharm.), esorrubicina, estramustina, etileniminas, etoglucid, etopósido, etopósido (VP-16), floxuridina, fludarabina, análogos del ácido fólico tales como denopterina, reabastecedor de ácido fólico tal como ácido frolínico, fotemustina, Francia), Fulvestrant (FASLODEX[®] AstraZeneca), gacitosina, nitrato de galio, Gefitinib (IRESSA[®] AstraZeneca), GEMZAR[®] (gemcitabina), hidroxiiurea, ibandronato, idarrubicina, ifosfamida, mesilato de Imatinib (GLEEVEC[®] Novartis), improfulfán y piposulfán, irinotecán, Lapatinib (GSK572016), lentinan, Letrozol (FEMARA[®] Novartis), Leucovorina, lomustina, Lonafarnib (SCH 66336), lonidainina, losoxantrona, manomustina, marcelomicina, marimastato (British Biotech), maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas, mecloretamina, clorhidrato del óxido de mecloretamina, melfalán, mepitiostano, mercaptopurina, metotrexato, metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU), metilamelaminas, meturedopa, mitobronitol, mitoguazona, mitolactol, mitomicina C, mitomicinas, mitotano, mitoxantrona, mopidanmol, morfolino-doxorrubicina, ácido micofenólico, MYLOTARG[®] (gemtuzumab ozogamicin, Wyeth), NAVELBINE[®] (vinorelbina), Neovastat (Aeterna Zentaris), nimustina, nitraerina, mostazas de nitrógeno, nogalamicina, novantrona, novembiquina, olivomicinas o vinorelbina, ELOXATIN[®] (Oxaliplatin Sanofi), paclitaxel, pancratistatina, pemetrexed disódico (ALIMTA[®], pentostatina, peplomicina, fenamet, fenesterina, pipobroman, pirarrubicina, ácido podofilínico, potfiromicina, prednimustina, procarbicina, inhibidores de proteasoma, pteropterina, PTK787/ZK 222584 (Novartis), puromicina, quelamicina, ranimustina, Rapamicina (Sirolimus, RAPAMUNE[®], Wyeth), razoxano, ácido retinoico, retinoides, rizoxina, rodorrubicina, roridina A, sizofurán, Sorafenib (BAY43 9006, Bayer), espirogermanio, espongiostatina, estreptonigrina, estreptozocina, SU5416, SU6668 (Sugen), Sunitinib (Pfizer), SUTENT[®] (SU11248 Pfizer), toxina T-2, TAXOL[®] (paclitaxel; Bristol-Myers Squibb), TAXOTERE[®] (doxetaxel; Rhone-Poulenc Rorer), temsirolimus (TORISEL[®], Wyeth), tenipósido, ácido tenuazónico, testolactona; antiadrenales, talidomida (Celgene), tiampirina, tioguanina, tiotepa, inhibidor de topoisomerasa RFS 2000, topotecán, triazicuona, tricotecenos, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida, trilostano, trimetilomelamina, trimetrexato, trofosfamida, tubercidina, ubenimex, mostaza de uracilo, uredopa, uretano, vacunas, VEGF-Trap (Regeneron Pharm), verracurin A, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, Vitaxin II (MedImmune) y Cilengitide (Merck KgaA), xeloda, ZD6474 (ZACTIMA[®] AstraZeneca), zinostatina, zorrubicina y sales, derivados de ácidos y conjugados de anticuerpos farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Para su uso en cualquiera de las aplicaciones indicadas anteriormente, u otras aplicaciones, las células iniciadoras de tumores de la invención pueden criopreservarse hasta que se necesiten para su uso. Por ejemplo, las células pueden suspenderse en una solución isotónica, preferentemente un medio de cultivo celular, que contenga un criopreservante particular. Dichos criopreservantes incluyen dimetil sulfóxido (DMSO), glicerol y similares. Estos criopreservantes se usan a una concentración de 5-15%, tal como 8-10%. Las células se congelan gradualmente a una temperatura de -10 °C a -150 °C, tal como de -20 °C a -100 °C, o a -150 °C.

Ejemplos

Se ha incluido los siguientes ejemplos para ilustrar modos de la invención. Determinados aspectos de los siguientes ejemplos se describen en términos de técnicas y procedimientos encontrados o contemplados por los coinventores de la presente invención para trabajar bien la realización práctica de la presente invención. Estos ejemplos ilustran prácticas de laboratorio convencionales de los coinventores. A la luz de la presente divulgación y de nivel general de experiencia en la técnica, los expertos apreciarán que los siguientes ejemplos pretenden ser únicamente ejemplares y que pueden realizarse numerosos cambios, modificaciones y alteraciones sin alejarse del ámbito de la invención.

55 Ejemplo 1

Aislamiento de células iniciadoras de tumores CD24^{-/bajo}CD44⁺

Usando líneas celulares de cáncer pulmonar no microcítico

Se obtuvieron células H460 de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) en Manassas, Virginia, Estados Unidos de América. La línea celular H460 derivó de fluido de la pleura de un paciente con un cáncer pulmonar de células grandes (Gazdar y col., Science, 1989, 246: 491-494). Las células HCC2429 se obtuvieron de J. Minna.

Véase Haruki y col., J. Med. Genet., 2005, 42(7): 558-64. Todos los experimentos con células H460T se realizaron con células entre 37-51 números de pases, ya que se observa que estas células tienen fenotipos más fuertes que células con menores pases. Las células con mayores pases se denominan H460T para diferenciarlas de las H460 de pase bajo que originalmente se obtuvieron de la ATCC. Todas las células se incubaron a 37 °C con dióxido de carbono (CO₂) al 5,0%. Las células H460T se cultivaron en RPMI~1640 (GIBCO[®], disponible de Invitrogen de Carlsbad, California, Estados Unidos). Véase Moore y col., JAMA, 1967, 199: 519-524, suero bovino fetal al 10% (FBS, GIBCO[®], disponible de Invitrogen de Carlsbad, California, Estados Unidos), glutamina adicional 2 mM, penicilina 100 UI/ml, estreptomina 100 µg/ml, piruvato sódico 1 mM, bicarbonato sódico 0,1%, glucosa adicional al 0,45%, y ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico (HEPES) 10 mM. Las células HCC2429 se cultivaron en RPMI-1640, FBS al 10%, glutamina adicional 2 mM, penicilina 100 UI/ml, estreptomina 100 µg/ml. El análisis de cariotipo y de repeticiones en tándem cortas (STR) de H460T confirmó su origen H460, sin embargo, no estaba presente el cromosoma Y en las células H460T y sí estaba presente en la mayoría de las células H460.

Para el análisis de citometría de flujo, las células se recogieron con GIBCO[®] TRYPLE™, se lavaron en Solución Salina Equilibrada con Hanks sin calcio y magnesio (HBSS) con suero de ternero termoinactivado al 3% (HICS), se incubaron con 100 µg/ml de DNasa, MgCl₂ 5 mM e inmunoglobulina humana (IgG) 50 µg/ml, se incubaron con anticuerpos o con controles de isotipo, se lavaron y se resuspendieron en HBSS con HICS al 3%, DNasa 25 µg/ml, MgCl₂ 1 mM y HEPES 25 mM. Los xenoinjertos se trocearon hasta una consistencia similar a una pasta, se incubaron en colagenasa/hialuronidasa (Stem Cell Technologies de Vancouver, Columbia Británica, Canadá) durante 1 hora con una mezcla frecuente en un baño con agua a 37 °C, y se filtró a través de un filtro de 40 micrómetros. La suspensión celular se trató con tampón de lisis de eritrocitos (Roche Diagnostics Corporation of Indianapolis, Indiana, Estados Unidos), seguido por ACCU-PREP[®] (Axis de Oslo, Noruega), ambos de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los anticuerpos monoclonales anti CD24 humano (N^o 555428) y CD44 (N^o 559942) se obtuvieron de BD Biosciences de San Jose, California, Estados Unidos). El clon del anticuerpo anti-5T4 H8 (Hole y Stern, Br. J. Cancer, 1988, 57(3): 239-46) se obtuvo de Oxford Biomedica de Oxford, Reino Unido.

El marcaje de la línea celular NSCLC H460T con anticuerpos anti-CD24 y anti-CD44 reveló distintas poblaciones con una distribución estable durante periodos largos en cultivo (Figura 1A). Cuando estas poblaciones se separaron por separación celular activada por fluorescencia y se implantaron subcutáneamente en ratones nu/nu inmunocomprometidos, las células CD44⁺ CD24^{-bajo} formaron rápidamente grandes tumores, mientras que las células CD44⁺ CD24^{alto} formaron lentamente pequeños tumores (p < 0,001; Figuras 1B-1C). Las células CD44⁺ CD24^{-bajo} también formaron tumores más grandes que la tercera población, CD24^{-bajo} CD44^{bajo} (p < 0,02; Figura 1 D). Estos estudios demostraron que CD24^{-bajo} y CD44⁺ estaban enriquecidos para un potencial tumorigénico en H460T.

Las células CD44⁺ CD24^{-bajo} se diferenciaron fenotípicamente de las células CD44⁺ CD24^{alto} en diversos ensayos adicionales. En primer lugar, las células CD44⁺ CD24^{-bajo} crecieron más rápidamente que las células CD44⁺ CD24^{alto} en cultivos tridimensionales como esferoides (p < 0,001; Figura 1E). No se detectó ninguna diferencia en la tasa de proliferación, perfil de ciclo celular, o tamaño celular entre las poblaciones en cultivos bidimensionales.

En segundo lugar, las poblaciones mostraron una respuesta diferencial con respecto al inhibidor de mTOR CCI-779, un análogo de rapamicina que fue recientemente aprobado para el tratamiento del carcinoma avanzado de células renales (Faivre y col., Nat. Rev. Drug Discov., 2006, 5: 671-688). Las células CD44⁺ CD24^{-bajo} eran de 5 a 10 veces más resistentes a CCI-779 que las células CD44⁺ CD24^{alto} (Figura 1 F). Por otro lado, las poblaciones respondieron del mismo modo a camptotecina, 5-fluoruracilo y radiación ionizante, lo que indicaba que la respuesta diferencial de CCI-779 era específica.

En tercer lugar, las células CD44⁺ CD24^{-bajo} migraron más eficazmente que las células CD44⁺ CD24^{alto}, como se muestra usando un ensayo de migración transpocillo y un ensayo de crecimiento de esferoides. Para realizar un ensayo de migración transpocillo, las células separadas se cultivaron durante una noche en medio de cultivo y después se privaron de suero durante 24 horas. Aproximadamente 500.000 células por pocillo se sembraron en placa en medio aséptico en transpocillos de 24 mm de diámetro de poro de 8,0 micrómetros. Los medios con o sin suero se añadieron a la cámara externa y las células se incubaron durante 16-18 horas. Las células se fijaron con formaldehído y se tiñeron con violeta de cristal. Las células se rasparon cuidadosamente de la cámara interna con puntas Q húmedas y secas de tal manera que las células que habían migrado a la cámara externa, pudieran contarse al microscopio. Se contaron ocho de diez campos por pocillo. Usando este ensayo, las células CD44⁺ CD24^{-bajo} migraron de una manera 2,5 veces más eficaz que las células CD44⁺ CD24^{alto} de una manera dependiente del suero (n=4; Figura 1G). Para realizar en ensayo de crecimiento de esferoides, se sembraron en placas 100.000 células separadas en 5 ml de medio de cultivo en discos de cultivo de células de poliestireno de 60 mm previamente revestidos con 5 ml de agar de calidad de cultivo tisular (0,7%) en medio de cultivo. Los discos se incubaron durante 5 días a 37 °C. Se seleccionaron los esferoides con un diámetro de 0,2 mm y se colocaron en portaobjetos revestidos con fibronectina (BD Biosciences). La migración de células en esferoides CD44⁺ CD24^{-bajo} a través de los portaobjetos revestidos con fibronectina fue evidente después de 24 horas y a momentos posteriores, pero no se observó ninguna o escasa migración de células en esferoides CD44⁺ CD24^{alto} (Figura 1H). No hubo diferencia en cuanto a la tasa de crecimiento de los esferoides durante el periodo de 3 días de este experimento.

Para determinar si la población iniciadora de tumores de H460T también poseía características similares a células

madre, células separadas se mantuvieron en cultivo se controlaron regularmente mediante citometría de flujo. Las células CD44⁺ CD24^{-bajo} siempre dieron lugar a una población significativa de células CD44⁺ CD24^{alto} evidente tan pronto como a los tres días después de la separación (Figura 2A). A diferencia, las células CD44⁺ CD24^{alto} permanecieron como CD44⁺ CD24^{alto} hasta el momento más tardío de dos meses después de la separación (Figura 2A). Estos resultados indicaron un fenotipo de multipotencia de las células iniciadoras de tumores. Para determinar si la transición observada se producía en el contexto de la línea parental, se cocultivaron poblaciones marcadas y no marcadas. Cuando células CD44⁺ CD24^{alto} se cocultivaron, las células CD44⁺ CD24^{-bajo} también fueron multipotentes (Figuras 3A-3C), lo que implicaba que el fenotipo multipotencia existía en el cultivo de H460T parental. También se observó multipotencia *in vivo*: xenoinjertos cultivados de células CD44⁺ CD24^{-bajo} típicamente contenían ~ el 50% de células CD24^{alto} (Figura 2B).

Se realizó análisis clonal para verificar que la multipotencia podría seguirse a un nivel celular sencillo. Colonias de células CD24^{-bajo}CD44⁺ o CD24^{alto}CD44⁺ se expandieron en líneas clonales. La mayoría (23/31) de los clones derivados de CD24^{-bajo}CD44⁺ contenían >10% de células CD24^{alto} ("clones de transición"), pero algunos (8/31) contenían <1% de células CD24^{alto} ("clones estables"). Todas (6/6) las líneas clonales derivadas de CD24^{alto}CD44⁺ contenían el 100% de células CD24^{alto} (Figura 2C). Coherente con los resultados anteriores de la línea parental separada, las células CD24^{-bajo}CD44⁺ separadas de todas las líneas clonales CD24^{-bajo}CD44⁺ eran altamente tumorigénicas, mientras que las líneas separadas CD24^{alto}CD44⁺ de todas las líneas clonales CD24^{alto}CD44⁺ ensayadas formaron tumores pequeños o no formaron tumores (Figura 2D).

Para ensayar si las células CD24^{alto}CD44⁺ mostraban potencial tumorigénico reducido en comparación con las células CD24^{-bajo}CD44⁺, líneas clonales de transición CD24^{-bajo}CD44⁺ se separaron en células CD24^{-bajo}CD44⁺ y CD24^{alto}CD44⁺ y las células separadas se implantaron en animales. En tres líneas clonales, las células CD24^{-bajo}CD44⁺ formaron grandes tumores en comparación con las células CD24^{alto}CD44⁺ ($p < 0,005$ en el clon 24N-4; $p = 0,01$ en el clon 24N-10; $p < 0,05$ en el clon 24N-25; Figura 2E). No se observó ninguna diferencia significativa en el resto de las tres líneas clonales. Por tanto las células CD24^{-bajo}CD44⁺ de H460T pueden dar lugar a menos células CD24^{alto}CD44⁺ tumorigénicas, funcionalmente distintas. Estos resultados demuestran la existencia de células iniciadoras de tumores multipotentes en H460T.

Se ensayaron otras líneas celulares NSCLC para evaluar la heterogeneidad con respecto a CD24 y CD44. La línea HCC2429 (Dang y col., J. Natl. Cancer Inst., 2000, 92, 1355-1357) contenía dos poblaciones CD24 distintas, CD24^{-bajo} y CD24^{alto} (Figuras 4A). Las células CD24^{-bajo} aisladas por FACS formaron tumores significativamente más grandes en comparación con las células CD24^{alto} ($p < 0,05$; Figura 4B). Además, las células CD24^{-bajo} dieron lugar a células CD24^{alto} en cultivo, mientras que las células CD24^{alto} permanecieron CD24^{alto} (Figura 4C).

Ejemplo 2

Identificación de células iniciadoras de tumores 5T4⁺

En líneas celulares de cáncer pulmonar no microcítico

Para identificar genes que pudiesen ser la base de las diferencias fenotípicas entre las células CD24^{-bajo}CD44⁺ y CD24^{alto}CD44⁺, se generaron perfiles de expresión de genes a partir de muestras por triplicado de poblaciones aisladas por FACS. Como se esperaba, los niveles de ARNm de CD24 fueron regularmente altos en células CD24^{alto}CD44⁺ y bajo en células CD24^{-bajo}CD44⁺ (Figura 5). Los niveles de 5T4 (también conocido como TPBG) fueron 4,5 veces más altos en células CD24^{-bajo}CD44⁺ en comparación con las células CD24^{alto}CD44⁺ (Figura 6A).

Para determinar la expresión 5T4 en condiciones de crecimiento y diferenciación, las células se recogieron a diversos momentos y los extractos de proteínas se sometieron a análisis de inmunotransferencia. Las células se lavaron con PBS y se lisaron en NP40 al 0,5% v/v en solución salina tamponada con Tris 25 mM pH 7,4 (TBS). Después de la estimación de las proteínas (Kit de Ensayo de Proteínas MICROBCA™, Pierce of Rockford, Illinois, Estados Unidos), los lisados se mezclaron con tampón de muestra de Laemmli no reductor (Biorad de Hercules, California, Estados Unidos) y 10 µg de las muestras se cargaron en cada pocillo de un gel de gradiente en poliacrilamida al 4-20% no reductor (NOVEX®, disponible de Invitrogen de Carlsbad, California, Estados Unidos). Las muestras se procesaron durante dos a tres horas a 125 voltios y se transfirieron a una membrana de PVDF (floruro de polivinilideno) mediante un sistema de transferencia de electroforesis Novex®. La membrana se bloqueó durante una noche con leche al 5% en Tween-20 en solución salina tamponada con Tris (TBST) con suero de cabra al 1%, se sondó con anticuerpo anti-5T4 H8 a 1 µg/ml en leche al 5% en TBST, se lavó y se sondó con anti-mulGg de cabra conjugado con HRP a una dilución de 1:5.000. Se usó el sistema de detección ECL (Amersham de Burlington, Massachusetts, Estados Unidos). El análisis de inmunotransferencia con un anticuerpo anti-5T4 mostró la expresión de la proteína 5T4 en células CD24^{-bajo}CD44⁺ pero no en células CD24^{alto}CD44⁺ (Figura 6B).

La inmunofluorescencia de H460T parental con anticuerpos anti-5T4 y anti-CD24 demostraron que las tinciones de 5T4 y CD24 eran exclusivas y que casi todas las células CD24^{-bajo}CD44⁺ también expresaban 5T4. 5T4 se expresó en todas las líneas clonales CD24^{-bajo}CD44⁺ descritas en el Ejemplo 1.

Para evaluar adicionalmente la expresión de 5T4 en líneas celulares tumorales, células separadas se trataron con

ácido retinoico todos en trans para inducir a diferenciación y después se sometieron al análisis de inmunotransferencia. Las células separadas se obtuvieron por FACS y $2,3 \times 10^5$ células de cada inmunofenotipo se sembraron en placas en discos de 6 pocillos en medio de cultivo completo. Después de 24 horas, el medio se retiró, las células se lavaron 2 veces con PBS y se realimentaron con medio de cultivo FBS al 0,5%. El medio se eliminó 24 horas después y se sustituyó por medio de crecimiento FBS al 0,5% complementado con control vehículo o ácido retinoico todos en trans $10 \mu\text{M}$ (Sigma of St. Louis, Misuri, Estados Unidos). Las células se cultivaron durante 72 horas, se lavaron en PBS y se lisaron directamente en 1x tampón Laemmli (Bio-Rad de Hercules, California, Estados Unidos) para análisis de transferencia western anti-5T4. La expresión de 5T4 se redujo drásticamente en las células $\text{CD24}^{\text{bajo}}\text{CD44}^{\text{+}}$ tratadas (Figura 6B), lo que indicaba que 5T4 estaba asociado con el estado no diferenciado de células cancerosas.

Ejemplo 3

Un modelo de diferenciación de células iniciadoras de tumores

En cultivos primarios de cáncer pulmonar no microcítico

Se establecieron cultivos asépticos primarios de muestras NSCLC recién resecadas. Las células se cultivaron en condiciones para promover la auto-renovación o se indujeron para diferenciarse por exposición a la interfaz aire-líquido en presencia de ácido retinoico. Se considera que la interfaz aire-líquido es un ambiente fisiológico para las células pulmonares y se ha usado para estudiar el desarrollo pulmonar fetal (Vaughan et al, Differentiation, 2006, 74: 141-148). Para inducir la diferenciación usando este modelo, se prepararon cultivos y se trataron de la siguiente manera. Se colocaron insertos de cultivo de células en suspensión PET $1 \mu\text{M}$ de Millicell (Millipore de Billerica, Massachusetts, Estados Unidos) dentro de discos de 6 pocillos. Las membranas se pre-humedecieron con solución salina tamponada con fosfato (PBS), 25×10^5 células primarias obtenidas de tejido tumoral 87426A1 se sembraron sobre cada inserto y se cargaron con medio BEBM. Después de 1-2 días, el medio se eliminó desde las cámaras superiores e inferiores, se aclaró con PBS y medio CNT-23 que contenía ácido retinoico 50 nM y CaCl_2 1 mM (Millipore de Billerica, Massachusetts, Estados Unidos) se añadió de nuevo a la cámara inferior dejando células expuestas al aire en la cámara superior. Los cultivos recogidos se alimentaron cada 2 días con medio reciente o se recogieron en momentos indicados en tampón RLT (QIAGEN de Valencia, California, Estados Unidos) para el aislamiento de ARN o TBS (solución salina tamponada con Tris)/NP40 al 0,5% (NP-40 de tipo Tergitol, Sigma-Aldrich de St. Louis, Missouri, Estados Unidos) para análisis de transferencia de Western anti-5T4. Para realizar el perfil de la expresión génica, se analizaron muestras de cultivo duplicadas juntas y debido a la muestra limitada, las muestras de diferenciación de los días 8, 16 y 24 se agruparon y se analizaron juntas. La formación de imágenes de células vivas reveló que los cultivos monocapa formaban eficazmente un epitelio tridimensional estratificado tras la exposición a la interfaz aire-líquido y ácido retinoico 50 nM durante 18 días (Figura 7A).

Para determinar la expresión de 5T4 en condiciones de cultivo y diferenciación, las células se recogieron a diversos momentos y los extractos de proteína se sometieron a análisis de inmunotransferencia como se describe en el Ejemplo 2. Los niveles de 5T4 fueron elevados en condiciones de cultivo y disminuyeron rápida y drásticamente después de la diferenciación (Figura 7B).

Para obtener una vista global de este modelo de diferenciación, el experimento se repitió y los perfiles de expresión de genes se generaron a partir de células en condiciones de cultivo y diferenciación. Véanse los Ejemplos 5 y 6. Coherente con los resultados anteriores, la expresión de 5T4 disminuyó y la expresión de CD24 aumentó durante la diferenciación (Figura 7C). Los perfiles de expresión de genes del cultivo primario en crecimiento y diferenciación también se compararon con los de las poblaciones $\text{H460T CD24}^{\text{bajo}}\text{CD44}^{\text{+}}$ y $\text{CD24}^{\text{alto}}\text{CD44}^{\text{+}}$ (véase Ejemplo 5). Una fracción significativa de los genes que se expresaron a altos niveles durante la diferenciación del cultivo primario también se expresaron a altos niveles en las células $\text{CD24}^{\text{alto}}\text{CD44}^{\text{+}}$ (FDR = 0,0015). Para una comparación estadística del conjunto de datos H460T y 87426, los primeros 250 genes regulados positivamente en el cultivo 87426 diferenciado se compararon con las poblaciones H460T. La Figura 7D muestra la diferencia de expresión para los genes que están por encima del nivel de fondo en el conjunto de datos H460T. El análisis estadístico produjo una tasa de descubrimientos falsos de 0,0015. Este análisis indica que estos sistemas experimentales tan diferentes son modelos fisiológicos de la jerarquía de diferenciación en NSCLC. Los datos de micro-matriz se confirmaron por citometría de flujo (Figuras 7E-7F).

Los perfiles de expresión también revelaron modelos llamativos de genes implicados en la transición epitelial/mesenquimal y angiogénesis. Los marcadores de transición epitelial/mesenquimal vimentina, fibronectina, Slug, y Twist se expresaron a altos niveles en condiciones de cultivo en comparación con el estado diferenciado (Figura 7C). Por otro lado, los marcadores epiteliales mucina y diversas citoqueratinas se expresaron a altos niveles durante la diferenciación en comparación con condiciones de cultivo (Figura 7C). Los factores de angiogénesis VEGF-A, -B, -C, PDGF-A y -C, y PIGF, se expresaron a niveles significativamente más altos en condiciones de cultivo en comparación con la diferenciación (Figura 7G).

Un meta análisis imparcial de los datos de expresión reveló diversas firmas de genes que cambiaban la expresión de manera significativa durante la diferenciación (Tabla 1). Conjuntos de genes con una mayor expresión en células no diferenciadas incluyó firmas de un mal pronóstico clínico, células madre, señalización oncogénica y señalización de

desarrollo. Conjuntos de genes con una expresión más alta en células diferenciadas incluyeron firmas de mejores pronósticos clínicos, tumores diferenciados y células diferenciadas. En la Tabla 2 se presenta información de las bases de datos de firmas Moleculares del Instituto Broad usadas en este análisis, incluyendo un listado de genes (miembros) para cada uno de los conjuntos de genes identificados en la Tabla 1. Todas las NTK indicadas en la Tabla 1 tienen una tasa de descubrimientos falsos (FDR) $\leq 0,01$. Una NTK > 0 indica correspondencia directa con cultivo primario diferenciado. Una NTK < 0 indica correspondencia inversa con cultivo primario diferenciado.

TABLA 1

| Conjuntos de genes con cambios significativos durante la diferenciación de un cultivo asérico primario de NSCLC | |
|---|------------------|
| CONJUNTO DE GENES-NOMBRE CONVENCIONAL ¹ | NTK ² |
| Observaciones adicionales | |
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP | 3,816 |
| Incremento en HCC con una buena supervivencia | |
| LIZUKA_G1_GR_G2 | 3,844 |
| Enriquecido en pocillo frente a HCC moderadamente diferenciado | |
| IDX_TSA_UP_CLUSTER5 | 4,515 |
| Incremento durante diferenciación de 3T3-L1 en adipocitos | |
| ADIP_DIFF_UP | 4,384 |
| Incremento durante diferenciación de 3T3-L1 en adipocitos | |
| TISSUE_DEVELOPMENT | 4,182 |
| Término ontológico génico | |
| EPIDERMIS_DEVELOPMENT | 7,495 |
| Término ontológico génico | |
| MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM | 4,153 |
| Término ontológico génico | |
| KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION | 11,11 |
| Término ontológico génico | |
| ECTODERM_DEVELOPMENT | 6,949 |
| Término ontológico génico | |
| EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION | 6,661 |
| Término ontológico génico | |
| VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN | -5,368 |
| Genes de marcadores de pronóstico malo | |
| BRCA_PROGNOSIS_NEG | -4,922 |
| Mayor expresión asociada con un mal pronóstico | |
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN | -8,651 |
| Expresado en HCC con mala supervivencia | |
| LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN | -7,394 |
| Disminución en riñón fetal frente a tumor de Wilms | |
| HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER | -5,451 |
| Genes implicados en SCLC | |
| FLOTHO_CASP8AP2_MRD_DIFF | -4,529 |
| Asociado con enfermedad residual mínima en todas | |
| CANCER_NEOPLASTIC_META_UP | -4,754 |
| Meta-análisis: tumor relativo frente a tejido normal | |

ES 2 405 605 T3

(continuación)

| Conjuntos de genes con cambios significativos durante la diferenciación de un cultivo asérico primario de NSCLC CONJUNTO DE GENES-NOMBRE CONVENCIONAL ¹ | |
|---|------------------|
| Observaciones adicionales | NTK ² |
| CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP Meta-análisis: regulado positivo en cáncer no diferenciado | -7,089 |
| STEMCELL_COMMON_UP Enriquecido en ESC, HSC, NSC de ratón | -4,524 |
| BHATTACHARYA_ESC_UP Regulado positivamente en hESC no diferenciado | -4,198 |
| BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL | -4,33 |
| IDX_TSA_DN_CLUSTER2 Disminución durante la diferenciación de 3T3-L1 | -5,681 |
| ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN Disminuye durante la diferenciación de hMSC en adipocitos | -4,235 |
| CTNNB1_oncogenic_signature Células que expresan beta-catenina activada | -4,174 |
| WNT_TARGETS De bibliografía | -4,321 |
| TGFBETA_C4_UP Incremento por tratamiento de fibroblastos con TGFb | -7,326 |
| TGFBETA_EARLY_UP Aumento en fibroblastos dérmicos después de TGFb (precoz) | -4,085 |
| TGFBETA_ALL_UP Incremento por tratamiento de fibroblastos con TGFb, en cualquier momento | -6,334 |
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE Células que expresan H-ras | -8,879 |
| SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE Células que expresan c-Src | -3,904 |
| SCHUMACHER_MYC_UP Regulado positivamente por myc en linfocitos B P493-6 | -4,02 |
| IGF1_NIH3T3_UP Incremento después de tratamiento de NIH3T3-IGF1R con IGF1 | -4,25 |
| SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE A partir de una diversidad de líneas de fibroblastos humanos | -5,821 |
| SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP Incremento en suero en diversas líneas de fibroblastos humanos | -8,071 |
| CHANG_SERUM_RESPONSE_UP | -7,01 |
| OLDAGE_DN Disminución en fibroblastos de mayores con respecto a jóvenes | -4,00 |
| P21_P53_ANY_DN Expresión de p21 ectópica; cambios dependientes de p53; en cualquier momento | -6,411 |

(continuación)

| Conjuntos de genes con cambios significativos durante la diferenciación de un cultivo asérico primario de NSCLC CONJUNTO DE GENES-NOMBRE CONVENCIONAL ¹ | |
|---|------------------|
| Observaciones adicionales | NTK ² |
| P21_P53_EARLY_DN Expresión p21 ectópica; cambios dependientes de p53; momento precoz | -4,149 |
| P21_P53_MIDDLE_DN Expresión de p21 ectópica; cambios dependientes de p53; momento central | -4,743 |
| HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION | -8,649 |
| MENSE_HIPOXIA_UP Hipoxia inducida en HeLa y astrocitos | -8,337 |
| POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION Término ontológico génico | -5,054 |
| REGULATION_OF_CELL_MIGRATION | -4,391 |
| ¹ Nombre convencional en la base de datos de firmas moleculares del Instituto Broad. | |
| ² NTK, estadística t normalizada. | |

TABLA 2

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|------------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | C2:786 | Humano |
| LIZUKA_G1_GR_G2 | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | C2:786 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|------------------------------|--------------------------------------|------------|---------------------|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP | | ACESSO_SEC | c2 |
| LIZUKA_G1_GR_G2 | | ACESSO_SEC | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|------------------------------|---------------|---------------------------|--|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP | Yujin Hoshida | Instituto Broad | Genes altamente expresados en carcinoma hepatocelular con buena supervivencia. |
| LIZUKA_G1_GR_G2 | Yujin Hoshida | Instituto Broad | Genes altamente expresados en carcinoma hepatocelular bien diferenciado frente a moderadamente diferenciado. |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|------------------------------|--|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP | |
| LIZUKA_G1_GR_G2 | <p>AB - Usando micromatriz de oligonucleótidos de alta densidad se analizaron exhaustivamente los niveles de expresión de 12.600 genes en 50 muestras de carcinoma hepatocelular (HCC) con serología del virus de la hepatitis C positivo (VHC) (tumores bien (G1) moderadamente (G2) y mal (G3) diferenciados y 11 hígados no tumorosos (L1 y L0) con y sin infección por VHC. Se investigaron genes discriminatorios de transición (L0 frente L1, L1 frente G1, G1 frente G2, G2 frente G3) con un procedimiento de aprendizaje supervisado y después se ordenaron las muestras en un mapa de auto-organización (SOM) con el conjunto de genes discriminatorios. El SOM ordenó los cinco grupos en una sola curva sigmoideal en el orden L0 L1 G1 G2 y G3. La disposición de la muestra reprodujo las características relacionadas con el desarrollo de HCC tal como anomalía de p53. Notablemente los tumores G2 con invasión venosa se localizaron más cerca del grupo G1 y la mayoría de los tumores G2 con invasión venosa se localizaron más cerca del grupo G3 (P=0,001 por ensayo exacto de Fisher). Nuestros actuales datos de perfiles servirán como una base para entender la relación entre el desarrollo y la diferenciación de HCC.</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|------------------------------|---|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP | <p>DIO1, EPHX1, KHK, FIJ14664, F13B, SERPIND1, CES3, PRO0800, ACADS, HYAL1, HADH2, MST1, CYP4F11, ABCA6, FLJ22578, PKLR, SLC25A10, CABC1, DKFZp434F2, MGC35366, GLYAT, FLJ10851, RHBG, SLC27A5, INSR, VPREB1, MASP2, ALAS1, CGR11, RNF29, LOC162427, AQP9, BDH, FHR5, C1QTNF4, MUCDHL, CCL16, TIP120B, LOC339263, RODH, ABCG5, ALS2CR19, RBP5, NDRG2, BAAT, LOC94431, FTHFD, AOX1, HAGH, DGAT2L1, MTSS1, FLJ22195, LOC149703, TTBK1, SELENBP1, CIYP212, KLK3, MGC15419, AMFR, NF1, UGT1A6, WBSCR14, CRYL1, TTPA, F12, MRPL46, APOA5, LIAA0977, HPD, STARD10, RAB-R, LOC91614, GJB1, PNUTL2, KIAA0888, LOC155066, E2IG4, SERPINF1, C4BPB, ALDH4A1, FIJ10948, RGN, ECHS1, CUTL2, FIJ13941, LEAP-2, C20orf166, F10, CPN2, PC, LOC158402, LPIN1, LOC51204, HAO1, DSG1, NDUFS2, ZNF297, ZNF288, CPB2, APCS, ITPR2, ABHD6, AGL, FAFL6, FAFL2, NLG1, CDO1, UGT2B15, IL6R, MGC23940, SLC38A3, P8, NECAB2, SLC2A2, FIL34658, PCK1, SLC22A1L, CES1, FIJ12331, FLI14146, ABCG8, SERPING1, EHHADH, ANXA9, TRAG3, SALL1, ITIH1, MSRA, ZP3, RP1B9, DCXR, ASGR1, OTC, G6PC, APOC3, SERPINC1, LR8, MYRIP, ABCC2, PCCB, PRDX6, MAP4K1, ENPP5, CPT2, HGD, PRO0195, C2, PRKWNK3, FLJ10035, ACF, IVD, PIPOX, SDR1, PACE4, PLEKHE1, HSA250839, PINK1, FLJ20581, UGT2B4, CYP2D6, NX17, ACOX2, SEC14L2, ALTE, CES2, SPINK2, CABIN1, SULT2A1, SRD5A1, MPDZ, CYP3A4, AMT, PAH, KNG, SGPL1, RDH5, FMO3, SLC6A12, INSIG1, USH3A, FAFL1, PCYT2, WNT11, EGLN2, SLC35D1, FLJ30679, PPAP2A, AR, UNKL, MGC24039, MVK, CRAT, DPYS, AMACR</p> |
| LIZUKA_G1_GR_G2 | <p>M87434, M12963, W28281, M97936, L07633, AA883502, AB007447, Z99129, M97935, D50312, U07364, AI625844, AF061258</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|------------------------------|--|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP | DIO1, EPHX1, KHK, FIJ14664, F13B, SERPIND1, CES3, PRO0800, ACADS, HYAL1, HADH2, MST1, CYP4F11, ABCA6, FLJ22578, PKLR, SLC25A10, CABC1, DKFZp434F2, MGC35366, GLYAT, FLJ10851, RHBG, SLC27A5, INSR, VPRED1, MASP2, ALAS1, CGR11, RNF29, LOC162427, AQP9, BDH, FHR5, C1QTNF4, MUCDHL, CCL16, TIP120B, LOC339263, RODH, ABCG5, ALS2CR19, RBP5, NDRG2, BAAT, LOC94431, FTHFD, AOX1, HAGH, DGAT2L1, MTSS1, FLJ22195, LOC149703, TTBK1, SELENBP1, CIYP212, KLK3, MGC15419, AMFR, NF1, UGT1A6, WBSCR14, CRYL1, TTPA, F12, MRPL46, APOA5, LIAA0977, HPD, STARD10, RAB-R, LOC91614, GJB1, PNUYL2, KIAA0888, LOC155066, E2IG4, SERPINF1, C4BPB, ALDH4A1, FIJ10948, RGN, ECHS1, CUTL2, FIJ13941, LEAP-2, C20orf166, F10, CPN2, PC, LOC158402, LPIN1, LOC51204, HAO1, DSG1, NDUFS2, ZNF297, ZNF288, CPB2, APCS, ITPR2, ABHD6, AGL, FAFL6, FAFL2, NLG1, CDO1, UGT2B15, IL6R, MGC23940, SLC38A3, P8, NECAB2, SLC2A2, FIL34658, PCK1, SLC22A1L, CES1, FIJ12331, FLI14146, ABCG8, SERPING1, EHHADH, ANXA9, TRAG3, SALL1, ITIH1, MSRA, ZP3, RP1B9, DCXR, ASGR1, OTC, G6PC, APOC3, SERPINC1, LR8, MYRIP, ABCC2, PCCB, PRDX6, MAP4K1, ENPP5, CPT2, HGD, PRO0195, C2, PRKWNK3, FLJ10035, ACF, IVD, PIPOX, SDR1, PACE4, PLEKHE1, HSA250839, PINK1, FLJ20581, UGT2B4, CYP2D6, NX17, ACOX2, SEC14L2, ALTE, CES2, SPINK2, CABIN1, SULT2A1, SRD5A1, MPDZ, CYP3A4, AMT, PAH, KNG, SGPL1, RDH5, FMO3, SLC6A12, INSIG1, USH3A, FAFL1, PCYT2, WNT11, EGLN2, SLC35D1, FLJ30679, PPAP2A, AR, UNKL, MGC24039, MVK, CRAT, DPYS, AMACR |
| LIZUKA_G1_GR_G2 | STAT1, UBE2L6, PDLIM5, KCNJ4, OAS2, PSME1, ADH1C, GABARAPL1, TRAFD1, HSF2, LOC201229, KCNJ8 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|------------------------------|----------|---|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP | | |
| LIZUKA_G1_GR_G2 | 15710396 | Lizuka N, Oka M, Yamada-Okabe H, Mori N, Tamesa T, Okada T, Takemoto N, Sakamoto K, Hamada K, Ishitsuka H, Miyamoto T, Uchimura S, Hamamoto Y |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|----------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| IDX_TSA_UP_~CLUSTER5 | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1507 | Ratón |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CODIGO DE CATEGORÍA |
|----------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| IDX_TSA_UP_~CLUSTER5 | | GENE_SYMBOL | c2 |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|----------------------|-----------------|---------------------------|---|
| IDX_TSA_UP_`CLUSTER5 | L2L John Newman | Universidad de Washington | Regulado positivamente a las 48-96 horas durante la diferenciación de fibroblastos 3T3-L1 en adipocitos con IDX (insulina, dexametasona e isobutilxantina), frente a fibroblastos tratados con IDX + TSA para impedir la diferenciación (grupo 5) |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------|--|
| IDX_TSA_UP_GR UPO5 | <p>AB - Durante diferenciación y desarrollo celular se reconoce que muchos mecanismos moleculares complejos así como patrones exactos de genes diferencialmente expresados se producen en células precursoras directamente hacia un linaje determinado. Usando tecnología basada en micromatrices se examinó la expresión génica a través de la evolución de diferenciación de adipocitos 3T3-L1. Se aisló ARN celular total en los momentos a las 0 2 8 16 24 48 y 96 h después del tratamiento con cualquiera de los inductores hormonales convencionales de diferenciación de dexametasona por insulina, isobutilmetilxantina (IDX) o IDX más tricostatina A (TsA) un inhibidor histona desacetilado y un fuerte inhibidor adipogénico. Se sintetizó ARNc a partir de ARN celular y se hibridó con microplacas de genes de micromatriz MG_U74Av2 de Affymetrix de alta densidad que contenía 12.488 conjuntos de sondas de etiquetas de secuencia (ETS) expresadas/ADNc. A partir de las células solamente tratadas con IDX todos los conjuntos de sondas que no se trataron o que se expresaron diferencialmente menos de 2 veces a través de la diferenciación con respecto al tiempo 0 de preadipocitos se excluyeron de análisis posteriores. Esta selección dio como resultado un método de 1686 transcritos, 859 aumentaron de expresión y 827 disminuyeron de expresión al menos 2 veces a través de la diferenciación. Para centrarse en genes que eran más específicos a diferenciación se realizó el mismo análisis en células no diferenciadoras tratadas con IDX más TsA y todos los conjuntos de sondas del grupo tratado solamente con IDX que mostraron perfiles de expresión similares en el grupo no diferenciador tratado con TsA se excluyeron dejando un total de 1.016 transcritos que se regularon solamente en condiciones de diferenciación. Seiscientos treinta y seis de estos transcritos se elevaron al menos dos veces y trescientos ochenta mostraron una disminución en la expresión con respecto al tiempo 0 de preadipocitos. Este grupo de genes se analizó posteriormente usando agrupamiento jerárquico y mapas de auto-organización y dieron como resultado la identificación de numerosos genes no previamente conocidos que se regulaban durante la diferenciación de adipocitos. Muchos de estos genes pueden representar bien nuevos mediadores adipogénicos y marcadores de adipogénesis.</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|-----------------------|---|
| IDX_TSA_UP_`CL USTER5 | <p>MAPK6, TALD01, RREB1, RASD1, PHB, PEX14, USMG5, BCL2L13, ACSL1, C2OORF45, C18ORF8, TYSND1, FAM82C, MKNK2, PTGES2, CHP, NDUFB10, C22ORF13, GYSS1, C2ORF7, PHB2, LOC642393, GPHN, LOC440567, ABHD5, MRPL34, COX6A1, COX4NB, IFNGR1, JAGN1, COQ9, C6ORF72, RPP14, C3, GK, PRPS1, HBLD1, SIPA1, PIM3, G6PD, GPI, TBL2, DBI, AK2, XBP1, GNPAT, CBR3, TIMM8A, SLC5A6, TXNDC14, TIMM17A, PSMA1, PPARG, MRPL12, LRRC59, COX17, PLA2G12A, UQCR, TOMM40, ESRRA, NDUFAB1, ETFB, ACO2, PRDX3, ACADM, IVD, SORBS1, CYCC1, MRPS34, PDIA6, SDHD, PEX11A, KIAA1161, ADAM12, MRPL18, MRPS2, MTX2, MRPL15, GRPEL1, NDUFA8, ALDOA, TIMM23, PPA1, BRP44, ORMDL3, MGST3, TMEM97, MRPS26, BCAP31, ARL6IP2, TIMM9, ECHS1, ATP5G1, PSMA5, POR, PC, PDCD8, DNAJB9, LPIN1, ZNRF2, CRAT, FAM73B, NRIP1, PTRF, LMAN2, FDX1</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------|---|
| IDX_TSA_UP_CLUSTER5 | MAPK6, TALDO1, RREB1, RASD1, PHB, PEX14, USMG5, BCL2L13, ACSL1, C2OORF45, C18ORF8, TYSND1, FAM82C, MKNK2, PTGES2, CHP, NDUFB10, C22ORF13, GYS1, C2ORF7, PHB2, LOC642393, GPHN, LOC440567, ABHD5, MRPL34, COX6A1, COX4NB, IFNGR1, JAGN1, COQ9, C6ORF72, RPP14, C3, GK, PRPS1, HBLD1, SIPA1, PIM3, G6PD, GPI, TBL2, DBI, AK2, XBP1, GNPAT, CBR3, TIMM8A, SLC5A6, TXNDC14, TIMM17A, PSMA1, PPARG, MRPL12, LRRC59, COX17, PLA2G12A, UQCR, TOMM40, ESRRA, NDUFAB1, ETFB, ACO2, PRDX3, ACADM, IVD, SORBS1, CYCC1, MRPS34, PDIA6, SDHD, PEX11A, KIAA1161, ADAM12, MRPL18, MRPS2, MTX2, MRPL15, GRPEL1, NDUFA8, ALDOA, TIMM23, PPA1, BRP44, ORMDL3, MGST3, TMEM97, MRPS26, BCAP31, ARL6IP2, TIMM9, ECHS1, ATP5G1, PSMA5, POR, PC, PDCD8, DNAJB9, LPIN1, ZNRF2, CRAT, FAM73B, NRIP1, PTRF, LMAN2, FDX1 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------|----------|--|
| IDX_TSA_UP_CLUSTER5 | 15033539 | Burton GR, Nagarajan R, Peterson CA, McGehee RE Jr |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| ADIP_DIFF_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1138 | Ratón |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CODIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| ADIP_DIFF_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------|-----------------|---------------------------|---|
| ADIP_DIFF_UP | L2L John Newman | Universidad de Washington | Regulado positivamente en adipocitos maduros después de diferenciación de fibroblastos 3T3-L1 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------|---|
| ADIP_DIFF_UP | <p>AB - Troglitazona (TGZ) un miembro de la clase de tiazolidinediona de compuestos anti-diabéticos y un agonista de receptores gamma activadores de proliferadores de peroxisomas (PPAR-gamma) restablece la sensibilidad sistémica a insulina y mejora el síndrome de resistencia a insulina completa <i>in vivo</i>. Los mecanismos en que se basa esta función <i>in vivo</i> no se conocen. Se investigó la posible interacción funcional entre PPAR-gamma y NF-kappaB en adipocitos. Se demostró que TGZ bloqueaba selectivamente el factor alfa de necrosis tumoral inducido y NF-kappaB dependiente de regresión de genes específicos de adipocitos múltiples e inducción de la fase de crecimiento y otros genes. Esto se produce sin interferir con la translocación nuclear de la activación de la expresión de NF-kappaB o unión de ADN y sin suprimir las señales de supervivencia dependientes de NF-kappaB. De manera notable la expresión de algunos genes inducidos por el factor alfa de necrosis tumoral en adipocitos no se vieron afectados por la activación de PPAR-gamma. En ensayos con genes indicadores en células HeLa la expresión ectópica de PPAR-gamma anuló la inducción de un gen indicador sensible a NF-kappaB por la subunidad p65 (RelA) de NF-kappaB y la inhibición se potenció adicionalmente en presencia de TGZ. De manera inversa la sobre-expresión de p65 inhibió la inducción de un gen indicador a PPAR-gamma por PPAR-gamma activado de una manera dependiente de la dosis. El efecto inhibitor fue independiente de la presencia de sitios de unión a NF-kappaB en la región promotora. Otros miembros de la familia NF-kappaB p50 y c-Rel así como el mutante 5276A de p65 bloqueó de manera menos eficaz la transcripción de genes mediada por PPAR-gamma. Por tanto p65 antagoniza la actividad reguladora transcripcional de PPAR-gamma en adipocitos y la activación de PPAR-gamma puede al menos parcialmente dominar los efectos inhibitorios de p65 en la expresión de genes de adipocitos clave. Nuestros datos sugieren que la inhibición de la actividad de NF-kappaB es un mecanismo mediante el cual los agonistas de PPAR-gamma mejoran la sensibilidad a insulina <i>in vivo</i> y que el NF-kappaB en adipocitos es una diana posible terapéutica para la diabetes de tipo 2 relacionada con la obesidad.</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------|--|
| ADIP_DIFF_UP | <p>IRX3, DGAT1, DCN, SLC2A4, TALDO1, RASD1, ABCD2, PPARG, ACOX1, SCARB1, PFKFB1, ACSL1, ADIPOQ, ACADS, ITGA6, PLA2G6, FAM62A, BCKDHA, NNMT, TST, ACADM, TPP2, SORBS1, SELENBP1, MUT, HIPK3, AP3S1, TAP2, PEX11A, CBX4, COL15A1, ECH1, CEBPG, ALAD, AATK, DHRS3, AQP7, ABCA1, ORM2, G0S2, CIDEC, HP, CP, REEP5, CIB2, SERPINA3, IFNGR1, NFS1, CDKN2C, ME1, F11R, ALAS1, RNF11, RETN, FASN, GBP2, STAT1, IDH1, PC, LTC45, ENTPD5, LAMA4, DBI, RGS2, NRIP1, AK2, UCK1, NR1H3, IDH3G</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------|--|
| ADIP_DIFF_UP | <p>IRX3, DGAT1, DCN, SLC2A4, TALDO1, RASD1, ABCD2, PPARG, ACOX1, SCARB1, PFKFB1, ACSL1, ADIPOQ, ACADS, ITGA6, PLA2G6, FAM62A, BCKDHA, NNMT, TST, ACADM, TPP2, SORBS1, SELENBP1, MUT, HIPK3, AP3S1, TAP2, PEX11A, CBX4, COL15A1, ECH1, CEBPG, ALAD, AATK, DHRS3, AQP7, ABCA1, ORM2, G0S2, CIDEC, HP, CP, REEP5, CIB2, SERPINA3, IFNGR1, NFS1, CDKN2C, ME1, F11R, ALAS1, RNF11, RETN, FASN, GBP2, STAT1, IDH1, PC, LTC45, ENTPD5, LAMA4, DBI, RGS2, NRIP1, AK2, UCK1, NR1H3, IDH3G</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------|----------|-------------------------------|
| ADIP_DIFF_UP | 12732648 | Ruan H, Pownall HJ, Lodish HF |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|-----------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|--------------|
| TISSUE_DEVELOPMENT | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c5:449 | Homo sapiens |
| EPIDERMIS_DEVELOPMENT | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c5:1047 | Homo sapiens |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CODIGO DE CATEGORÍA |
|-----------------------|---|-------------|---------------------|
| TISSUE_DEVELOPMENT | http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&searchconstraint=term&depth=0&query=GO:0009888 | GENE_SYMBOL | c5 |
| EPIDERMIS_DEVELOPMENT | http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&searchconstraint=term&depth=0&query=GO:0008544 | GENE_SYMBOL | c5 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|-----------------------|---------------|---------------------------|--|
| TISSUE_DEVELOPMENT | Gene Ontology | Gene Ontology | Los genes se indican mediante el término GO GO:0009888. El proceso cuyo resultado específico es la progresión de un tejido a lo largo del tiempo a partir de su formación a la estructura madura. |
| EPIDERMIS_DEVELOPMENT | Gene Ontology | Gene Ontology | Los genes se indican mediante el término GO GO:0008544. El proceso cuyo resultado específico es la progresión de la epidermis a lo largo del tiempo, desde su formación a la estructura madura. La epidermis es la capa epitelial externa de una planta o un animal, puede ser una capa simple que produce un material extracelular (por ejemplo la cutícula de artrópodos) o un epitelio escamoso complejo estratificado como es el caso de muchas especies de vertebrados. |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|-----------------------|----------------------|
| TISSUE_DEVELOPMENT | |
| EPIDERMIS_DEVELOPMENT | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|-----------------------|--|
| TISSUE_DEVELOPMENT | DHCR24, PTF1A, HOXC11, LAMC1, RUNX2, GLI1, NF1, SLIT2, APOA5, KLF4, TRIM15, BMP4, KL, ERCC3, SPINK5, ANKH, EDA, STX2, KRT6A, KRT6B, PROX1, TFAP2A, VAX2, ZBTB7B, SMURF1, COL5A2, KRT9, SASP, TGFB2, EYA2, GHSR, PPAR, GHRL, FST, COL13A1, RTN4RL1, TRTN4RL2, KLK8, NME2, BMX, BTK, HCK, JAK2, MATK, MEST, SECTM1, T, TBX6, TCF15, TCF21, TIE1, GDF11, IKZF1, IKZF3, ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BT, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, APRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, SNAI2, CDK6, TWIST2, IL20, BMP1, COL11A1, MGP, ALX1, AHSG, SRGN, TBX3, ACVR1, ZNF675, ACHE, GLI2, IL17F, ATP6V181, CASR, DMP1, DSPP, SPARC, OSTF1, ATP6V0A4, TGM3, SMADD2 |
| EPIDERMIS_DEVELOPMENT | ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BT, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, PPAR, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, APRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, ERCC2, ERCC3, SPINK5, COL5A2, DHCR24, KRT9, SASP, TGFB2, FST, NME2, GLI1, IL20, TGM3 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|-----------------------|---|
| TISSUE_DEVELOPMENT | DHCR24, PTF1A, HOXC11, LAMC1, RUNX2, GLI1, NF1, SLIT2, APOA5, KLF4, TRIM15, BMP4, KL, ERCC3, SPINK5, ANKH, EDA, STX2, KRT6A, KRT6B, PROX1, TFAP2A, VAX2, ZBTB7B, SMURF1, COL5A2, KRT9, SASP, TGFB2, EYA2, GHSR, PPAR, GHRL, FST, COL13A1, RTN4RL1, TRTN4RL2, KLK8, NME2, BMX, BTK, HCK, JAK2, MATK, MEST, SECTM1, T, TBX6, TCF15, TCF21, TIE1, GDF11, IKZF1, IKZF3, ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BT, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, APRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, SNAI2, CDK6, TWIST2, IL20, BMP1, COL11A1, MGP, ALX1, AHSG, SRGN, TBX3, ACVR1, ZNF675, ACHE, GLI2, IL17F, ATP6V181, CASR, DMP1, DSPP, SPARC, OSTF1, ATP6V0A4, TGM3, SMAD2 |
| EPIDERMIS_DEVELOPMENT | ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BT, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, PPAR, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, APRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, ERCC2, ERCC3, SPINK5, COL5A2, DHCR24, KRT9, SASP, TGFB2, FST, NME2, GLI1, IL20, TGM3 |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|-----------------------|------|--|
| TISSUE_DEVELOPMENT | | Ashburner M, Ball, CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G. |
| EPIDERMIS_DEVELOPMENT | | Ashburner M, Ball, CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G. |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|--------------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|--------------|
| MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c5:843 | Homo sapiens |
| KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c5:917 | Homo sapiens |
| ECTODERM_DEVELOPMENT | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c5:1745 | Homo sapiens |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CODIGO DE CATEGORÍA |
|--------------------------------|---|-------------|---------------------|
| MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM | http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=term&depth=0&query=GO:0002009 | GENE_SYMBOL | c5 |
| KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION | http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=term&depth=0&query=GO:00030216 | GENE_SYMBOL | c5 |
| ECTODERM_DEVELOPMENT | http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=term&depth=0&query=GO:0007398 | GENE_SYMBOL | c5 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|--------------------------------|---------------|---------------------------|--|
| MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM | Gene Ontology | Gene Ontology | Los genes se indican mediante el término GO GO:0002009. El proceso mediante el cual las estructuras anatómicas de los epitelios se generan y organizan. La morfogénesis pertenece a la creación de formas. Un epitelio es una lámina de células estrechamente empaquetadas dispuestas en una o más capas, que cubren las superficies externas corporales o recubrimientos de cualquier cavidad interna o tubo. |
| KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION | Gene Ontology | Gene Ontology | Los genes se indican mediante el término GO GO:0030216. El proceso mediante el cual una célula relativamente no especializada adquiere características especializadas de un queratinocito. |
| ECTODERM_DEVELOPMENT | Gene Ontology | Gene Ontology | Los genes se indican mediante el término GO GO:0007398. El proceso cuyo resultado específico es la progresión del ectodermo a lo largo del tiempo, a partir de su formación a la estructura madura. En embriones animales, el ectodermo es la capa germinal externa del embrión, formado durante la gastrulación. |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|--------------------------------|----------------------|
| MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM | |
| KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION | |
| ECTODERM_DEVELOPMENT | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|--------------------------------|---|
| MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM | TIMELESS, DMBT1, ELF3, KRT3, KRT4, UPK1B, UPK2, UPK2, UPK3A, SPINK5, UPK1A, EHF, CELSR1, VANGL2, GLI2, LM04, BCL10 |
| KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION | ANXA1, CSTA, DSP, EREG, EVPL, IVL, LOR, SPRR1A, SPRR1B, TGM1, TGM3, SCEL, TXNIP, NME2, IL20 |
| ECTODERM_DEVELOPMENT | EDA, STX2, KRT6A, KRT6B, PROX1, TFAP2A, VAX2, ZBTB7B, SMURF1, ERCC2, ERCC3, SPINK5, COL5A2, DHCR24, KRT9, SASP, TGFB2, FST, NME2, GLI1, ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BTD, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, PPARD, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, APRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, IL20, TGM3 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|--------------------------------|---|
| MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM | TIMELESS, DMBT1, ELF3, KRT3, KRT4, UPK1B, UPK2, UPK2, UPK3A, SPINK5, UPK1A, EHF, CELSR1, VANGL2, GLI2, LM04, BCL10 |
| KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION | ANXA1, CSTA, DSP, EREG, EVPL, IVL, LOR, SPRR1A, SPRR1B, TGM1, TGM3, SCEL, TXNIP, NME2, IL20 |
| ECTODERM_DEVELOPMENT | EDA, STX2, KRT6A, KRT6B, PROX1, TFAP2A, VAX2, ZBTB7B, SMURF1, ERCC2, ERCC3, SPINK5, COL5A2, DHCR24, KRT9, SASP, TGFB2, FST, NME2, GLI1, ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BTD, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, PPARD, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, APRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, IL20, TGM3 |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|--------------------------------|------|--|
| MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM | | Ashburner M, Ball, CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G. |
| KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION | | Ashburner M, Ball, CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G. |
| ECTODERM_DEVELOPMENT | | Ashburner M, Ball, CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G. |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSION | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---|--------|---------|-----------------------|--------------------|--------------|
| EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c5:448 | Homo sapiens |
| VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | C2:825 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CODIGO DE CATEGORÍA |
|---|---|-------------|---------------------|
| EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION | http://amigo.genoontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search constraint=term&depth=0&query=GO:0030855 | GENE_SYMBOL | c5 |
| VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN | | GENE_SYMBOL | c5 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---|---------------|---------------------------|---|
| EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION | Gene Ontology | Gene Ontology | Los genes se indican mediante el término GO GO:0030855. El proceso en el que una célula relativamente no especializada adquiere características especializadas de una célula epitelial, constituyendo cualquiera de las células un epitelio |
| VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN | Gene Ontology | Gene Ontology | Genes marcadores de mal pronóstico en Cáncer de Mama (parte de NKI-70) de Van't Veer et al 2002 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---|--|
| EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION | |
| VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN | <p>AB - Pacientes con cáncer de mama con la misma fase de enfermedad pueden tener respuestas notablemente diferentes al tratamiento y resultados globales. Los indicadores más fuertes para metástasis (por ejemplo estado de ganglios linfáticos y grado histológico) no clasifican con exactitud tumores de mama de acuerdo con su comportamiento clínico. La quimioterapia u hormonoterapia reduce el riesgo de metástasis a distancia aproximadamente un tercio sin embargo el 70-80% de los pacientes que reciben ese tratamiento podrían sobrevivir sin éste. Ninguna de las firmas de la expresión de gen de cáncer de mama indicadas hasta ahora permite estrategias de terapias a medida para el paciente. En este documento se usa análisis de micromatriz de ADN en tumores de mama primarios de 117 pacientes jóvenes y se aplicó una clasificación supervisada para identificar una firma de expresión de genes fuertemente predictiva de un corto intervalo para metástasis a distancia (firma "de mal pronóstico") en pacientes sin células tumorales en ganglios linfáticos locales en el momento del diagnóstico (negativo a ganglio linfático). Además se estableció una firma que identifica tumores de portadores de BRCA1. La firma con un mal pronóstico consiste en genes que regulan metástasis de invasión del ciclo celular y angiogénesis. Este perfil de expresión de genes tendrá mejor rendimiento que todos los parámetros clínicos hasta el momento usados en la predicción de resultados de enfermedad. Estos hallazgos proporcionan una estrategia para seleccionar pacientes que se beneficiarían de terapia adyuvante.</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---|--|
| EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION | DMBT1, ELF3, KRT3, KRT4, UPK1B, UPK2, UPK3A, SPINK5, UPK1A, EHF |
| VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN | PRC1, MGAT4A, L13, LCHN, BM037, RAD21, FLJ23468, EXT1, CCNB2, FLJ10549, RAB6B, STK15, NMU, MCM6, TRIP13, L2DTL, PFKP, PRO2000, GGH, LOC56901, HRB, FLJ10461, DCK, FBX05, FLJ20354, CCNE2, ECT2, CENPA, AD024, DC13, PCTK1, EZH2, ADM, BNIP3, FLJ10134, BM039, PSMD2, LOC57110, CP, PRAME, HSU54999, FLT1, SMC4L1, CENPF, LAP18, DKFZP761H171, BUB1, DEGS, FLJ12443, TK1, ASNS, RFC4, FLJ21924, DKFZP434B168, GMPS, PSMD7, CKS2, FLJ11190, ESM1, MAD2L1, PGK1, MMP9, PIR, NS1-BP, COL4A2, KIAA0175, CDC25B, ORC6L, KIAA0042, SM-20, KIAA0008, VEGF, AKAP2, MP1, RRM2, TFRC, PTDSS1, IGFBP5, HMG4, KIAA1104, FLJ22341, SERF1A, NMB, FLJ10511, DKFZP564D0462, MCCC1, CTSL2, GNAZ, CA9, DKFZp762E1312, SACS, PK428, FLJ10156, STX1A, ST7, CTPS, BIRC5, SLC2A3, NDRG1, STK3, FLJ22477, MARRE2, LOC51203, NSAP1, OXCT, MTMR2, UCH37, HEC, TMEFF1, GBE1, FLJ10901, STK6 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---|--|
| EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION | DMBT1, ELF3, KRT3, KRT4, UPK1B, UPK2, UPK3A, SPINK5, UPK1A, EHF |
| VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN | PRC1, MGAT4A, L13, LCHN, BM037, RAD21, FLJ23468, EXT1, CCNB2, FLJ10549, RAB6B, STK15, NMU, MCM6, TRIP13, L2DTL, PFKP, PRO2000, GGH, LOC56901, HRB, FLJ10461, DCK, FBX05, FLJ20354, CCNE2, ECT2, CENPA, AD024, DC13, PCTK1, EZH2, ADM, BNIP3, FLJ10134, BM039, PSMD2, LOC57110, CP, PRAME, HSU54999, FLT1, SMC4L1, CENPF, LAP18, DKFZP761H171, BUB1, DEGS, FLJ12443, TK1, ASNS, RFC4, FLJ21924, DKFZP434B168, GMPS, PSMD7, CKS2, FLJ11190, ESM1, MAD2L1, PGK1, MMP9, PIR, NS1-BP, COL4A2, KIAA0175, CDC25B, ORC6L, KIAA0042, SM-20, KIAA0008, VEGF, AKAP2, MP1, RRM2, TFRC, PTDSS1, IGFBP5, HMG4, KIAA1104, FLJ22341, SERF1A, NMB, FLJ10511, DKFZP564D0462, MCCC1, CTSL2, GNAZ, CA9, DKFZp762E1312, SACS, PK428, FLJ10156, STX1A, ST7, CTPS, BIRC5, SLC2A3, NDRG1, STK3, FLJ22477, MARRE2, LOC51203, NSAP1, OXCT, MTMR2, UCH37, HEC, TMEFF1, GBE1, FLJ10901, STK6 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---|-----------|--|
| EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION | | Ashburner M, Ball, CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G. |
| VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN | 111823860 | Van't Veer LJ, Dai H, van de Vijer MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, Schreiber GJ, Kerkhoven RM, Roberts C, Linsley PS, Bernards R, Friend SH |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| BRCA_PROGNOSIS_NEG | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1215 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CODIGO DE CATEGORIA |
|---------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| BRCA_PROGNOSIS_NEG | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------|-----------------|---------------------------|--|
| BRCA_PROGNOSIS_NEG | L2L John Newman | Universidad de Washington | Genes cuya expresión regularmente se correlaciona de manera negativa con resultados de cáncer de mama - la mayor expresión se asocia con metástasis y mal pronóstico |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------|--|
| BRCA_PROGNOSIS_NEG | <p>AB - Pacientes con cáncer de mama con la misma fase de enfermedad pueden tener respuestas del tratamiento notablemente diferentes y resultados globales. Los indicadores más fuertes para metástasis (por ejemplo estado de ganglio linfático y grado histológico) no clasifican de manera exacta tumores de mama de acuerdo con su comportamiento clínico. La quimioterapia u hormonoterapia reduce el riesgo de metástasis a distancia aproximadamente un tercio sin embargo el 70-80% de los pacientes que reciben este tratamiento podrían haber sobrevivido sin él. Ninguna de las firmas de la expresión de genes de cáncer de mama indicada hasta ahora permite estrategias de terapia a medida para el paciente. En este trabajo se usa análisis de micromatriz de ADN en tumores de mama primarios de 117 pacientes jóvenes y se aplica la clasificación supervisada para identificar una firma de expresión de genes fuertemente predictiva de un corto intervalo para metástasis a distancia (firma "de mal pronóstico") en pacientes y en células tumorales en ganglios linfáticos locales en el momento del diagnóstico (negativo a ganglios linfáticos). Además se estableció una firma que identifica tumores de portadores de BRCA1. La firma de mal pronóstico consiste en genes que regulan la metástasis y angiogénesis de invasión de ciclo celular. Este perfil de expresión de genes tendrá mejor rendimiento que todos los parámetros clínicos usados en la actualidad prediciendo resultados de enfermedades. Estos hallazgos proporcionan una estrategia para seleccionar pacientes que se beneficiarían de terapia adyuvante.</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------|---|
| BRCA_PROGNOSIS_NEG | SMC4, C1ORF106, ASPM, GMPS, PSMD7, PRC1, KIF21A, C16ORF61, CKS2, ESM1, MGAT4A, PGK1, MAD2L1, LRP12, PAQR3, RAD21, EXT1, MMP9, PIR, CCNB2, DTL, COL4A2, UARKA, KNTC2, DLG7, NMU, MCM6, IVNS1ABP, TRIP13, PTPLB, MTDH, PFKP, DEGS1, CDC25B, ORC6L, SYNCRIP, SPBC25, GGH, HRB, VEGF, CENPN, AYTL2, TFRC, DCK, PTDSS1, INTS7, FBXO5, IGFBP5, HMGB3, ECT2, KIF14, NMB, FAM64A, UCHL5, PITRM1, ATAD2, CENPA, MCCC1, PCTK1, CTSL2, GNAZ, CA9, EZH2, ADM, BNIP3, SACS, PLEKHA1, PSMD2, OXCT1, PRAME, FLT1, GPR126, TSPYL5, CTPS, GPSM2, TMEM45A, MRPL13, DIAPH3, ARMC1, NDRG1, CDC42BPA, STK3, DEPDC1, C2OORF46, BUB1, MAPRE2, DKFZP762E1312, MTMR2, MELK, STMN1, SLC7A1, GBE1, RRAGD, ASNS, RFC4 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------|---|
| BRCA_PROGNOSIS_NEG | SMC4, C1ORF106, ASPM, GMPS, PSMD7, PRC1, KIF21A, C16ORF61, CKS2, ESM1, MGAT4A, PGK1, MAD2L1, LRP12, PAQR3, RAD21, EXT1, MMP9, PIR, CCNB2, DTL, COL4A2, UARKA, KNTC2, DLG7, NMU, MCM6, IVNS1ABP, TRIP13, PTPLB, MTDH, PFKP, DEGS1, CDC25B, ORC6L, SYNCRIP, SPBC25, GGH, HRB, VEGF, CENPN, AYTL2, TFRC, DCK, PTDSS1, INTS7, FBXO5, IGFBP5, HMGB3, ECT2, KIF14, NMB, FAM64A, UCHL5, PITRM1, ATAD2, CENPA, MCCC1, PCTK1, CTSL2, GNAZ, CA9, EZH2, ADM, BNIP3, SACS, PLEKHA1, PSMD2, OXCT1, PRAME, FLT1, GPR126, TSPYL5, CTPS, GPSM2, TMEM45A, MRPL13, DIAPH3, ARMC1, NDRG1, CDC42BPA, STK3, DEPDC1, C2OORF46, BUB1, MAPRE2, DKFZP762E1312, MTMR2, MELK, STMN1, SLC7A1, GBE1, RRAGD, ASNS, RFC4 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------|----------|--|
| BRCA_PROGNOSIS_NEG | 11823860 | Van't Veer LJ, Dai H, van der Vijer MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, Schreiber GJ, Kerkhoven RM, Roberts C, Linsley PS, Bernards R, Friend SH |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|------------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:785 | Humano |

5

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|------------------------------|------------------------------|------------|---------------------|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN | | ACCESO_SEC | c2 |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|------------------------------|---------------|---------------------------|--|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN | Yujin Hoshida | Instituto Broad | Genes altamente expresados en carcinoma hepatocelular con mala supervivencia |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|------------------------------|----------------------|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|------------------------------|---|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN | CSDA, ENIGMA, RPS3, RWDD1, MTHFD2, LAMB1, FU23463, NSF, YWHAH, DSG2, HIST2H4, HSPC133, AGRN, RPL35, L5M8, MCM6, MGC20486, CDW92, ATP5C1, ICAP-1A, C6orf83, 8UB3, ATP2B1, PRO2000, RPL12, VCL, HRB, TCTEL1, FU10036, YWHAQ, NTS, SERPINH1, FU10697, EEF1E1, FU20354, ECT2, MCM2, NAP1L1, KIAA1764, CGI-130, CTBP2, MGC5627, C19orf2, AD024, DUSP18, LAMR1, CGI-62, BZW2, HRMT1L1, LXN, DNCL1, RPS3A, LOC148213, CALM2, BCAT1, UBA2, TES, TETRAN, TD-60, ACTR3, HMGB2, MCM7, KRT10, CENPF, MMD, MARCKS, JJAZ1, KHDRBS1, RAN, TMSB4X, HNRPC, CCNA2, HRMT1L2, RPL36A, S100A6, ARHGAP18, OYRK2, TSSC3, SPF45, SET, MYH2, CCNB1, C20orf35, ODC1, FU10468, SNRPG, LYAR, RBX1, CKS2, SLBP, KRT19, LOC51685, NOL5A, NALP2, USP1, CGI-121, RPL27, HDAC2, MGC18216, PBX1, FBL, CCT6A, PLP2, NP, CBX3, DLG7, BAF53A, CCT5, NCBP2, PELI1, RPS18, HSPC150, ZNF138, FU14761, UBE2D1, TERA, FU10407, PTMA, FABP5, RPL9, SLC34A1, TSPAN-3, RP138, HIF1A, RPS6, ANLN, HIST1H4C, KIAA0101, RPS9, K-ALPHA-1, RPS5, MGC24665, LOC256112, PDCD5, SMC2L1, ANXA3, ROD1, DEK, HIST1H4A, MRPL42, RALA, HNRPA1, IER3, RPS7, CUC1, RPE, KLF5, RPS11P1, MAPRE1, ARHE, RAB32, CD164, NFE2L3, TTK, SNRPB2, RPL17, CRFG, TOPBP1, MSH6, HMGN1, HN1, CDC10, PCNA, MGC45S94, YWHAB, OL1G2, RPL31, KIF5B, OPLAH, DDX48, B3GNT5, CDK4, KNTC2, RGS2, ANXA4, Hes4, SMT3H2, D10S170, ITPR3, FU10901, PFDN4, CD2AP, NPM1 |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|------------------------------|--|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR DN | CSDA, ENIGMA, RPS3, RWDD1, MTHFD2, LAMB1, FU23468, NSF, YWHAH, DSG2, HJST2H4, HSPC133, AGRN, RPL35, LSM8, MCM6, MGC20486, CDW92, ATP5C1, ICAP-1A, C6orf83, 8UB3, ATP281, PRO2000, RPL12, VCL, HRB, TCTEL1, FU10036, YWHAQ, NTS, SERPINH1, FU10697, EEF1E1, FU20354, ECT2, MCM2, NAP1L1, KIAA1764, CGI-130, CTBP2, MGC5627, C19orf2, AD024, DUSP18, LAMR1, CGI-62, BZW2, HRMT1L1, LXN, DNCL1, RPS3A, LOC148223, CALM2, BCAT1, UBA2, TES, TETRAN, TD-60, ACTR3, HMGB2, MCM7, KRT10, CENPF, MMD, MARCKS, JJAZ1, KHDRBS1, RAN, TMSB4X, HNRPC, CCNA2, HRMT1L2, RPL36A, 5100A6, ARHGAP18, DYRK2, TSSC3, SPF45, SET, MYH2, CCNB1, C20orf35, ODC1, FU10468, SNRPG, LYAR, RBX1, CKS2, SLBP, KRT19, LOC5168S, NOL5A, NALP2, USP1, CGI-121, RPL27, HDAC2, MGC18216, PBX1, FBL, CCT6A, PLP2, NP, CBX3, DLG7, BAF53A, CCT5, NCBP2, PELI1, RPS18, HSPC1S0, ZNF138, FU14761, UBE2D1, TERA, FU10407, PTMA, FABP5, RPL9, SLC34A1, TSPAN-3, RPL38, HIF1A, RPS6, ANIN, HIST1H4C, KIAA0101, RPS9, K-ALPHA-1, RPS5, MGC2466S, LOC256112, PDCDS, SMC2L1, ANXA3, ROD1, DEK, HIST1H4A, MRPL42, RALA, HNRPA1, IER3, RPS7, CLIO, RPE, KLF5, RPS11P1, MAPRE1, ARHE, RAB32, CD164, NFE2L3, TTK, SNRBP2, RPL17, CRFG, TOP8P1, MSH6, HMGN1, HN1, CDCIO, PCNA, MGC45594, YWHAB, OUG2, RPL31, KIF5B, OPLAH, DDX48, B3GNT5, CDK4, KNTC2, RGS2, ANXA4, Hes4, SMT3H2, D10S170, 1TPR3, FU10901, PFDN4, CD2AP, NPM1 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|------------------------------|------|---------|
| HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR DN | | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|--------------|
| LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:888 | Humano |
| HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1990 | Homo sapiens |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------------------|---|-------------|---------------------|
| LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN | | AFFYMETRIX | c2 |
| HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER | http://www.kegg.jp/dbget-bin/show_pathway?HSA05222 | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------------------|-----------------|---------------------------|--|
| LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN | Kevin Vogelsang | Instituto Broad | Estos genes se identifican mediante criterios estadísticos sencillos según su diferencia en cuanto a la expresión del ARNm entre los WT y riñones fetales HIGH |
| HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER | | KEGG | Genes implicados en cáncer pulmonar microcítico |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------------------|---|
| LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN | <p>AB – el tumor de Wilms (WT) se ha considerado un prototipo para diferenciación celular detenida en el cáncer pero estudios previos se han basado en marcadores de selección. Ahora se ha realizado un examen no sesgado de la expresión de genes en los WT usando micromatrices oligonucleotídicas. Criterios estadísticos identificaron 357 genes como diferencialmente expresados entre los WT y riñones fetales. Este conjunto contenía 124 coincidencias con genes en una micromatriz usada por Stuart y colaboradores (Stuart RO Bush KT Nigam SK Changes in global gene expression patterns during development and maturation of the rat kidney. Proc Natl Acad Sci USA 2001 98 5649-5654) para establecer genes con expresión específica de fase en el desarrollo de riñón de rata. El mapa entre los dos conjuntos de datos demostró que los WT sobreexpresan sistemáticamente los genes que corresponden a la fase más temprana del desarrollo metanefrítico e infraexpresan los genes que corresponden a fases tardías. El agrupamiento automatizado identificó un grupo más pequeño de 27 genes que se expresaban altamente en los WT en comparación con riñón fetal y tejidos tumorales y normales heterólogos. Este conjunto de firma se enriqueció en genes que codificaban factores de transcripción. Cuatro de estos PAX2 EYA1 HBF2 y HOXA11 son esenciales para la supervivencia y proliferación celular en el desarrollo metanefrítico temprano mientras que otros incluyendo SIX1 MOX1 y SALL2 se preveía que actuasen en esta fase. Las proteínas SIX1 y SALL2 se expresaron en el mesénquima de condensación en riñones fetales humanos normales pero estaban ausentes (SIX1) o reducidos (SALL2) en células en otras fases del desarrollo. Estos datos implican que el blastema en los WT ha avanzado a la fase comprometida en la transición mesenquimal/epitelial donde se detiene la diferenciación parcialmente. El conjunto de firma WT también contenía el receptor Wnt FZD7, el antígeno tumoral PRAME, el NNAT génico imprimido y el factor de transcripción asociado con metástasis E1AF.</p> |
| HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER | |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------------------|--|
| LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN | <p>40004_at, 35260_at, 904_s_at, 1383_at, 36491_at, 36597_at, 1782_s_at, 35141_at, 34878_at, 38875_r_at, 36206_at, 40074.31, 40726_at, 36581_at, 2003_s_at, 572_at, 32081_at, 39425_at, 31872_at, 38753_at, 40512_at, 37585_at, 39073_at, 36671_at, 32598_at, 33255_at, 40117_at, 34563_at, 39230_at, 37663_at, 34402_at, 32842_at, 2053_at, 39642_at, 39519_at, 419_at, 39715_at, 603_at, 40634_at, 35200_at, 1833_at, 41050_at, 39426_at, 36837_at, 34843_at, 34314_at, 38724_at, 36813_at, 3904S_at, 37809_at, 37S64_at, 604_at, 349_g_at, 35699_at, 32120_at, 37193_at, 33324_s_at, 40412_at, 37686_s_at, 37171_at, 34851_at, 38424_at, 37739_at, 32263_at, 38251_at, 975_at, 3G178_at, 40641_at, 1985_s_at, 32617_at, 32190_at, 1599_at, 38158_at, 338S2_at, 36932_at, 41626_at, 41352_at, 41569_at, 38728_at, 34829_at, 860_at, 1031_at, 40465_at, 32644_at, 35615_at, 34950_at, 39109_at, 4Q690_at, 38414_at, 36898_r_at, 41403_at, 35657_at, 36650_at, 32102_at, 1592_at, 37231_at, 38863_at, 37508J_at, 38951_at, 36603_at, 40774_at, 37283_at, 37347_at, 40145_at, 38834_at, 1287_at, 37605_at, 40827_at, 36189_at, 36192_at, 35829_at, 38032_at, 32261_at, 40575_at, 32589_at, 39175_at, 37293_at, 37985_at, 33266_at, 39372_at, 38847_at, 38116_at, 35969_at, 33222_at, 36611_at, 33929_at, 212_at, 798_at, 37971_at, 35694_at, 1521_at, 1860_at, 41099_at, 34783_s_at, 41583_at, 649_s_at, 1235_at, 1057_at, 32696_at, 38313_at, 39342_at, 37073_at, 38105_at, 1584_at, 1721_g_at, 1884_s_at, 36010_at, 36059_at, 37S67_at, 37774_at, 35312_at, 41395_at, 32790_at, 38358_at, 37302_at, 31838_at, 37305_at, 1058_at, 39337_at, 38977_at, 34726_at, 35745_f_at, 40407_at, 38573_at, 1544_at, 38702_3t, 36815_at, 2093_s_at</p> |
| HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER | <p>AKT3, CDK2, CDK4, CDK6, CDKN1B, CDKN2B, LAMC3, PIAS3, CHUK, CKS1B, COL4A1, COL4A2, COL4A4, COL4A6, E2F1, E2F2, E2F3, AKT1, AKT2, FHIT, LAMB4, FN1, PIK3R5, IAMA1, APAF1, 8IRC2, 8IRC3, BIRC4, IKBKB, 1TGA6, ITGA2, ITGA2B, ITGA3, ITGAV, ITGB1, LAMA2, LAMA3, LAMA4, LAMAS, IAMBI, LAMB2, LAMB3, LAMC1, LAMC2, MAX, MYC, NFKB1, NFKB2, NFKBIA, NOS1, NOS2A, NOS3, PIAS4, PIK3CA, PIK3CB, P1K3CD, PIK3CG, PIK3R1, PIK3R2, CYCS, PTEN, PTGS2, PTK2, RARB, RBI, CCND1, BCL2, RELA, BCL2L1, RXRA, RXRB, RXRG, SKP2, TP53, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF5, TRAF6, CASP9, PIK3R3, IKBKG, PIAS1, CCNE1, PIAS2, CCNE2, TRAF4</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------------------|---|
| LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN | MN1, AURKB, BIM, DDX23, SPAG5, UCK2, ABCA2, CKS1B, FEN1, MTHFD2, PRIM2A, CKAP5, NME1, TIA1, SLC16A1, CCNB2, CHST1, ILF2, AURKA, TXNRD1, GPC1, T0P2A, MCM6, RNASEH2A, PLK4, MARS, TP53BP2, BRCA1, TRIP13, UNG, TMSL8, BUB3, XPOT, COL2A1, PFKP, CDK2, KPNA2 /// MGC40489/, RRM1, KIAA0692, LMN81, KIAA1794, N0LC1, KIF23, NELL2, MSH2, WASF3, STRAP, SRPK1, PRPF40A /// LOC64245, CACN83, MCM2, NAP1L1, CRABP2, BCL7A, BOP1 /// LOC653119, CHAF1A, CCND2, EZH2, EYA1, PRIM1, CDH2, DDX52, FZD7, CENPF, ST6GAL1, RFC5, H2AFZ, CXCR4, LRP4, CDC2, SIX1, MELK, NUP188, SV2A, LIG3, NUP205, PTTG1, ASNS, IGSF4, FU11021, SMC4, YWHAZ, TARBP2, ZNF516, MEOX1, YAF2, CKS2, ADIPOR2, MAD2L1, NR2C1, DLG5, ESPL1, ELOVL2, CHN1, GTF3C2, MIZF, FADS2, DLG7, HMGA2, KIFC1, NCBP2, FADS1, CDKN3, DKC1, FAM62A, MPHOSPH9, C120RF24, ENO1 /// SNRPF, BUB1B, BAZ1A, MKI67, SALL2, POLE3, KIAA0101, SNRPA1, BAZ1B, KIF14, GREB1, KIAA0515, NASP, SCRNI1, GARS, TCERG1, SHMT2, CCT3, CIT, TPX2, TIMELESS, SS18, CDC25C, COL13A1, PCBP2, SACS, MLXIP, MAP4K4, SSRP1, KIF2C, IARS, TTK, TOPBP1, CDC20, BTAF1, PBX3, MSH6, DDX1, KIF11, XRCC5, MYL6B, SEPT6, PPP2R2A, YARS, PCNA, APOBEC3B, DNAJC9, ACPI, HOXA9, STMN1, PARP1, ZNF423, GCN1L1, TAF5, ROR2 |
| HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER | AKT3, CDK2, CDK4, CDK6, CDKN1B, CDKN2B, LAMC3, PIAS3, CHUK, CKS1B, COL4A1, COL4A2, COL4A4, COL4A6, E2F1, E2F2, E2F3, AKT1, AKT2, FHIT, LAMB4, FN1, PIK3R5, LAMA1, APAF1, BIRC2, BIRC3, B1RC4, IKBKB, ITGA6, ITGA2, ITGA2B, ITGA3, ITGAV, ITGB1, LAMA2, LAMA3, LAMA4, LAMAS, LAMB1, LAMB2, LAMB3, LAMC1, LAMC2, MAX, MYC, NFKB1, NFKB2, NFKBIA, NOS1, NOS2A, NOS3, PIAS4, PIK3CA, P1K3CB, P1K3CD, PIK3CG, PIK3R1, PIK3R2, CYCS, PTEN, PTGS2, PTK2, RARB, RBI, CCND1, BCL2, RELA, BCL2L1, RXRA, RXRB, RXRG, SKP2, TP53, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF5, TRAF6, CASP9, P1K3R3, IKBKG, PIAS1, CCNE1, PIAS2, CCNE2, TRAF4 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------------------|----------|--|
| LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN | 12057921 | Li CM, Guo M, Borczuk A, Poweli CA, Wei M, Thaker HM, Friedman R, Klein U, Tycko B |
| HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER | | Kanehisa, M., Araki, M., Goto, S., Hattori, M., Hirakawa, M., Itoh, M., Katayama, T., Kawashima, S., Okuda, S., Tokimatsu, T., Yamanishi, Y. |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| FLOTHO_CASP8A P2_MRD_DIFF | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1101 | Humano |
| CANCER_NEOPLASTIC_META_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1234 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| FLOTHO_CASP8A P2_MRD_DIFF | | AFFYMETRIX | c2 |
| CANCER_NEOPLASTIC_META_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------------|-----------------|---------------------------|--|
| FLOTHO_CASP8A P2_MRD_DIFF | Kevin Vogelsang | Instituto Broad | Genes significativamente asociados con MRD el día 46 |
| CANCER_NEOPLASTIC_META_UP | L2L John Newman | Universidad de Washington | Sesenta y siete genes normalmente regulados positivamente en cáncer con respecto a tejido normal, a partir de un meta-análisis de la base de datos de la expresión de genes OncoMine |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------------|---|
| FLOTHO_CASP8A P2_MRD_DIFF | <p>AB – en leucemia linfoblástica aguda (ALL) infantil la respuesta temprana al tratamiento es un indicador de pronóstico poderoso. Para identificar genes asociados con esta respuesta se analizó la expresión génica de linfoblastos de diagnóstico de 189 niños todos con ALL y se comparó con los hallazgos con los niveles de enfermedad residual mínima (MRD) los días 19 y 46 del tratamiento de inducción de remisión. Después de la exclusión de genes asociados con subgrupos genéticos se identificaron 17 genes que se habían asociado significativamente con la MRD. El gen de la proteína 2 asociado a caspasa 8 (CASP8AP2) se estudió adicionalmente debido a su función descrita en la apoptosis y señalización de glucocorticoides. En una cohorte distinta de 99 pacientes no incluidos en la comparación de los perfiles de expresión de genes y niveles bajos de MRD de la expresión de CASP8AP2 se predijo una supervivencia libre de suceso inferior ($P = 0,02$) y una tasa mayor de reincidencia de leucemia ($P = 0,01$) y fue un indicador de resultado independiente. Se asociaron altos niveles de expresión de CASP8AP2 con una mayor propensión de linfoblastos leucémicos a experimentar apoptosis. Se llega a la conclusión de que la medición de la expresión de CASP8AP2 en el diagnóstico ofrece un medio para identificar pacientes cuyas células leucémicas son muy susceptibles a quimioterapia. Por lo tanto este gen es un fuerte candidato para la inclusión en matrices de expresión de genes específicamente diseñado para el diagnóstico de leucemia.</p> |
| CANCER_NEOPLASTIC_META_UP | <p>AB – Se han usado muchos estudios usando micromatrices de ADN para identificar firmas de expresión de genes de cáncer humano aunque las características críticas de estas firmas a menudo grandes difíciles de gestionar siguen siendo difíciles de encontrar. Para abordar esto se desarrolló un procedimiento estadístico comparativo de metaperfilado que identifica y evalúa la intersección de firmas de expresión de genes múltiples a partir de una diversa colección de conjuntos de datos de micromatrices. Se recogieron y analizaron 40 conjuntos de datos de micromatrices de cáncer publicados que comprendían 38 millones de mediciones de expresión de genes de >3700 muestras de cáncer. A partir de esto se caracterizó un perfil transcripcional común que se activa universalmente en la mayoría de los tipos de cánceres con respecto a los tejidos normales a partir de los cuales surgen probablemente reflejando características transcripcionales esenciales de transformación neoplásica. Además, se caracterizó un perfil transcripcional que está normalmente activado en diversos tipos de cáncer no diferenciado lo que sugiere mecanismos moleculares comunes mediante los cuales las células cancerosas progresan e impiden la diferenciación. Finalmente se validaron estos perfiles transcripcionales en conjuntos de datos independientes.</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------------|--|
| FLOTHO_CASP8A P2_MRD_DIFF | 200081_s_at, 220657_at, 218268_at, 200937_s_at, 217747_s_at, 21S986_s_at, 207894_s_at, 215177_s_at, 218586_at, 201429_s_at, 200019_s_at, 201904_s_at, 208904_s_at, 201337_s_at, 209499_x_at, 203963_at, 204599_s_at, 209543_s_at, 209288_s_at, 218736_s_at, 209732_at, 209510_at, 203422_at, 202326_at, 211937_at, 208724_s_at, 211717_at, 218041_x_at, 222201_s_at, 212202_s_at, 200034_s_at, 212042_x_at, 213075_at, 209502_s_at, 217098_s_at, 200927_s_at, 218562_s_at, 209760_at, 212509_s_at, 208330_at, 218033_s_at, 203544_s_at, 221646_s_at, 212419_at, 205888_s_at, 201259_s_at, 219165_at, 207979_s_at, 202393_s_at, 215717_s_at, 211927_x_at, 212773_s_at, 217281_x_at, 216520_s_at, 213890_x_at, 200005_at, 200025_s_at, 216444_at, 207940_x_at, 200024_at, 202649_x_at, 217915_s_at, 200038_s_at, 218084_x_at, 221726_at, 204102_s_at, 217719_at, 219364_at, 204804_at, 214351_x_at, 206142_at, 200716_x_at, 20132S_s_at, 218115_at, 208856_x_at, 221718_s_at, 206890_at, 209795_at, 38158_at, 200949_x_at, 203702_s_at, 203276_at, 206802_s_at, 204426_at, 200632_s_at |
| CANCER_NEOPLASTIC_META_UP | TSTA3, FAP, CKS2, MTHFD2, NME1, SOX4, SNRPF, HNRPA2B1, TRAF4, SSR1, MMP9, ILF2, CBX3, IFNGR2, CCT5, HSPD1, NC8P2, TOP2A, SSBP1, TARS, CDKN3, LDHA, PRDX4, CANX, PPP2R5C, PTMA, RBM4, MRPS12, PSMC4, KPNA2, SMARCA4, KIAA0101, KDELR2, UBE2S, PIK1, CRIP2, MCM3, G3BP, MONO, E2F5, TPX2, TGIF, CCT4, PAFAH1B3, HDAC1, AHCY, IARS, PSME2, HSPE1, OGT, DVB, COPB2, MRPL3, COL1A2, TUBB, ARMET, PAICS, ACLY, CDC2, SNRPE, DDX48, NUP205, SDHC, RFC4 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------------|--|
| FLOTHO_CASP8A P2_MRD_DIFF | OLFML2A, VAMP3, KIAA0922, ESPL1, RPL27, ZNF96, STAM, C15ORF15, BAIAP2, MRPL28, ZNF135, ZDHHC11, 1TGA6, POLD1, CD8B, SYPL1, ESF3S7, EEF1G/// LOC654007, CA12, TMED2, RPLPO, LMNB1, RPS16, LGP2, CDC42EP3, RPS6, CNR1, CTDSPL, RPS9, TBC1D15, RPS5, SMURF2, FBN2, AKAP13, EEF2, TTIL4, SLC38A2, SNN, RP15, TOMM20, EIF4B, RP16, PDLIM2, FAU, KLFXO, RPU3A, RAB1A, TMEM87A, EIF3S61P, TPT1, TRIM21, RPL7 /// LOC653702 /, (NSM1, KLHL11, RPL17, TCL6, NDRG1, ANKRD40, MXRA7, FU20035, IL12RB1, RPL22, PLK1 /// RPL37A, CD69, TNFSF13///TNFSF12-, A5F1B, RPS28///LOC645899, PALMD, C10ORF56, RPS19, RPL13///LOC388344, CD34, RPS20, RNF139, TMEM57, C20ORF20, EMP1, EHMT2, CASP8AP2, CLEC2B, ALX4, FXYD5, JAKM1P2, RAB14 |
| CANCER_NEOPLASTIC_META_UP | TSTA3, FAP, CKS2, MTHFD2, NME1, SOX4, SNRPF, HNRPA2B1, TRAF4, SSR1, MMP9, ILF2, CBX3, IFNGR2, CCT5, HSPD1, NCBP2, TOP2A, SSBP1, TARS, CDKN3, LDHA, PRDX4, CANX, PPP2R5C, PTMA, RBM4, MRPS12, PSMC4, KPNA2, SMARCA4, KIAA0101, KDEIR2, U8E2S, PLK1, CRIP2, MCM3, G3BP, NONO, E2F5, TPX2, TGIF, CCT4, PAFAH1B3, HDAC1, AHCY, JARS, PSME2, HSPE1, OGT, DVB, COPB2, MRP13, COL1A2, TUBB, ARMET, PAICS, ACLY, CDC2, SNRPE, DDX48, NUP205, SDHC, RFC4 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------------|----------|---|
| FLOTHO_CASP8A P2_MRD_DIFF | 16627760 | Flotho C, Coustan-Smith E, Pei D, Iwamoto S, SongG, Cheng C, PuiCH, Downing JR, Campana D |
| CANCER_NEOPLASTIC_META_UP | 15184677 | Rhodes DR, Yu J, Shanker K, Deshpande N, Varambally R, Ghosh D, Barrette T, Pandey A, Chinnaiyan AM |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1235 | Humano |
| STEMCELL_COMMON_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1645 | Ratón |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |
| STEMCELL_COMMON_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------------------|-----------------|---------------------------|--|
| CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP | L2L John Newman | Universidad de Washington | Sesenta y nueve genes normalmente regulados positivamente en cáncer indiferenciado con respecto cáncer bien diferenciado, a partir de un meta-análisis de la base de datos de la expresión de genes OncoMine |
| STEMCELL_COMMON_UP | L2L John Newman | Universidad de Washington | Enriquecido en células madre embrionarias de ratón, neurales y hematopoyéticas, en comparación con cerebro diferenciado y células de la médula ósea |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------------------|--|
| CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP | <p>AB - Muchos estudios han usado micromatrices de ADN para identificar las firmas de expresión de genes de cáncer humano aunque las características críticas de estas firmas a menudo grandes difíciles de gestionar son difíciles de encontrar. Para abordar esto se desarrolló un procedimiento estadístico comparativo de metaperfilado que identifica y evalúa la intersección de firmas de expresión de genes múltiples a partir de una diversa colección de conjuntos de datos de micromatrices. Se recogieron y analizaron 40 conjuntos de datos de micromatrices de cáncer publicados que comprendían 38 millones de mediciones de expresión de genes de >3700 muestras de cáncer. A partir de esto se caracterizó un perfil transcripcional común que se activa universalmente en la mayoría de los tipos de cánceres con respecto a los tejidos normales a partir de los cuales surgen probablemente reflejando características transcripcionales esenciales de transformación neoplásica. Además, se caracterizó un perfil transcripcional que está normalmente activado en diversos tipos de cáncer no diferenciado lo que sugiere mecanismos moleculares comunes mediante los cuales las células cancerosas progresan e impiden la diferenciación. Finalmente se validaron estos perfiles transcripcionales en conjuntos de datos independientes.</p> |
| STEMCELL_COMMON_UP | <p>AB – Los perfiles transcripcionales de células madre hematopoyéticas y neurales embrionarias de ratón se compararon para definir un programa genético de células madre. Un total de 216 genes se enriquecieron en los tres tipos de células madre y diversos de estos genes se agruparon en el genoma. Cuando se comparó con tipos celulares diferenciados las células madre expresaban un número altamente significativo de genes (representado mediante etiquetas de secuencia expresada) cuyas funciones son desconocidas. Las células madre embrionarias y neurales tienen muchas similitudes a nivel transcripcional. Estos resultados proporcionan un fundamento para un entendimiento más detallado de la biología de las células madre.</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------------------|--|
| CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP | <p>PSMD14, CKS1B, CKS2, FOXM1, MTHFD2, MAD2L1, IFI30, NME1, NCAPD2, SLC16A1, RAD21, MYBL2, ILF2, CCT6A, YBX1, DLG7, TOP2A, MCM6, ADRM1, SSBP1, H2AFX, COKN3, GCLM, PRDX4, TRIP13, CDC6, NCAPH, EIF2S2, 6GH, KIF23, KPNA2, DPMI, KIAA0101, TMSB10, POLR2K, UBE2S, KIF14, MCM2, MCM3, CENPA, GARS, CEBPG, EZH2, PSMD2, CTSL, BIRC5, KIF2C, SLC7A5, GPSM2, CDC20, HMGB2, H2AFZ, CCNA2, TUBB4, COL1A2, PCNA, TUBB, PSMB7, RPA3, GAS6, CDC2, UBE2C, MELK, SEC61B, CCNB1, TAP1, CXCL9, NUDT1, RFC4</p> |
| STEMCELL_COMMON_UP | <p>UBE2T, LAS1L, PRPSAP1, MOFIC, ERCC5, CPXM1, WDR43, PANX3, FHL1, ZNF639, DPH5, RYK, PSMD11, MRPS10, STAM, MKI67IP, TXNOC9, TXNRD1, EIF4EBP1, BLZF1, YWHAH, SNX12, WDR55, CAD, ITGA6, RPS6KB1, TOM1L1, PLA2G6, MTMRIO, YAP1, SNRPC, XPOT, C40RF28, C120RF45, CHD1, SFRS6, EIOVL6, T6IF2, KLHL7, PSMD12, ADAM9, RFFL, MSH2, PEX7, SOCS2, PPP1R2, TBC1D1S, MRPL17,DTYMK, ARCN1, WTAP, RARSL, USPIO, CTTN, PCF11, SLC38A2, C190RF2, MPHOSPHIO, CTBP2,TBRG4, SLC4A7, ZZZ3, GAB1, C170RF79, ANKRD17, PPIC, RABGGTB, NUP35, COPS7A, LAPTM4A, SMARCAD1, KCNAB3, RCN1, FKBP11, CIRHIA, MRPL34, TRIP6, EPRS, TARSL1, STRN3, JAGN1, MARCH7, IARS2, XPO1, RPP14, ZFX, MRPL3, CRTAP, XTP3TPA, RRN3, ZNF644, PAFAH2, GCAT, TJP1, SFRS3, RCL3, CRSP3, FU11022, CBR3, ALDH7A1, ZNF213, USP9X, MPDU1, YES1, P1GX, FU31951, GSTA4, RNF138, LSG1, DICER1, ITGB1, RAB18, SEC23A, MRPL45, WBP5,SMAD2, LIMA1, COPS4, NDUFAB1, C20ORF6, GCLM, SMAD1, GNL2, IMPAD1, KIF2A, ACADM, STXBP3,TPP2, MAP4K3, ZCCHCIO, SUCLG2, BACH1, TEAD2,UBE2D2, FKBP9, GNB1, ZMYM4, E1F4G2, GRWD1, MRPS2, EIF3S1, MTERFD1, GARS, ARIH1, ZNF281, GAS2, PTPN2, UMPS, PHTF2, PPA1, FBX038, PRPF6, SEC23IP,LAPTM4B, FBX08, UPP1, IARS, RNF4, STATIP1, PLS3, RASA1, DDX1, RPUSD4,XRCC5, RPL22, PKD2, NOP5/NOP58, TXNL1, MDFI, YWHAB, ROCK2, DNAJB6, RAD23B, UTP20, MRPS31, ZMAT3, PDCD2, RSL1D1, CDKN1A, SH3D19, NDUFAF1</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------------------|---|
| CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP | PSMD14, CKS1B, CKS2, FOXM1, MTHFD2, MAD2L1, IFI30, NME1, NCAPD2, SLC16A1, RAD21, MYBL2, ILF2, CCT6A, YBX1, DLG7, TOP2A, MCM6, ADRM1, SSBP1, H2AFX, CDKN3, GCLM, PRDX4, TRIP13, CDC6, NCAPH, EIF2S2, 6GH, K1F23, KPNA2, DPPI, KIAA0101, TMSBIO, POLR2K, UBE2S, KIF14, MCM2, MCM3, CENPA, GARS, CEBPG, EZH2, PSMD2, CTSL, BIRC5, KIF2C, SLC7A5, GPM2, CDC20, HMGB2, H2AFZ, CCNA2, TUBB4, COL1A2, PCNA, TUBB, PSMB7, RPA3, GAS6, CDC2, UBE2C, MELK, SEC61B, CCNB1, TAP1, CXCL9, NUDT1, RFC4 |
| STEMCELL_COMMON_UP | UBE2T, LAS1L, PRPSAP1, MDFIC, ERCCS, CPXM1, WDR43, PANX3, FHL1, ZNF639, DPH5, RYK, PSMD11, MRPS10, STAM, MKI67IP, TXNDC9, TXNRD1, EIF4EBP1, BLZF1, YWHAH, SNX12, WDR55, CAD, ITGA6, RPS6KB1, TOM1L1, PLA2G6, MTMRIO, YAP1, SNRPC, XPOT, C40RF28, C120RF45, CHD1, SFRS6, ELOVL6, T6IF2, KLHL7, PSMD12, ADAM9, RFFL, MSH2, PEX7, SOCS2, PPP1R2, TBC1D15, MRPL17, DTYMK, ARCN1, WTAP, RARSL, USP10, CTTN, PCF11, SLC38A2, C190RF2, MPHOSPH10, CTBP2, TBRG4, SLC4A7, ZZZ3, GAB1, C170RF79, ANKRD17, PPIC, RABGGTB, NUP35, COPS7A, LAPTM4A, SMARCA1, KCNAB3, RCN1, FKBP11, CIRH1A, MRP134, TRIP6, EPRS, TARSL1, STRN3, JAGN1, MARCH7, IARS2, XPO1, RPP14, ZFX, MRPL3, CRTAP, XTP3TPA, RRN3, ZNF644, PAFAH2, GCAT, TJP1, SFRS3, RCL1, CRSP3, FU11021, CBR3, ALDH7A1, ZNF213, USP9X, MPDU1, YES1, PIGX, FU31951, GSTA4, RNF138, LSG1, DICER1, ITGB1, RAB18, SEC23A, MRPL45, WBP5, SMAD2, LIMA1, COPS4, NDUFAB1, C20ORF6, GCLM, SMAD1, GNL2, IMPAD1, KIF2A, ACADM, STXBP3, TPP2, MAP4K3, ZCCHC10, SUCLG2, BACH1, TEAD2, UBE2D2, FKBP9, GNB1, ZMYM4, EIF4G2, GRWD1, MRPS2, EIF3S1, MTERFD1, GARS, ARIH1, ZNF281, GAS2, PTPN2, UMPS, PHTF2, PPA1, FBX038, PRPF6, SEC23IP, LAPTM4B, FBX08, UPP1, IARS, RNF4, STATIP1, PLS3, RASA1, DDX1, RPUSD4, XRCC5, RPL22, PKD2, NOP5/NOP58, TXNL1, MDFI, YWHAB, ROCK2, DNAJB6, RAD23B, UTP20, MRPS31, ZMAT3, PDCD2, RSL1D1, CDKN1A, SH3D19, NDUFAF1 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------------------|----------|---|
| CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP | 15184677 | Rhodes DR, Yu J, Shanker K, Deshpande N, Varambally R, Ghosh D, Barrette T, Pandey A, Chinnaiyan AM |
| STEMCELL_COMMON_UP | 12228720 | Ramalho-Santos M, Yoon S, Matsuzaki Y, Mulligan RC, Melton DA |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| BHATTACHARYA_ESC_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:726 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| BHATTACHARYA_ESC_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------|---------------|---------------------------|--|
| BHATTACHARYA_ESC_UP | Kate Stafford | Instituto Broad | Genes regulados positivamente en células madre embrionarias humanas no diferenciadas |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCION COMPLETA |
|---------------------|--|
| BHATTACHARYA_ESC_UP | <p>AB – Las células madre embrionarias humanas (huES) tienen la capacidad de diferenciarse en diversos linajes celulares y posiblemente proporcionan una fuente de células diferenciadas para muchos usos terapéuticos. Sin embargo se sabe poco sobre el mecanismo de diferenciación de las células huES y factores que regulan el desarrollo celular. Se usaron micromatrices de alta calidad que contenían 16659 oligonucleótidos de setenta pares de bases para examinar la expresión génica en 6 de las 11 líneas celulares huES disponibles. La expresión se comparó frente al ARN agrupado procedente de tejidos múltiples (ARN universal) y se identificaron genes enriquecidos en células huES. Las 6 líneas celulares expresaron marcadores múltiples del estado no diferenciado y compartieron homología significativa en la expresión génica (coeficiente de similitud global > 0,85). Se identificó un subconjunto común de 92 genes que incluyó Nanog GTCM-1 conexina 43 (GJA1) oct-4 y TDGF1 (cripto). La expresión génica se confirmó mediante diversas técnicas que incluían la comparación con bases de datos de reacción en cadena de polimerasa de transcripción inversa enfocada a micromatrices de ADNc e inmunocitoquímica. La comparación con genes “totipotentes” publicados reveló un solapamiento limitado lo que sugería una escasa similitud con otras poblaciones de células madre. Se identificaron diversas etiquetas de secuencia expresadas específicas de células ES nuevas y se realizó un mapa para el genoma humano. Estos resultados representan la primera caracterización detallada de células huES no diferenciadas y proporciona un único conjunto de marcadores para perfilar y comprender mejor la biología de las células huES.</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------|--|
| BHATTACHARYA_ESC_UP | ARL8, ZNF257, BRIX, KRT18, MTHFD2, KIAA1573, STK12, ZNF43, SNRPF, SLC16A1, RPS24, HDAC2, DS62, 1MP-2, HMGY, MGC27165, TNNT1, MAD2L2, HSSG1, RPL4, MGST1, FU12581, RPLPO, FABP5, PITX2, HNRPA1(C20orf168), ELOVL6, GJA1, HSPA4, GDF3, SERPINH1, LRRN1, ZNF117, HNRPA, SMS, KPNA2, PPAT, ACTC, KRT8, C20orf129, Ribosomal40ALaminreceptor, SPS, TDGF1, NBR2, RPL7, PSIP1, NASP, CRABP2, TUBB-5, CYP26A1, UN-28, RPL6, CCT8, GAL, CRABP1, TUBB-4, NME2, EPRS, LDHB, GSH1, LAPTM4B, CALU, NS, MTHFD1, CCNC, TD-60, HMGB2, SSB, C15orf15, Jade-1, Numatrin, CDC2, PODXL, EIF4A1, PSMA2, SFRP2, RAMP, IDH1, LEFTB, SET, CCN81, PSMA3, TK1, DDX21, PTTG1, RPL24, C20orf1/TPX2, KIF4A, POU5F1/Oct4, IMPDH2, SEMA6A, NPM1 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------|---|
| BHATTACHARYA_ESC_UP | AR18, ZNF257, BRIX, KRT18, MTHFD2, KIAA1573, STK12, ZNF43, SNRPF, SLC16A1, RPS24, HDAC2, DS62, IMP-2, HMGY, MGC27165, TNNT1, MAD2L2, HSSG1, RPL4, MGST1, FU12581, RPLPO, FABP5, PJTX2, HNRPA1(C20orf168), ELOVL6, GJA1, HSPA4, GDF3, SERPINH1, LRRN1, ZNF117, HNRPA, SMS, KPNA2, PPAT, ACTC, KRT8, C20orf129, Ribosomal40ALaminreceptor, SPS, TDGF1, NBR2, RPL7, PSIP1, NASP, CRABP2, TUBB-5, CYP26A1, LIN-28, RPL6, CCT8, GAL, CRABP1, TUBB-4, NME2, EPRS, LDHB, GSH1, LAPTM4B, CALU, NS, MTHFD1, CCNC, TD-60, HMGB2, SSB, C15orf15, Jade-1, Numatrin, CDC2, PODXL, EIF4A1, PSMA2, SFRP2, RAMP, IDH1, LEFTB, SET, CCNB1, PSMA3, TK1, DDX21, PTTG1, RPL24, C20orf1/TPX2, KIF4A, POU5F1/Oct4, 1MPDH2, SEMA6A, NPM1 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------|----------|---|
| BHATTACHARYA_ESC_UP | 15070671 | Bhattacharya B, Miura T, Brandenberger R, Mejido J, Luo Y, Yang AX, Joshi BH, Ginis I, Thies RS, Amit M, Lyons I, Condie BG, Itskovitz-Eldor J, Rao MS, Puri RK |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:931 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------------------------|------------------------------|------------|---------------------|
| BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL | | AFFYMETRIX | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ASOCIACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------------------------|-----------------|-------------------------|--|
| BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL | Kevin Vogelsang | Instituto Broad | Genes asociados con proliferación de células mieloides y autorrenovación |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------------------------|---|
| BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL | <p>AB – Los mecanismos que controlan el equilibrio entre la proliferación y la autorrenovación frente a la supresión y diferenciación del crecimiento durante la mielopoyesis normal y leucémica no se conocen. Se ha utilizado el modelo de la línea celular mielóide FDB1 bipotente que es sensible a citocinas mielopoyéticas y mutantes activados del receptor del factor estimulador de colonias de granulocitos macrófagos (GM-CSF) que tiene una señalización diferencial y actividad leucomogénica. Este modelo se ajusta a un perfilado génico a gran escala y se usó un diseño de evolución factorial para generar un conjunto de datos sustancial y potente. Se usó modelado lineal para identificar cambios en la expresión génica asociados con diferenciación de proliferación continuada o señalización de receptores leucémicos. Los inventores se centraron en el cambio del perfil del factor de transcripción, definieron un conjunto de nuevos genes con potencial para regular el crecimiento y diferenciación mielóide y demostraron que el modelo de la línea celular FDB1 es sensible a la expresión forzada de oncogenes identificados en este estudio. También se identificaron cambios de expresión de genes asociados específicamente con el mutante del receptor GM-CSF leucémico V449E. La señalización de este mutante receptor regula negativamente genes diana de la alfa proteína de unión a CCAAT/potenciador (C/EBPα) y genera cambios característicos de una firma de leucemia mielóide aguda específica definida previamente mediante perfilado de expresión génica y asociado con mutaciones C/EBPα.</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------------------------|--|
| BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL | <p>Zfpn1a2, Mgl1, Ankrd10, U66667, BC011467, Papss2, Nt5c3, Zfpnla4, F2r, H2-Eb1, Kcnk5, Z12375, Ahcy, U26789, Aqp9, Nme1, 2810026P18Rik, Z12540, Trim28, Slc1a5, 2810028N01Rik, Bin1, Rcor2, Ppef2, 2410004N09Rik, Pcx, Cpa3, MS5696, Ide, Mep1b, 4932438H23Rik, Tnfsf11, Fcer1a, Oact2, Ivns1abp, Sfrs7, H2-Ea, BC003986, Txk, Sept1, Msh2, Npm1, Mat1a, Mfng, Gata2, Tyms-ps, 1810014L12Rik, Fbxw4, Cct6a, U54534, Z12266, Slc7a8, Npl, P2ry10, Nsun2, C1qbp, Gna1, Wdr43, 4930555B11Rik, Etf4e, Odc1, Tcrb-V8.2, Nrip1, Pdir, 5830474E16Rik, Bzw2, Cdh17, F2rl3, Cdk4, Gtpbp4, Lama5, Z12248, Trf, 2310066E14Rik, Rpol-2, Hsp105, Z12249, Ppan, BC029169, Sod1, 4933415F23Rik, Nrgn, St6gal1, 4930485D02Rik, Rcl1, 8430438D04Rik, Timm8a, St7, Slcl6a1, Fut7, D13Wsu177e, Tcrb-V13, Z22043, Akr1c12, Z12552, 1300007C21Rik, Rgs5, Akrlc13, Z12259, Stc2, Sytl3, Nol5a, Rpl23, 5830405N20Rik, Ptpn9, Pgrmc1, Xpot, Ruvbl2, Psat1, Z12246, Mgat5, Slc7a5, Trim37, Spint2, Msi2h, Nutf2, Mcpt8, Cbfa2t3h, Gart, Emx2, Erh, Apex1, Nars, Sf3b3, H2-Aa, F9, Ncl, Galnact2, H2-Ab1, Slc22a3, Fkbp4, Klra15, Tex292, Sox4, Gas5, 1500012F01Rik, 4930535E02Rik, D13Ert275e, Rab27b, Smarcc1, Myb, Fut8, Ctla2a, Ssr3, Hspd1, Nol5, Shmt2, Rif1, Aasdhppt, MGI:1929091, NM 026110, Hmgn1, Calr, Osbp13, Cyp11a1, Gpr56, Nolc1, Ifitm3, C330027104Rik, Cd48, Serpina3g</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------------------------|--|
| BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL | <p>Zfpn1a2, Mgl1, Ankrd10, U66667, BC011467, Papss2, Nt5c3, Zfpnla4, F2r, H2-Eb1, Kcnk5, Z12375, Ahcy, U26789, Aqp9, Nme1, 2810026P18Rik, Z12540, Trim28, Slc1a5, 2810028N01Rik, Bin1, Rcor2, Ppef2, 2410004N09Rik, Pcx, Cpa3, MS5696, Ide, Mep1b, 4932438H23Rik, Tnfsf11, Fcer1a, Oact2, Ivns1abp, Sfrs7, H2-Ea, BC003986, Txk, Sept1, Msh2, Npm1, Mat1a, Mfng, Gata2, Tyms-ps, 1810014L12Rik, Fbxw4, Cct6a, U54534, Z12266, Slc7a8, Npl, P2ry10, Nsun2, C1qbp, Gna1, Wdr43, 4930555B11Rik, Etf4e, Odc1, Tcrb-V8.2, Nrip1, Pdir, 5830474E16Rik, Bzw2, Cdh17, F2rl3, Cdk4, Gtpbp4, Lama5, Z12248, Trf, 2310066E14Rik, Rpol-2, Hsp105, Z12249, Ppan, BC029169, Sod1, 4933415F23Rik, Nrgn, St6gal1, 4930485D02Rik, Rcl1, 8430438D04Rik, Timm8a, St7, Slcl6a1, Fut7, D13Wsu177e, Tcrb-V13, Z22043, Akr1c12, Z12552, 1300007C21Rik, Rgs5, Akrlc13, Z12259, Stc2, Sytl3, Nol5a, Rpl23, 5830405N20Rik, Ptpn9, Pgrmc1, Xpot, Ruvbl2, Psat1, Z12246, Mgat5, Slc7a5, Trim37, Spint2, Msi2h, Nutf2, Mcpt8, Cbfa2t3h, Gart, Emx2, Erh, Apex1, Nars, Sf3b3, H2-Aa, F9, Ncl, Galnact2, H2-Ab1, Slc22a3, Fkbp4, Klra15, Tex292, Sox4, Gas5, 1500012F01Rik, 4930535E02Rik, D13Ert275e, Rab27b, Smarcc1, Myb, Fut8, Ctla2a, Ssr3, Hspd1, Nol5, Shmt2, Rif1, Aasdhppt, MGI:1929091, NM 026110, Hmgn1, Calr, Osbp13, Cyp11a1, Gpr56, Nolc1, Ifitm3, C330027104Rik, Cd48, Serpina3g</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---|----------|--|
| BROWN_MYELOID_PR OLIF_AND_ SELF_RENEWAL | 16769770 | Brown AL, Wilkinson CR, Waterman SR, Kok CH, Salerno DG, Diakiw SM, Reynolds B, Scott HS, Tsykin A, Glonek GF, Goodall GJ, Solomon PJ, Gonda TJ, D'Andrea RJ |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| IDX_TSA_DN_CLUSTER2 | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1498 | Ratón |
| ADIPOGENESIS_ HMSC_CLASS8_DN | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1132 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| IDX_TSA_DN_CLUSTER2 | | GENE_SYMBOL | c2 |
| ADIPOGENESIS_ HMSC_CLASS8_DN | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------------------|-----------------|---------------------------|---|
| IDX_TSA_DN_CLUSTER2 | L2L John Newman | Universidad Washington de | Regulado negativamente de manera progresiva de 8-96 horas durante la diferenciación de fibroblasto 3T3-L1 en adipocitos con IDX (insulina, dexametasona e isobutilxantina), frente a fibroblastos tratados con IDX + TSA para impedir la diferenciación (grupo 2) |
| ADIPOGENESIS_ HMSC_CLASS8_DN | L2L John Newman | Universidad Washington de | Regulado negativamente 1-14 días después de la diferenciación de células madre mesenquimales de médula ósea humana (hMSC) en adipocitos, frente a células hMSC no tratadas (clase VIII) |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|-----------------------------|---|
| IDX_TSA_DN_CLUSTER2 | <p>AB – Durante la diferenciación y desarrollo celular se reconoce que muchos mecanismos moleculares complejos así como patrones exactos de genes diferencialmente expresados se producen en el direccionamiento de células precursoras hacia un linaje determinado. Usando tecnología basada en micromatriz se examinó la expresión de genes a través de la evolución de la diferenciación de adipocitos 3T3-L1. Se aisló ARN celular total en los momentos 0 2 8 16 24 48 y 96 h después del tratamiento con cualquiera de inductores hormonales convencionales de diferenciación insulina, dexametasona, isobutilmetilxantina (IDX) o IDX más tricostatina A (TsA), un inhibidor de histona desacetilasa y un potente inhibidor adipogénico. Se sintetizó ARNc de ARN celular y se hibridó con microplacas de genes de micromatriz MG_U74Av2 de Affymetrix de alta densidad que contenían 12 488 conjuntos de sondas de Etiquetas de Secuencia Expresada (EST)/ADNc. De las células tratadas solo con IDX todos los conjuntos de sondas que se expresaban de manera no cambiante o diferencialmente menos de 2 veces a lo largo de la diferenciación con respecto al tiempo 0 los preadipocitos se excluyeron de análisis posteriores. Esta selección dio como resultado un neto de 1686 transcritos, 859 aumentaron en expresión y 827 disminuyeron en expresión al menos 2 veces a través de la diferenciación. Para centrarse en genes en que eran más específicos a diferenciación se realizó el mismo análisis en células no diferenciadoras tratadas con IDX más TsA y todos los conjuntos de sondas del grupo tratado solo con IDX que mostraba perfiles de expresión similares en el grupo tratado con TsA no diferenciado se excluyeron dejando un total de 1016 transcritos que se regularon solamente en condiciones diferenciadoras. Seiscientos treinta y seis de estos transcritos se elevaron al menos 2 veces y 380 presentaron una disminución en la expresión con respecto a preadipocitos de tiempo 0. Este grupo de genes se analizó adicionalmente usando agrupación jerárquica y mapas de autoorganización y dio como resultado la identificación de numerosos genes no anteriormente conocidos que se regulasen durante la diferenciación de adipocitos. Muchos de estos genes podrían representar nuevos mediadores adipogénicos y marcadores de adipogénesis.</p> |
| ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN | <p>AB – Las células madre mesenquimales de médula ósea humana (hMSC) dan lugar a adipocitos en respuesta a hormonas adipogénicas. Se empleó una micromatriz de ADNc de uso interno que representaba 3400 genes para caracterizar la modulación de genes implicados en este proceso. Un total de 197 genes mostró cambios de expresión de genes temporales durante la adipogénesis incluyendo genes que codifican reguladores transcripcionales y moléculas señalizadoras. Análisis RT-PCR semicuantitativos confirmaron la expresión diferencial a nivel transcripcional de diversos genes identificados mediante exploración con micromatrices de ADNc. Análisis de agrupaciones de estos genes regulados durante la fase tardía (del día 7 al día 14) de adipogénesis hMSC indicó que estos cambios están bien correlacionados con los datos previamente indicados para preadipocitos murinos. Sin embargo, durante la fase temprana (día 1-día 5) las modulaciones de genes diferían de las indicadas para los preadipocitos. Estos datos proporcionan nueva información sobre los mecanismos moleculares necesarios para propósitos de linaje y maduración que acompañan la adipogénesis de hMSC.</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|-----------------------------|---|
| IDX_TSA_DN_CLUSTER2 | USP22, PLTP, PTGIS, PP6B, OGN, RPS6KA4, ANXA5, NCAM1, ACTA2, WBP5, BDNF, CD99, FGF7, PRDX4, MAP1LC3B, TWIST2, LEPROT, LOX, TINP1, PDLIM7, FAM91A1, SLC38A4, VCL, PGCP, ASAH1, PLXNB2, TMSB10, GNB1, PHLDB2, LAMP2, ITGAV, LOC653503, ANXA3, DSTN, MYH9, EMP3, GBA, CMTM3, F2R, PRSS23, PIA2G7, RAB31, SCPEP1, VCAM1, ZFP36L2, PDPN, BAX, EPPB9, SLC1A4, CD276, SLC7A5, SERPINF1, TES, COL4AS, PRAF2, TSPAN6, CAP1, PLD3, SMAD6, NC102, MSN, SKI, SERTAD1, LOC440525, FXD5, CAPG |
| ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN | CYR61, COL15A1, SCYE1, RGS4, BASP1, IGF1BP3, IER2, TNFRSF118, HCK, SLC7A5, SERPINE1, TMEM47, HAPIN1, THBS2, C50RF13, ABI3BP, IOX, LRP3, COL9A3, MYH11, ITGA3, SRPK2, STK381, GDF15, SERP(NE2, NT5E, SMAD3, ZNF133, ACTG2, TPM1, KRR1, POSTN |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|-----------------------------|---|
| IDX_TSA_DN_CLUSTER2 | USP22, PLTP, PTGIS, PP6B, OGN, RPS6KA4, ANXA5, NCAM1, ACTA2, WBP5, BDNF, CD99, FGF7, PRDX4, MAP1LC3B, TWIST2, LEPROT, LOX, TINP1, PDLIM7, FAM91A1, SLC38A4, VCL, PGCP, ASAH1, PLXNB2, TMSB10, GNB1, PHLDB2, LAMP2, ITGAV, LOC653503, ANXA3, DSTN, MYH9, EMP3, GBA, CMTM3, F2R, PRSS23, PIA2G7, RAB31, SCPEP1, VCAM1, ZFP36L2, PDPN, BAX, EPPB9, SLC1A4, CD276, SLC7A5, SERPINF1, TES, COL4AS, PRAF2, TSPAN6, CAP1, PLD3, SMAD6, NC102, MSN, SKI, SERTAD1, LOC440525, FXD5, CAPG |
| ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN | CYR61, COL15A1, SCYE1, RGS4, BASP1, IGF1BP3, IER2, TNFRSF118, HCK, SLC7A5, SERPINE1, TMEM47, HAPIN1, THBS2, C50RF13, ABI3BP, IOX, LRP3, COL9A3, MYH11, ITGA3, SRPK2, STK381, GDF15, SERP(NE2, NT5E, SMAD3, ZNF133, ACTG2, TPM1, KRR1, POSTN |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|-----------------------------|----------|--|
| IDX_TSA_DN_CLUSTER2 | 15033539 | Burton GR, Nagarajan R, Peterson CA, McGehee RE Jr |
| ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN | 12646203 | Nakamura T, Shiojima S, Hirai Y, Iwama T, Tsuruzoe N, Hirasawa A, Katsuma S, Tsujimoto G |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|----------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| CTNNB1_oncogenic_signature | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1791 | Humano |
| WNT_TARGETS | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:802 | Humano |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORIA |
|----------------------------|---|----------------|---------------------|
| CTNNB1_oncogenic_signature | | HG_U133_Plus 2 | c2 |
| WNT_TARGETS | http://www.stanford.edu/~rnussse/wntwindow.html | ACCESO_SEC | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|----------------------------|-----------------|---------------------------|---|
| CTNNB1_oncogenic_signature | Arthur Liberzon | Instituto Broad | Genes seleccionados en análisis supervisados para diferenciar células que expresan el oncogén beta-catenina activado (CTNNB1) de células control que expresan GFP |
| WNT_TARGETS | Yujin Hoshida | Instituto Broad | Genes diana WNT de bibliografía |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|----------------------------|---|
| CTNNB1_oncogenic_signature | Los autores utilizaron cultivos de células epiteliales mamarias primarias (HMEC) para desarrollar una serie de firmas de ruta. Los autores utilizaron adenovirus recombinantes para forzar la expresión de la beta catenina humana activada y una célula quiescente de otra manera, aislando específicamente así los acontecimientos posteriores como se define mediante la activación de/desregulación de esta ruta sencilla. El ARN de infecciones independientes múltiples se recogió para análisis de micromatriz de ADN usando matriz Affymetrix HG_U133_Plus_2. La firma de expresión génica que refleja la actividad de la ruta inducida por CTNNB1 se identificó usando procedimientos de clasificación supervisados descritos en [PMID: 11562467]. El análisis selecciona un conjunto de genes para los cuales los niveles de expresión son los más correlacionados con la clasificación de muestras HMEC en la beta catenina activada/desregulada frente a control (expresión forzada de la proteína verde fluorescente). |
| WNT_TARGETS | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|----------------------------|---|
| CTNNB1_oncogenic_signature | 235009_at, 211671_s_at, 2133S0,,at, 1560318_at, 212355_at, 223139_s_at, 1569594_a_at, 207700_s_at, 222760_at, 203509_at, 217277_at, 1557081_at, 209257_s_at, 216563_at, 1554260_a_at, 226799_at, 212560_at, 203147_s_at, 211343_s_at, 244287_at, 212794_s_at, 235388_at, 222122_s_at, 225098_at, 213637_at, 225097_at, 236241_at, 226094_at, 241464_s_at, 207002_s_at, 1555673_at, 201865_x_at, 213328_at, 208859_s_at, 228315_at, 223380_s_at, 1558173_a_at, 225116_at, 222728_s_at, 232094_at, 244677_at, 1555920_at, 218796_at, 233204_at, 229422_at, 213850,,s_at, 209318_x_at, 229958_at, 222696_at, 212044_s_at, 210057_at, 208901_s_at, 224250_s_at, 212996_s_at, 229846_s_at, 203255_at, 210118_s_at, 241617_x_at, 212492_s_at, 221900_at, 212994_at, 228180_at, 208953_at, 210178_x_at, 225021_at, 60474_at, 222667_s_at, 206108_s_at, 200842_s_at, 203304_at, 204048_s_at, 209457_at, 235209_at, 215646_s_at, 1568408_x_at, 232231_at, 1555945_s_at, 214814_at, 212263_at, 1562416_at, 222747_s_at, 212177_at, 206504_at, 202648_at, 213478_at, 213352_at, 219024_at, 210355_at, 202643_s_at, 212692_s_at, 222227_at, 222834_s_at, 229115_at, 212420_at, 218150_at, 208900_s_at, 227475_at, 244075_at |
| WNT_TARGETS | PIAUR, FOSL1, FGF18, ATOH1, CD44, JUN, NRCAM, FST, EFNB1, MET, CCND1, MMP7, BIRC5, FOXN1, FZD7, 1GSF4C, LEF1, VEGF, PPARD, CLDN1, MMP26, ID2//ID2B, ID2, BMP4, GAST |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|----------------------------|--|
| CTNNB1_oncogenic_signature | FAM44A, NR3C1, RPS11, ARHGAP29, KIAA0323, DHX36, SDCCAG1, NC0A3, ZNF703, SORL1, RBM25, SMC3, ANKRD12, FRYL, C110RF32, TRIM14, COL13A1, SFRS12, KIAA1033, CHD9, THOC2, AB12, HJPK2, MED31, PIK3C2A, FU27365, PLAGL1, KRTAP2-1, NEK1, ATRX//LOC642995, IATS2, LUZP1, JOSD3, C150RF29, PER1, CBX3, C20ORF42, FU11903, NRD1, SFRS2IP, C80RF61, AXJN2, RPL27A, SMG1, TOPI, SECISBP2, C21ORF108, MAPKAP1, FBXO11, ILIA, JMJD2B, COL8A2, SMU1, LARP5, FUSIP1/// LOC642558, ZNF532, ASH1L, SFRS6, EPRS, BAMBI, PHACTR2, DUSP5, RPESP, CSPG2, RUNX2, FAM120A, YTHDC1, QKI, FLNB, SCML1, C60RF111, CYP24A1, RPS19, KIAA1026, TMCC1, PLEKHA1, PTHLH, TNFA1P3, LRBA, ZNF236, GNG12, DYNC1H1, ELF1, ARL5A, FOXQ1, LOC158160 |
| WNT_TARGETS | PLAUR, FOSL1, FGF18, ATOH1, CD44, JUN, NRCAM, FST, EFNB1, MET, CCND1, MMP7, BIRC5, FOXN1, FZD7, JGSF4C, LEF1, VEGF, PPARD, CLDN1, MMP26, ID2//ID2B, ID2, BMP4, GAST |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|--------------------------------|----------|---|
| CTNNB1_oncogenic_sign ature | 16273092 | Bild AH, Yao g, Chang JT, Wang a Potti A, Chasse D, Joshi MB, Harpole D, Lancaster JM, Berchuck A, Olson JA Jr, Marks JR, Dressman HK, West M, Nevins JR. |
| WNT_TARGETS | | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| TGFBETA_C4_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1662 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| TGFBETA_C4_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------|-----------------|---------------------------|---|
| TGFBETA_C4_UP | L2L John Newman | Universidad de Washington | Regulado positivamente por tratamiento con TGF-beta de fibroblastos térmicos, grupo 4 |

5

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------|--|
| TGFBETA_C4_UP | <p>AB – A pesar de avances importantes en el entendimiento de los mecanismos íntimos de la señalización del factor beta de crecimiento transformante (TGF-beta) a través de la ruta Smad, se han realizado escasos progresos en la identificación de genes diana directos. En esta publicación usando micromatrices de ADNc la atención de los inventores se ha dirigido hacia la caracterización de genes relacionados con la matriz extracelular rápidamente inducidos por TGF-beta en fibroblastos dérmicos humanos y se ha intentado identificar los genes cuya regulación positiva TGF-beta está mediada por Smad. Para cualificar un gen como una diana Smad directa se realizó la hipótesis de que había que cumplir los siguientes criterios (1) elevación rápida (30 minutos) y significativa (al menos 2 veces) de los niveles de ARNm de equilibrio estacionario sobre la estimulación de TGF-beta, (2) activación del promotor tanto por TGF-beta exógeno como por el vector de expresión Smad3 cotransfectado (3) regulación positiva de la actividad del promotor por TGF-beta bloqueado por los vectores de expresión tanto Smad7 inhibidor como Smad3 dominante negativo y (4) transactivación del promotor mediante TGF-beta no posible en fibroblastos embrionarios de ratón Smad3 (-/-). Usando este enfoque riguroso se identificaron COL1A2 COL3A1 COL6A1 COL6A3 y el inhibidor tisular de metaloproteasa 1 como dianas TGF-beta/Smad3 definidas. La extrapolación de este enfoque a otros promotores de genes relacionados con la matriz extracelular también identificó COL1A1 y COL5A2 pero no COL6A2 como nuevas dianas Smad. Juntos estos resultados representan una etapa significativa hacia la identificación de genes diana TGF-beta dependientes de Smad inducidos precozmente en fibroblastos.</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------|---|
| TGFBETA_C4_UP | THBS1, EPHB2, COL16A1, MMP17, MMP1, TNC, MTA1, PAK2, LAMB1, RAC1, THB52 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------|---|
| TGFBETA_C4_UP | THBS1, EPHB2, COL16A1, MMP17, MMP1, TNC, MTA1, PAK2, LAMB1, RAC1, THB52 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------|----------|---------------------------------|
| TGFBETA_C4_UP | 11279127 | Verrecchia F, Chu ML, Mauviel A |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| TGFBETA_EARLY_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1664 | Humano |

5

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| TGFBETA_EARLY_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------|-----------------|---------------------------|--|
| TGFBETA_EARLY_UP | L2L John Newman | Universidad Washington de | Regulado positivamente por tratamiento con TGF-beta de fibroblastos térmicos a los 30 minutos (grupos 1-3) |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------|---|
| TGFBETA_EARLY_UP | <p>AB – A pesar de avances importantes en el entendimiento de los mecanismos íntimos de la señalización del factor beta de crecimiento transformante (TGF-beta) a través de la ruta Smad se han realizado escasos progresos en la identificación de genes diana directos. En esta publicación usando micromatrices de ADNc la atención de los inventores se ha dirigido hacia la caracterización de genes relacionados con la matriz extracelular rápidamente inducidos por TGF-beta en fibroblastos dérmicos humanos y se ha intentado identificar los genes cuya regulación positiva por TGF-beta está mediada por Smad. Para cualificar un gen como una diana Smad directa se realizó la hipótesis de que había que cumplir los siguientes criterios (1) elevación rápida (30 minutos) y significativa (al menos 2 veces) de los niveles de ARNm de equilibrio estacionario sobre la estimulación de TGF-beta, (2) activación del promotor tanto por TGF-beta exógeno como por el vector de expresión Smad3 cotransfectado, (3) regulación positiva de la actividad del promotor por TGF-beta bloqueado por los vectores de expresión Smad7 inhibidor y Smad3 dominante negativo y (4) transactivación del promotor mediante TGF-beta no posible en fibroblastos embrionarios de ratón Smad3 (-/-). Usando este enfoque riguroso se identificaron COL1A2 COL3A1 COL6A1 COL6A3 y el inhibidor tisular de metaloproteasa 1 como dianas TGF-beta/Smad3 definidas. La extrapolación de este enfoque a otros promotores de genes relacionados con la matriz extracelular también identificó COL1A1 y COL5A2 pero no COL6A2 como nuevas dianas Smad. Sin embargo estos resultados representan una etapa significativa hacia la identificación de nuevos genes diana TGF-beta dependientes de Smad inducidos precozmente en fibroblastos.</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------|--|
| TGFBETA_EARLY_UP | <p>MMP3, MARCKSL1, IGF2R, CD44, EPHB3, PXN, SPARC, PLAT, FN1, IGFBP3, RHOA, MMP19, PAK1, NID1, TIMP1, RHOQ, SERPINE1, CSPG2, CD59, RHOB, JUP, COL6A3, NOTCH2, BSG, COL1A2, ZYX, ITGA3, TCF7L2, RND3, COL3A1, CDH6, WNT2B, ADAM9, HSPG2, IT6B5, RHOG, ICAM1, IGFBP5, LAMA4, DVL1, ARHGDIA, IT6B2, LRP1, COL6A1, IGFBP2, LRRC17, MMP14</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------|--|
| TGFBETA_EARLY_UP | <p>MMP3, MARCKSL1, IGF2R, CD44, EPHB3, PXN, SPARC, PLAT, FN1, IGFBP3, RHOA, MMP19, PAK1, NID1, TIMP1, RHOQ, SERPINE1, CSPG2, CD59, RHOB, JUP, COL6A3, NOTCH2, BSG, COL1A2, ZYX, ITGA3, TCF7L2, RND3, COL3A1, CDH6, WNT2B, ADAM9, HSPG2, IT6B5, RHOG, ICAM1, IGFBP5, LAMA4, DVL1, ARHGDIA, IT6B2, LRP1, COL6A1, IGFBP2, LRRC17, MMP14</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------|----------|---------------------------------|
| TGFBETA_EARLY_UP | 11279127 | Verrecchia F, Chu ML, Mauviel A |

5

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| | | | | | |

ES 2 405 605 T3

| | | | | | |
|-------------------------|--------|------|---------------|---------|--------|
| TGFBETA_ALL_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1658 | Humano |
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE | msigdb | V2.5 | 24-marzo-2008 | c2:1789 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|-------------------------|------------------------------|----------------|---------------------|
| TGFBETA_ALL_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE | | HG_U133_Plus 2 | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|-------------------------|-----------------|---------------------------|--|
| TGFBETA_ALL_UP | L2L John Newman | Universidad Washington de | Regulado positivamente por tratamiento con TGF-beta en fibroblastos dérmicos en cualquier momento |
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE | Arthur Liberzon | Instituto Broad | Genes seleccionados en análisis supervisados para diferenciar células que expresan el oncogén H-Ras activado de células control que expresan GFP |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|-------------------------|---|
| TGFbeta_ALL_UP | <p>AB – A pesar de avances importantes en el entendimiento de los mecanismos íntimos de la señalización del factor beta de crecimiento transformante (TGF-beta) a través de la ruta Smad se han realizado escasos progresos en la identificación de genes diana directos. En esta publicación usando micromatrices de ADNc la atención de los inventores se ha dirigido hacia la caracterización de genes relacionados con la matriz extracelular rápidamente inducidos por TGF-beta en fibroblastos dérmicos humanos y se ha intentado identificar los genes cuya regulación positiva TGF-beta está mediada por Smad. Para cualificar un gen como una diana Smad directa se realizó la hipótesis de que había que cumplir los siguientes criterios (1) elevación rápida (30 minutos) y significativa (al menos 2 veces) de los niveles de ARNm de equilibrio estacionario sobre la estimulación de TGF-beta, (2) activación del promotor tanto por TGF-beta exógeno como por el vector de expresión Smad3 cotransfectado, (3) regulación positiva de la actividad del promotor por TGF-beta bloqueado por los vectores de expresión Smad7 inhibidor y Smad3 dominante negativo y (4) transactivación del promotor mediante TGF-beta no posible en fibroblastos embrionarios de ratón Smad3 (-/-). Usando este enfoque riguroso se identificaron COL1A2 COL3A1 COL6A1 COL6A3 y el inhibidor tisular de metaloproteasa 1 como dianas TGF-beta/Smad3 definidas. La extrapolación de este enfoque a otros promotores de genes relacionados con la matriz extracelular también identificó COL1A1 y COL5A2 pero no COL6A2 como nuevas dianas Smad. Juntos estos resultados representan una etapa significativa hacia la identificación de genes diana TGF-beta dependientes de Smad inducidos precozmente en fibroblastos.</p> |
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE | <p>Los autores utilizaron cultivos de células epiteliales mamarias primarias (HMEC) para desarrollar una serie de firmas de ruta. Los autores utilizaron adenovirus recombinantes para forzar la expresión de la H-Ras humana activada y una célula quiescente de otra manera, aislando específicamente así los acontecimientos posteriores como se define mediante la activación de/desregulación de esta ruta sencilla. El ARN de infecciones independientes múltiples se recogió de análisis de micromatriz de ADN usando matriz Affymetrix HG_U133_Plus_2. La firma de expresión génica que refleja la actividad de la ruta inducida por RAS se identificó usando procedimientos de clasificación supervisados descritos en [PMID: 11562467]. El análisis selecciona un conjunto de genes para los cuales los niveles de expresión son los más correlacionados con la clasificación de muestras HMEC en la H-Ras activada/desregulada frente a control (expresión forzada de la proteína verde fluorescente).</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|-------------------------|---|
| TGFBETA_ALL_UP | MMP3, MARCKSL1, IGF2R, LAMB1, SPARC, FN1, ITGA4, SMO, MMP19, ITGB8, ITGA5, NIDI, TIMP1, SEMA3F, RHOQ, CTNNB1, MMP2, SERPINE1, EPHB2, COL16A1, EPHA2, TNC, JUP, ITGA3, TCF7L2, COL3A1, CDH6, WNT28, ADAM9, DSP, HSPG2, ARHGAP1, ITGB5, IGFBP5, ARH6DIA, LRP1, IGFBP2, CTNNA1, LRRC17, MMP14, NEO1, EFNA5, ITGB3, EPHB3, CD44, IGFBP4, TNFRSF1A, RAC1, PXN, PLAT, COL8A1, WNT8B, IGFBP3, RHOA, EPHB4, MMP1, PAK1, MTA1, THBS2, CSPG2, MMP17, CD59, DVL3, RHOB, COL6A3, NOTCH2, BSG, MMP11, COL1A2, 2YX, RND3, THBS1, RHOG, ICAM1, LAMA4, DVL1, PAK2, ITGB2, COL6A1, FGD1 |
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE | 201286_at, 235077_at, 1554997_a_at, 1558517_s_at, 228498_at, 225950_at, 226177_at, 1568513_x_at, 219403_s_at, 213030_s_at, 229817_at, 201490_s_at, 209720_s_at, 212242_at, 217608_at, 226120_at, 1552648_a_at, 202332_at, 46665_at, 212943_at, 204720_s_at, 215707_s_at, 203625_x_at, 209453_at, 202696_at, 225612_s_at, 209281_s_at, 224480_s_at, 215243_s_at, 229004_at, 221840_at, 238058_at, 228527_s_at, 218451_at, 1555950_a_at, 204614_at, 1553995_a_at, 38149_at, 37028_at, 225544_at, 229676_at, 215210_s_at, 203821_at, 1558378_a_at, 226034_at, 240991_at, 205015_s_at, 229872_s_at, 227510_x_at, 238063_at, 223309_x_at, 209598_at, 207945_s_at, 222881_at, 210638_s_at, 235263_at, 206156_at, 228846_at, 221489_s_at, 221009_s_at, 220658_s_at, 205032_at, 201044_x_at, 215977_x_at, 204014_at, 205895_s_at, 231735_s_at, 205014_at, 220949_s_at, 226275_at, 215101_s_at, 208613_s_at, 201631_s_at, 211467_s_at, 218796_at, 228046_at, 200756_x_at, 218736_s_at, 209193_at, 230779_at, 1553722_s_at, 215071_s_at, 205290_s_at, 1552575_a_at, |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|-------------------------|---|
| TGFBETA_ALL_UP | MMP3, MARCKSL1, IGF2R, LAMB1, SPARC, FN1, 1TGA4, SMO, MMP19, ITGB8, ITGA5, NIDI, TIMP1, SEMA3F, RHOQ, CTNNB1, MMP2, SERPINE1, EPHB2, COL16A1, EPHA2, TNC, JUP, ITGA3, TCF7L2, COL3A1, CDH6, WNT2B, ADAM9, DSP, HSPG2, ARHGAP1, ITGB5, IGFBP5, ARH6DIA, LRP1, IGFBP2, CTNNA1, LRRC17, MMP14, NEO1, EFNA5, ITGB3, EPHB3, CD44, IGFBP4, TNFRSF1A, RAC1, PXN, PLAT, COL8A1, WNT8B, IGFBP3, RHOA, EPHB4, MMP1, PAK1, MTA1, THBS2, CSPG2, MMP17, CD59, DVL3, RHOB, COL6A3, NOTCH2, BSG, MMP11, COL1A2, 2YX, RND3, THBS1, RHOG, ICAM1, LAMA4, DVL1, PAK2, ITGB2, COL6A1, FGD1 |
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE | SDC1, MEG3, PTGS2, LRRC8C, SAMD8, GLTP, PRSS1, HPSE, PLXNA2, ZNF608, PPIF, SERPINB3, TUBA1, P18SRP, TTC8, TNFRSF10A, CSNK1E, SEMA4C, KIAA0528, DNAJC6, PRNP, SKP2, SLC9A1, OXSR2, B36NTS, ATP2B1, LPAAT-THETA, GJB3, PTPRE, SLC25A37, CDCP1, CD55, SERPINB2, NT5E, ARHGAP25, PPP1R15A, TBX3, PAPD1, DLST /// DLSTP, HBEGF, C140RF78, NDRG1, TGFA, LOC440667 /// LOC440, PRO1073, TMEM154, PNPLA8, PNMA2, CSNK1D, FBX09, DKFZP434A0131, GJB5, MXD1, SPRY4/// LOC653170, ANGPTL4, ARNTL2, ITGA2, DUSP1, GK, DUSP4, NOLC1, FGFBPX, C70RF49, CXCL5, FLNB, IER3, NFIB, C20ORF42, LOC15248S, CAIU, PALMD, PIM1, TNRC6B, RNF152, H1ST1H2AC, BMP2, C60RF141, CXCL3, CCL20, ABCA1, IL8, RAPH1, DILI, FAM83A, SOCS1, PVR, SDC4, UAP1, EPHA2, CYP27B1, SLC2A3, EHD1, KLF6, VEGF, DUSP6, SERPINB1, C160RF74, BCL6, ZNF192, PIK3CD, TNRC6A, TRIB1, ILIA, MLL3, GOS2, GTPBP2, PLAUR, ZNF273, ANKRD38, LYN, RPRC1, T6FB2, EGR1, PHLDA1, TFPI2, DUSP5, EPAS1, SLC6A15, RMU3IP2, CASP1, CHST11, PNUPRP3, MALL, DDX17, LATS1, INPP1, FAM46B, PI3, CASP2, ITPR3, LRAT, SH2D5, LAMA3, FN1, RUNX1, LDLR, IER2, |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|-------------------------|----------|--|
| TGFBETA_ALL_UP | 11279127 | Verrecchia F, Chu ML, Mauviel A |
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE | 16273092 | Bild AH, Yao G, Chang JT, Wang Q, Potti A, Chasse D, Joshi MB, Harpole D, Lancaster JM, Berchuck A, Olson JA Jr, Marks JR, Dressman HK, West M, Nevins JR. |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|--|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | | | | | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|--|------------------------------|------------|---------------------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | | | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|--|-------------|---------------------------|-------------------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | | | |

5

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|--|----------------------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|--|---|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | 207850_at, 205476_at, 203504_s_at, 211506_s_at, 225188_at, 204748_at, 224215_s_at, 238741_at, 210001_s_at, 214443_at, 212930_at, 202071_at, 209340_at, 230778_at, 203499_at, 205676_at, 202499_s_at, 209039_x_at, 208614_s_at, 224606_at, 210513_s_at, 20S891_at, 212268_at, 242509_at, 203140_at, 206579_at, 203879_at, 234734_s_at, 202241_at, 210118_s_at, 1557158_s_at, 213524_s_at, 221050_s_at, 211924_s_at, 215239_x_at, 229125_at, 202626_s_at, 230820_at, 217943_s_at, 209908_s_at, 201694_s_at, 217997_at, 209278_s_at, 204882_at, 209457_at, 201925_s_at, 230711_at, 206376_at, 213572_s_at, 204133_at, 206011_at, 226372_at, 1558846_at, 209373_at, 204015_s_at, 208151_x_at, 1570425_s_at, 208719_s_at, 202794_at, 229518_at, 244025_at, 205016_at, 203691_at, 226032_at, 201189_s_at, 220317_at, 230973_at, 228726_at, 234608_at, 214701_s_at, 211181_x_at, 202067_s_at, 229949_at, 202081_at, 219563_at, 212408_at, 204855_at, 223195_s_at, 204679_at, 205289_at, 1556773_at, 234725_s_at, 209124_at, 205266_at, 241495_at, 200797_s_at, 212096_s_at, 212171_x_at, 208002_s_at, 214866_at, 38037_at, 223333_s_at, 202828_s_at, 213358_at, 210512_s_at, 235390_at, 210732_s_at, 225316_at, 208785_s_at, 1566968_at, 230603_at, 15S3581_s_at, 1554835_a_at, 217173_s_at, 39402_at, 208893_s_at, 226808_at, 219235_s_at, 201531_at, 227180_at, 201188_s_at, 204420_at, 220407_s_at, 203263_s_at, 201861_s_at, 202711_at, 2028S9_x_at, 230323_s_at, 208960_s_at, 216867_s_at, 41386_i_at, 211756_at, 209427_at, 1560017_at, 216236_s_at, 209774_x_at, 201666_at, 231067_s_at, 204470_at, 227755_at, 201287_s_at, 205490_x_at, 203234_at, 218368_s_at, 228834_at, 201473_at, 203939_at, 208553_at, 202436_s_at, 223834_at, 204823_at, 203946_s_at, 212983_at, 203417_at, 226863_at, 207243_s_at, 227458_at, 208961_s_at, 219935_at, 211620_x_at, 241464_s_at, 1555167_s_at, 204457_s_at, 221773_at, 212658_at, 205180_s_at, |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|--|--|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | C14ORF139, TOR1AIP1, SERPIN85, SESN2, KCNK1, PTHLH, SEMA48, MYD88, LIF, CCNL1, MCL1, MTUS1, ACOT7, MMP14, KIAA0802, LGALS8, MFSD2, MAP1LC38, SPRY4, COL27A1, ILIB, LOC643641, PHACTR4, ZFP36, ELOVL7, FOSL1, ARH6EF9, LRRFIP1, EFNB1, TMEM45B, PDGFA, JMJD3, SMTN, TMTC3, CXCL2, TIMP1, AKAP12, CXCL1, UPP1, TNFRSF12A, TOB1, JUNE, HIST1H1E, CYP1B1, CD274, NAV3, ARG2, HRAS, MFAP2, FAM110C, CALM2, ADAMTS5, FU27365, PBEF1, GAS1, ELK3, LHFPL2, ADAM8, SAT1, S100A6, EDG4, HOXC6, NFKBIZ, FGFR2, RBMS3, GRHL2, PHLDA2, ARHGAP27, MBOAT2, MRGPRX3, FU43663, CYP2R1, CCNA1, EREG, TCF7L2, C19ORF10, DENND2C, SLC16A3, PIAS1, GLCCI1, TOP1, FOS, TPM1, HK2, PPBP, HMG3, KIAA1718, MBNL2, IRX2, EPHA4, COL12A1, FLRT3, NR6A1, LOC203274, SLC20A1, KLF5, LOC641799 /// LOC641, LRIG3, GDF15, STX1A, IL13RA2, TIA1, TRIM22, TNFRSF10B, SFN, XIST, LRP8, MIDI, SRRM2, TNS4, IL11, MED25, ODC1, MDH1, ZBED2, KIAA1754, ST5, ULBP2, ADRB2, PTX3, DKK3, CLCF1, KCNN4, EFNA5, VANGL2, HNRPH1, TSC22D1, FOXQ1 |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|--|------|---------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|--|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | | | | | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|--|------------------------------|------------|---------------------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | | | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|--|-------------|---------------------------|-------------------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | | | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|--|----------------------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | |

5

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|--|---|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | 230333_at, 201489_at, 208892_s_at, 228923_at, 206722_s_at, 206858_s_at, 229545_at, 223217_s_at, 219267_at, 203639_s_at, 225756_at, 240245_at, 219388_at, 209803_s_at, 227057_at, 226726_at, 1553293_at, 239331_at, 227109_at, 205899_at, 225189_s_at, 205767_at, 201926_s_at, 216035_x_at, 216483_s_at, 200632_s_at, 230769_at, 231775_at, 227288_at, 202856_s_at, 160020_at, 211182_x_at, 217864_s_at, 225706_at, 208901_s_at, 209189_at, 238688_at, 202934_at, 211527_x_at, 214146_s_at, 205067_at, 209377_s_at, 217996_at, 227404_s_at, 221778_at, 232138_at, 228462_at, 227449_at, 234951_s_at, 219250_s_at, 60474_at, 232478_at, 207390_s_at, 217279_x_at, 232034_at, 205179_s_at, 201920_at, 209212_s_at, 215G67_x_at, 226908_at, 204678_s_at, 221577_x_at, 204729_s_at, 223196_s_at, 206172_at, 201447_at, 213293_s_at, 210405_x_at, 209260_at, 243712_at, 225611_at, 202014_at, 232158_x_at, 208433_s_at, 203636_at, 1554671_a_at, 22226S_at, 206924_at, 1553993_s_at, 219039_at, 200790_3t, 235374_at, 219836_at, 210845_s_at, 225582_at, 202440_s_at, 202068_s_at, 221291_at, 242899_at, 206170_at, 21484S_s_at, 206157_at, 228314_at, 236656_s_at, 232947_at, 218000_s_at, 202435_s_at, 219500_at, 227364_at, 204401_at, 210355_at, 201041_s_at, 1559360_at, 226029_at, 213472_at, 208786_s_at, 215111_s_at, 227475_at |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|--|-----------------------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|--|------|---------|
| RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE (continuación) | | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|-------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1790 | Humano |
| SCHUMACHER_MYC_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:762 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|-------------------------|------------------------------|----------------|---------------------|
| SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE | | HG_U133_Plus_2 | c2 |
| SCHUMACHER_MYC_UP | | Hu6800 | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|-------------------------|-----------------|---------------------------|---|
| SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE | Arthur Liberzon | Instituto Broad | Genes seleccionados en análisis supervisados para diferenciar células que expresan el oncogén c-Src de células control que expresan GFP |
| SCHUMACHER_MYC_UP | Yujin Hoshida | Instituto Broad | Genes regulados positivamente por MYC en P493-6 (Linfocitos B) |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|-------------------------|--|
| SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE | <p>Los autores utilizaron cultivos de células epiteliales mamarias primarias (HMEC) para desarrollar una serie de firmas de ruta. Los autores utilizaron adenovirus recombinantes para forzar la expresión de la s-Src humana en una célula quiescente de otra manera, aislando específicamente así los acontecimientos posteriores como se define mediante la activación de/desregulación de esta ruta sencilla. El ARN de infecciones independientes múltiples se recogió de análisis de micromatriz de ADN usando matriz Affymetrix HG_U133_Plus_2. La firma de expresión génica que refleja la actividad de la ruta inducida por SRC se identificó usando procedimientos de clasificación supervisados descritos en [PMID: 11562467]. El análisis selecciona un conjunto de genes para los cuales los niveles de expresión son los más correlacionados con la clasificación de muestras HMEC en la H-Ras activada/desregulada frente a control (expresión forzada de la proteína verde fluorescente).</p> |
| SCHUMACHER_MYC_UP | <p>AB – El protooncogén c-myc (myc) codifica un factor de transcripción (Myc) que promueve la proliferación de crecimiento y apoptosis. Se ha sugerido que Myc induce estos efectos mediante inducción/represión de genes cadena abajo. En este documento se publica la identificación de posibles genes diana Myc en una línea de linfocitos B humana que se cultiva y prolifera dependiendo de la expresión de myc condicional. Se aplicaron micromatrices oligonucleotídicas para identificar genes aguas abajo de Myc a nivel del ARNm citoplásmico. Además se identificaron posibles genes diana Myc en experimentos de desarrollo nuclear mediante cambios en su tasa de transcripción. Los genes identificados pertenecen a las clases de genes cuyos productos están implicados en la síntesis de aminoácidos/proteínas, metabolismo lipídico, renovación/plegamiento de proteínas/síntesis de ADN/nucleótidos, transporte, función del nucléolo/transcripción de unión al ARN y estrés oxidativo de corte y empalme y transducción de señal. Las dianas identificadas apoyan nuestro punto de vista actual de que myc actúa como un gen principal para el control del crecimiento y aumenta la transcripción de una gran diversidad de genes.</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|-------------------------|--|
| SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE | <p>206414_s_at, 242082_at, 229101_at, 218796_at, 213350_at, 202506_at, 213069_at, 230304_at, 2134S5_s_at, 229582_at, 1552797_s_at, 227921_at, 212044_s_at, 21386S_at, 202245_at, 224321_at, 203301_s_at, 224250_s_at, 202569_s_at, 212560_at, 2416X7_x_at, 211756_at, 1556006_s_at, 1556499_s_at, 212492_s_at, 209537_at, 221900_at, 1568680_s_at, 222667_s_at, 204614_at, 37028_at, 225640_at, 225461_at, 218397_at, 206011_at, 201447_at, 229666_s_at, 201128_s_at, 213279_at, 228955_at, 204847_at, 206591_at, 1568408_x_at, 212435_at, 212928_at, 1554021_a_at, 219181_at, 201879_at, 200908_s_at, 209773_s_at, 1558211_s_at, 220687_at, 31874_at, 204404_at, 231866_at, 235423_at, 1556773_at, 213262_at, 219571_s_at, 238933_at, 202648_at, 202643_s_at, 213352_at, 226065_at, 221284_s_at, 213243_at, 206976_s_at, 213056_at, 215867_x_at, 235392_at, 213164_at, 236251_at, 201737_s_at</p> |
| SCHUMACHER_MYC_UP | <p>UCK2, MEST, NME1, SLC16A1, JTV1, LRP8, MAC30, LOC56902, SORD, POLD2, ACSL1, PRDX4, LDHA, ZNF239, BOP1, RRS1, KIAA0020, DHODH, FABP5, RANBP1, SLC39A14, CYP51A1, NOLC1, FXN, TFRC, AKAP1, NEFH, PRPS2, POLR2H, AEBP1, UCHL3, SLC20A1, CTPS, AHCY, TARBP1, FKBP4, IARS, MTHFD1, DDX10, ATP1B3, CTSC, HSPE1, AUH, SLC39A6, VRK1, MRPL3, EBNA1BP2, PAICS, RABEPK, PBEF1, PYCR1, ABCE1, GRSF1, DDX21</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|-------------------------|---|
| SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE | DDEF2, MMAB, IOC150166, C20ORF42, RPS11, SSFA2, HEG1, ABCC10, C180RF37, PROM2, RPL27A, DC8L02, LSS, TMEFF2, DMTF1, SECISBP2, MARK3, C110RF32, PTHLH, CSNK1A1, COL1A1, JMJD2B, EXTL2, COL8A2, YTHDC2, ASH1L, SERPINB2, PPP1R15A, IOC401504, EHMT1, FANCL, CASP1, TIA1, CSTF3, ACLY, DHRS1, ZBTB11, RAG1, TRIM33, TSPYL4, ZNF12, L1PG, ARIH1, RPLP2, RRM2, SRC, GAS2L1, SLC12A2, LNPEP, SACS, RPS19, TNFAIP3, TMCC1, PRICKLE1, VPS13B, HSPH1, FRMD48, CA12, IRS1, SLC5A3, ITGAV, MARCH6 |
| SCHUMACHER_MYC_UP | UCK2, MEST, NME1, SLC16A1, JTV1, LRP8, MAC30, LOC56902, SORD, POLD2, ACSL1, PRDX4, LDHA, ZNF239, BOP1, RRS1, KIAA0020, DHODH, FABP5, RANBP1, SLC39A14, CYP51A1, NOLC1, FXN, TFRC, AKAP1, NEFH, PRPS2, POLR2H, AEBP1, UCHL3, SLC20A1, CTPS, AHCY, TARBP1, FKBP4, IARS, MTHFD1, DDX10, ATP1B3, CTSC, HSPE1, AUH, SLC39A6, VRK1, MRPL3, EBNA1BP2, PAICS, RABEPK, PBEF1, PYCR1, ABCE1, GRSF1, DDX21 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|-------------------------|----------|---|
| SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE | 16273092 | Bild AH, Yao G, Chang JT, Wang a Potti A, Chasse D, Joshi MB, Harpole D, Lancaster JM, Berchuck A, Olson JA Jr, Marks JR, Dressman HK, West M, Nevins JR. |
| SCHUMACHER_MYC_UP | 11139609 | Schuhmacher M, Kohlhuber F, Hofzel M, Kaiser C, Burtscher H, Jarsch M, Bornkamm GW, Laux G, Potack A, Weidle UH, Eick D |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|----------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| IGF1_NIH3T3_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1522 | Ratón |
| SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1640 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|----------------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| IGF1_NIH3T3_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |
| SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE | | GENE_SYMBOL | c2 |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|----------------------------|-----------------|---------------------------|---|
| IGF1_NIH3T3_UP | L2L John Newman | Universidad de Washington | Regulado positivamente por tratamiento con células IGF1 o NIH3T3 que sobreexpresan IGF1R (Tablas 1+3) |
| SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE | L2L John Newman | Universidad de Washington | Genes dependientes del ciclo celular regulados después de exposición a suero en diversas líneas celulares de fibroblastos humanos |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|----------------------------|--|
| IGF1_NIH3T3_UP | <p>AB – El receptor de IGF-1 y el receptor de insulina relacionados son similares en estructura y activan muchas de las mismas rutas de señalización postreceptoras que incluso median funciones biológicas distintas. Aún no se conoce como se controla la especificidad de la señalización de insulina frente IGF-1. En este estudio se han utilizado micromatrices de ADNc para controlar los modelos de expresión génica que están regulados por insulina e IGF-1. Se estimularon células NIH-3T3 de fibroblasto de ratón que expresaban el receptor de IGF humano natural o el receptor de insulina con cualquiera de IGF-1 o insulina respectivamente. Treinta y siete genes, de los cuales 27 no se conocía anteriormente que eran sensibles a IGF-1, se regularon positivamente por IGF-1 pero no por insulina. Nueve genes ninguno de los cuales se sabía previamente que eran sensibles a insulina se regularon positivamente por insulina pero no por IGF-1. La regulación inducida por insulina e IGF de 10 de estos genes se confirmó mediante análisis por transferencia Northern. De manera interesante más de la mitad de los genes regulados positivamente por IGF-1 están asociados con mitogénesis y diferenciación mientras que ninguno de los genes específicamente regulados positivamente por la insulina está asociado con estos procesos. Nuestros resultados indican que en las condiciones usadas en este estudio IGF-1 es un activador más potente de la ruta mitogénica que la insulina en células NIH-3T3 de fibroblasto de ratón.</p> |
| SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE | <p>AB – La invasión y metástasis del cáncer se ha asociado con un mal resultado de curación de heridas. A pesar de paralelismos en el comportamiento celular entre el avance del cáncer y la curación de heridas las relaciones moleculares entre estos dos procesos y sus implicaciones en cuanto al pronóstico son inciertas. En este estudio basado en perfiles de expresión de genes de fibroblastos de 10 sitios anatómicos se identificó un programa de expresión de genes estereotipado en respuesta a exposición a suero que parece reflejar el papel multifaceta de fibroblastos en la curación de heridas. Los genes que comprenden esta respuesta al suero común de fibroblastos se regulan coordinadamente en muchos tumores humanos permitiéndonos identificar tumores con firmas de expresión de genes que sugieren heridas activas. Los genes inducidos en el programa de respuesta a suero con fibroblastos se expresaron en tumores por propias células tumorales, por fibroblastos asociados a tumores o ambos. Las características moleculares que definen este fenotipo similar a una herida son evidentes en una fase clínica precoz, persisten durante el tratamiento y se predice un riesgo aumentado de metástasis y muerte en carcinomas de mama, pulmón y gástrico. Por tanto, la firma transcripcional de la respuesta de fibroblastos al suero proporciona una posible relación entre el avance del cáncer y la curación de heridas así como un fuerte indicador de la evaluación clínica en diversos carcinomas comunes.</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|----------------------------|--|
| IGF1_NIH3T3_UP | CYR61, GPD2, CSDA, SMAD5, PVALB, H3F3B, TWIST1, TNFRSF1A, IER3, SLC25A5, SOX2, ETF1, MYH3, WEE1, IL3RA, CSF1, SLC20A1, RBM13, ITGA5, PHLDA1, NFE2L2, IL4R, KIF1A, NAB2, GDNF, TUBB2B, FOXC2, ZFP90, MGP, VHL, SFRS2, NT5E, DAXX, TAGLN, SFRS3, LOC653441 |
| SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE | UBE2T, CDKL5, SPAG5, CKS1B, FEN1, RECQL4, PRIM2A, CDCA8, AMD1, MPHOSPH1, CCNB2, ILF2, MCM5, CASP3, KIAA1333, AURKA, YWHAH, TIMP1, TOP2A, MCM8, MCM6, TACC3, TYMS, H2AFX, CENPQ, TRIP13, CDC6, TUBB2C, CKAP2, NCAPH, FBXL20, FAM83D, MCM4, RRM1, IMNB1, KIAA1794, GMNN, WDR51A, KIF23, ABCC5, H2-ALPHA, DHFR, PLK1, CKAP2L, ITGB3, CENPA, EXO1, EZH2, PRIM1, CIITA, PBK, TUBA1, CENPF, MLF1IP, BUB1, UHRF1, RAD51AP1, CCNA2, GINS3, ASF18, FAM111B, HIST1H2AC, CDCA1, PSRC1, CDC2, KIAA1370, MELK, PTTG1, RFC4, NCAPD3, SMC4, HMMR, W5B1, GTSE1, LYAR, SCML1, ANKRD10, CKS2, FOXM1, MAD2L1, NALP2, USP1, MET, PPIH, DONSON, CDCA5, DLG7, KIFC1, ESC02, CDCA7, MLLT6, CDKN3, DEPDC1B, MAPK13, HELLS, G1NS2, SDC1, CDC25A, C130RF3, ANP32E, RRM2, C70RF41, ANLN, MBOAT1, KIAA0101, CTNNA1, FAM64A, ATAD2, SGCD, FANCA, TIPIN, PWP1, RFC2, TPX2, CCDC99, CDC25C, LOC441052, PHTF2, EFHC1, FANCG, TNCRNA, PAQR4, HN1, RANGAP1, CCNF, PCNA, TUBB, RP11-11C5.2, DKFZP762E1312, MND1, FU2S416, UBE2C, BARD1, CENPM, KNTC1, ADAMTS1, FAM72A, GAS2L3 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|----------------------------|--|
| IGF1_NIH3T3_UP | CYR61, GPD2, CSDA, SMAD5, PVALB, H3F3B, TWIST1, TNFRSF1A, IER3, SLC25A5, SOX2, ETF1, MYH3, WEE1, IL3RA, CSF1, SLC20A1, RBM13, ITGA5, PHLDA1, NFE2L2, IL4R, KIF1A, NAB2, GDNF, TUBB2B, FOXC2, ZFP90, MGP, VHL, SFRS2, NT5E, DAXX, TAGLN, SFRS3, LOC653441 |
| SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE | UBE2T, CDKL5, SPAG5, CKS1B, FEN1, RECQL4, PRIM2A, CDCA8, AMD1, MPHOSPH1, CCNB2, ILF2, MCM5, CASP3, KIAA1333, AURKA, YWHAH, TIMP1, TOP2A, MCM8, MCM6, TACC3, TYMS, H2AFX, CENPQ, TRIP13, CDC6, TUBB2C, CKAP2, NCAPH, FBXL20, FAM83D, MCM4, RRM1, IMNB1, KIAA1794, GMNN, WDR51A, KIF23, ABCC5, H2-ALPHA, DHFR, PLK1, CKAP2L, ITGB3, CENPA, EXO1, EZH2, PRIM1, CIITA, PBK, TUBA1, CENPF, MLF1IP, BUB1, UHRF1, RAD51AP1, CCNA2, GINS3, ASF18, FAM111B, HIST1H2AC, CDCA1, PSRC1, CDC2, KIAA1370, MELK, PTTG1, RFC4, NCAPD3, SMC4, HMMR, W5B1, GTSE1, LYAR, SCML1, ANKRD10, CKS2, FOXM1, MAD2L1, NALP2, USP1, MET, PPIH, DONSON, CDCA5, DLG7, KIFC1, ESC02, CDCA7, MLLT6, CDKN3, DEPDC1B, MAPK13, HELLS, G1NS2, SDC1, CDC25A, C130RF3, ANP32E, RRM2, C70RF41, ANLN, MBOAT1, KIAA0101, CTNNA1, FAM64A, ATAD2, SGCD, FANCA, TIPIN, PWP1, RFC2, TPX2, CCDC99, CDC25C, LOC441052, PHTF2, EFHC1, FANCG, TNCRNA, PAQR4, HN1, RANGAP1, CCNF, PCNA, TUBB, RP11-11C5.2, DKFZP762E1312, MND1, FU2S416, UBE2C, BARD1, CENPM, KNTC1, ADAMTS1, FAM72A, GAS2L3 |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|----------------------------|----------|--|
| IGF1_NIH3T3_UP | 11606465 | Dupont J, Khan J, Qu BH, Metzler P, Heiman L, LeRoith D |
| SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE | 14737219 | Chang HY, Sneddon JB, Alizadeh AA, Sood R, West RB, Montgomery K, Chi, van de Rijn M, Botstein D, Brown PO |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|--------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1642 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|--------------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|--------------------------|-----------------|---------------------------|--|
| SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP | L2L John Newman | Universidad de Washington | Grupo núcleo de genes regulados positivamente de manera regular después de exposición a suero en diversas líneas celulares de fibroblastos humanos (expresión más elevada en células activadas, no dependiente del ciclo celular). |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|--------------------------|---|
| SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP | <p>AB - La invasión y metástasis del cáncer se ha asociado con un mal resultado de curación de heridas. A pesar de paralelismos en el comportamiento celular entre el avance del cáncer y la curación de heridas las relaciones moleculares entre estos dos procesos y sus implicaciones en cuanto al pronóstico son inciertas. En este estudio basado en perfiles de expresión de genes de fibroblastos de 10 sitios anatómicos se identificó un programa de expresión de genes estereotipado en respuesta a exposición a suero que parece reflejar el papel multifaceta de fibroblastos en la curación de heridas. Los genes que comprenden esta respuesta al suero común de fibroblastos se regulan coordinadamente en muchos tumores humanos permitiéndonos identificar tumores con firmas de expresión de genes que sugieren heridas activas. Los genes inducidos en el programa de respuesta a suero con fibroblastos se expresaron en tumores por propias células tumorales, por fibroblastos asociados a tumores o ambos. Las características moleculares que definen este fenotipo similar a una herida son evidentes en una fase clínica precoz, persisten durante el tratamiento y se predice un riesgo aumentado de metástasis y muerte en carcinomas de mama, pulmón y gástrico. Por tanto, la firma transcripcional de la respuesta de fibroblastos al suero proporciona una posible relación entre el avance del cáncer y la curación de heridas así como un fuerte indicador de la evaluación clínica en diversos carcinomas comunes.</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|--------------------------|--|
| SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP | <p>SPFH1, UCK2, FARSLB, CENPJ, VIL2, C8ORF13, ACTC1, MAP3K8, ACTL6A, CBX1, EIF4EBP1, CHEK1, ITGA6, SNRPC, CDK2, RANBP1, GGH, SNRPB, C6ORF173, DBNDD1, C6ORF55, LSM3, PSMD12, DHFR, BRIP1, CORO1C, DTYMK, FARSLA, FLNC, UBE2J1, SPAG17, LPAL2, DUT, PSMC3, NUP35, STX3, DCBLD2, 1L7R, WDR77, H2AFZ, SLC25A40, PLOD2, EIF4G1, TIMM50, RPN1, NUOT15, SFRS2, MSN, C3ORF26, SNRPE, NCIN, STK17A, KIAA0090, NUDT1, WDHD1, PITPNC1, SNRPD1, TDP1, UAP1, FCRLA, MRPS16, MRPS28, MET, ENO1, LOC56902, NLN, MRPL12, POLE2, HSPC111, RAB3B, SDC1, PTS, CDCA4, TPRKB, HNRPA3, POLE3, PHF19, WDR54, SNRPA1, TPM2, DDX11, EPHB1, NOLA2, NUPL1, ANKR032, PDIA4, FU10292, LRRC40, PLAUR, SLC25A5, NUP85, COQ2, SSR3, PNN, HMGN2, RFC3, BRCA2, SAR1B, GNG11, TXNL2, RPP40, NDRG1, C11ORF24, MKKS, STRA13, RBMX, RNF41, HNRPR, EBNA1BP2, DCLRE1B, DNAJC9, GPLD1, PGM2, PSMA7, HYLS1, HAS2, TMEM48, PSMD14, LYPLA2, SMC2, JTV1, F3, DYNLT1, TMEM130, RNASEH2A, NPTN, MT3, C1ORF41, OLEU1, OLEU2, ID3, PFKP, CENPN, CEP78, HNRPAB, SMS, DCK, ID2, ST3GAL6, 1P04, RUVBL2, CLCF1, NUP93, TNFRSF12A, MGC42105, PSMD2, PCSK7, BCCIP, SNRPA, TUBA1, MTHFD1, ALKBH7, MNAT1, MCM7, CCDC5, MLF1IP, C13ORF1, COPB2, MCTS1, IFRD2, UCRC, SH3BP5L, SFRSIO, TFPI2, LYAR, C16GRF61, RNF138, GSTCD, MRPL37, FAM33A, EMP2, CRSP8, MYB12, PPIH, RGS13, CCT5, C190RF48, WSB2, TOMM40, PFN1, PAX9, PDDM7, PTPLB, C120RF24, FABPS, HMGB1, MT1F, EXOSC8, CSMD1, SMURF2, POLR3K, KRR1, LMNB2, CLORF33, C180RF24 MCM3, RUVBL1, UMPS, MAPRE1, LCTL, C160RF34, NRIP3, NUP107, CCND3, AADAFL1</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|--------------------------|--|
| SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP | SPFH1, UCK2, FARSLB, CENPJ, VIL2, C8ORF13, ACTC1, MAP3K8, ACTL6A, CBX1, EIF4EBP1, CHEK1, ITGA6, SNRPC, CDK2, RANBP1, GGH, SNRPB, C6ORF173, DBNDD1, C6ORF55, LSM3, PSMD12, DHFR, BRIP1, CORO1C, DTYMK, FARSLA, FLNC, UBE2J1, SPAG17, LPAL2, DDX1, PSMC3, NUP35, STX3, DCBLD2, 1L7R, WDR77, H2AFZ, SLC25A40, PLOD2, EIF4G1, TIMM50, RPN1, NUOT15, SFRS2, MSN, C3ORF26, SNRPE, NCIN, STK17A, KIAA0090, NUDT1, WDHD1, PITPNC1, SNRPD1, TDP1, UAP1, FCRLA, MRPS16, MRPS28, MET, ENO1, LOC56902, NLN, MRPL12, POLE2, HSPC111, RAB3B, SDC1, PTS, CDCA4, TPRKB, HNRPA3, POLE3, PHF19, WDR54, SNRPA1, TPM2, DDX11, EPHB1, NOLA2, NUPL1, ANKR032, PDIA4, FU10292, LRRC40, PLAUR, SLC25A5, NUP85, COQ2, SSR3, PNN, HMGN2, RFC3, BRCA2, SAR1B, GNG11, TXNL2, RPP40, NDRG1, C11ORF24, MKKS, STRA13, RBMX, RNF41, HNRPR, EBNA1BP2, DCLRE1B, DNAJC9, GPLD1, PGM2, PSMA7, HYLS1, HAS2, TMEM48, PSMD14, LYPLA2, SMC2, JTV1, F3, DYNLT1, TMEM130, RNASEH2A, NPTN, MT3, C1ORF41, OLEU1, OLEU2, ID3, PFKP, CENPN, CEP78, HNRPAB, SMS, DCK, ID2, ST3GAL6, 1P04, RUVBL2, CLCF1, NUP93, TNFRSF12A, MGC42105, PSMD2, PCSK7, BCCIP, SNRPA, TUBA1, MTHFD1, ALKBH7, MNAT1, MCM7, CCDC5, MLF1IP, C13ORF1, COPB2, MCTS1, IFRD2, UCRC, SH3BP5L, SFRSIO, TFPI2, LYAR, C16GRF61, RNF138, GSTCD, MRPL37, FAM33A, EMP2, CRSP8, MYB12, PPIH, RGS13, CCT5, C190RF48, WSB2, TOMM40, PFN1, PAX9, PDDM7, PTPLB, C120RF24, FABPS, HMGB1, MT1F, EXOSC8, CSMD1, SMURF2, POLR3K, KRR1, LMNB2, CLORF33, C180RF24 MCM3, RUVBL1, UMPS, MAPRE1, LCTL, C160RF34, NRIP3, NUP107, CCND3, AADACL1 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|------------------------------|----------|--|
| SERUM_FIBROBLAST_C ORE_UP | 14737219 | Chang HY, Sneddon JB, Alizadeh AA, Sood R, West RB, Montgomery K, Chi, van de Rijn M, Botstein D, Brown PO |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|-------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| CHANG_SERUM_RESPONSE_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:823 | Humano |
| OLDAGE_DN | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1583 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|-------------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| CHANG_SERUM_RESPONSE_UP | | GENE_SYMBOL | c2 |
| OLDAGE_DN | | GENE_SYMBOL | c2 |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|-------------------------|-----------------|---------------------------|--|
| CHANG_SERUM_RESPONSE_UP | Jean Junior | Instituto Broad | Firma CSR (respuesta a suero) para genes activados (Standford) |
| OLDAGE_DN | L2L John Newman | Universidad de Washington | Fibroblastos regulados negativamente de individuos de edad avanzada, en comparación con individuos jóvenes |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|-------------------------|---|
| CHANG_SERUM_RESPONSE_UP | <p>AB - La invasión y metástasis del cáncer se ha asociado con un mal resultado de curación de heridas. A pesar de paralelismos en el comportamiento celular entre el avance del cáncer y la curación de heridas las relaciones moleculares entre estos dos procesos y sus implicaciones en cuanto al pronóstico son inciertas. En este estudio basado en perfiles de expresión de genes de fibroblastos de 10 sitios anatómicos se identificó un programa de expresión de genes estereotipado en respuesta a exposición a suero que parece reflejar el papel multifaceta de fibroblastos en la curación de heridas. Los genes que comprenden esta respuesta al suero común de fibroblastos se regulan coordinadamente en muchos tumores humanos permitiéndonos identificar tumores con firmas de expresión de genes que sugieren heridas activas. Los genes inducidos en el programa de respuesta a suero con fibroblastos se expresaron en tumores por propias células tumorales, por fibroblastos asociados a tumores o ambos. Las características moleculares que definen este fenotipo similar a una herida son evidentes en una fase clínica precoz, persisten durante el tratamiento y se predice un riesgo aumentado de metástasis y muerte en carcinomas de mama, pulmón y gástrico. Por tanto, la firma transcripcional de la respuesta de fibroblastos al suero proporciona una posible relación entre el avance del cáncer y la curación de heridas así como un fuerte indicador de la evaluación clínica en diversos carcinomas comunes.</p> |
| OLDAGE_DN | <p>AB – Los niveles de ARN mensajero se midieron en fibroblastos activamente divididos aislados de seres humanos de edad media joven y avanzada y seres humanos con progeria, un raro trastorno genético caracterizado por un envejecimiento acelerado. Se identificaron genes cuya expresión está asociada con fenotipos y enfermedades relacionados con la edad. Estos datos también sugieren que un mecanismo subyacente del proceso de envejecimiento implica aumentar los errores en la maquinaria mitótica de las células en división en la fase postreproductora de la vida. Se propone que esta alteración conduce a patologías cromosómicas que dan como resultado la falta de regulación de genes implicados en los procesos de envejecimiento</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|-------------------------|--|
| CHANG_SERUM_RESPONSE_UP | UMPK, ENIGMA, SDFR1, CENPJ, VIL2, MAP3K8, MGC3101, CBX1, EIF4EBP1, CHEK1, KIAA0095, FFGA6, HSU79274, SNRPC, MGC10200, CDK2, STK18, SNRP8, GGH, LSM3, PSMD12, PDAP1, FU10036, MGC11266, FARSL, MCT-1, DHFR, KIAA1363, BRIP1, CORO1C, MGC13170, FLNC, VDAC1, U8E2J1, LSM4, OUT, PSMC3, ARHC, HRI, BM039, 1L7R, H2AFZ, MY16, LOC51128, Clorf33, PLOD2, EIF4G1, RPN1, SFRS2, MSN, C6orf55, SNRPE, STK17A, NUTF2, KIAA0090, NUDT1, SSSCA1, PITPNC1, SNRPD1, LOC115106, LOXL2, UAP1, MGC10974, MRPS16, CGI-121, MRPS28, MET, ENO1, LOC56902, NLN, MRPL12, LOC56926, POLE2, HSPC111, FU10407, SDC1, COPS6, PTS, MGC14480, CDCA4, FU32915, SNRPA1, HN1L, TPM2, EPHB1, KE04, NOLA2, SRM, NUPL1, FU10292, C13orf1, PLAUR, SLC25A5, SSR3, PNN, HMGN2, BRCA2, MYCBP, RFC3, GNG11, TXNL2, ESDN, FU30532, MKKS, RBMX, HNRPR, EBNA1BP2, RNF41, DCLRE1B, FAICS, TIM50L, OIP2, 6PLD1, PSMA7, HAS2, DKFZp761L1417, PSMD14, NME1, Cilorf4, SLC16A1, JTV1, FU23468, FU20331, PCNT1, F3, LOC129401, PA2G4, RNASEH2A, MT3, DLEU1, FU10983, ID3, DLEU2, PFKP, TCTEL1, CL640, EEF1E1, DCK, SMS, KIAA1720, TAGLN, ID2, IP04, FRSB, DC13, COTL1, TOFRSF12A, PSMD2, LOC201562, PCSK7, BCCIP, Cilorf24, SNRPA, TUBA1, MTHFD1, MCM7, MNAT1, MEP50, IFRD2, FU12643, SFRS10, C8orf13, TFP12, HRB2, LYAR, RNF138, MRP137, RNASEP1, HNRPA2B1, EMP2, MYBL2, PPIH, COX17, ERP70, TUB61, CCT5, BAF53A, WSB2, MYBL1, TOMM40, PFN1, RBM14, IMP4, HMGB1, MTIF, CKLF, MTH2, DKFZP727G051, TPM1, MGC4825, SMURF2, POLR3K, SMC2L1, LMNB2, MCM3, FU12953, RUVBL1, LOC51668, AND-3, UMPS, MAPRE1, MGC4308, PL6, TPI1, TCEB1, NUP107, ADAMTS1, LOC93081 |
| OLDAGE_DN | HAS2, CENPA, NASP, CKS1B, PPP1CC, SAFB, FOXM1, PSMC6, APPBP1, CKAPS, CDH11, DDX39, MYBL2, PSMD11, CSE1L, KIF2C, H2AFX, CDC20, PSMC2, CTSC, HMGB2, HADH2, PTGS2, CENPF, UGCG, H2AFZ, KIF11, NUP88, CDC25B, IL8, CCNA2, RANBP1, CCNF, ATR, PSMD12, UBE2C, PSMA2, BARD1, KIF23, PARP1, PKMYT1, PSMA3, KIF14, MCM2, FBN2, POSTN, PLK1 |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|-------------------------|---|
| CHANG_SERUM_RESPONSE_UP | HAS2, PSMD14, CENPJ, VIL2, C8ORF13, NME1, SLC16A1, JTV1, F3, MAP3K8, CBX1, EIF4EBP1, PA2G4, RNASEH2A, CHEK1, MT3, 1TGA6, DLEU1, SNRPC, ID3, DLEU2, PFKP, CDK2, SNRPB, GGH, C6ORF55, LSM3, PDAP1, PSMD12, EEF1E1, SMS, DCK, DHFR, BRIP1, TAGLN, CORO1C, ID2, IP04, FLNC, VDAC1, UBE2J1, LSM4, DUT, PSMC3, COTL1, TNFRSF12A, PSMD2, PCSK7, IL7R, BCCIP, SNRPA, TUBA1, MTHFD1, MNAT1, MCM7, H2AFZ, C13ORF1, MYL6, IFRD2, PLOD2, EIF4G1, RPN1, SFRS10, SFRS2, MSN, SNRPE, STK17A, NUTF2, KIAA0090, NUDT1, TFPI2, SSSCA1, PITPNC1, SNRPD1, LYAR, LOXL2, UAP1, RNF138, MRPS16, MRPL37, HNRPA2B1, EMP2, MRPS28, MET, ENO1, PPIH, MYBL2, LOC56902, NLN, MRPL12, COX17, CCT5, TUBG1, MYBL1, WSB2, TOMM40, PFN1, HSPC111, POLE2, RBM14, SDC1, COPS6, IMP4, HMGB1, PTS, CDCA4, MT1F, CKLF, SNRPA1, TPM2, TPM1, SMURF2, EPHB1, POLR3K, NOLA2, SRM, NUPL1, LMNB2, C10RF33, FU10292, MCM3, PLAUR, RUVBL1, SLC25A5, PNN, SSR3, UMPS, HMG2, BRCA2, MYCBP, RFC3, MAPRE1, GN611, TXNL2, PLG, C11ORF24, MKKS, RBMX, TPL1, HNRPR, EBNA1BP2, RNF41, DCLRE1B, PAICS, TCEB1, NUP107, ADAMTS1, GPLD1, PSMA7 |
| OLDAGE_DN | HAS2, CENPA, NASP, CKS1B, PPP1CC, SAFB, FOXM1, PSMC6, APPBP1, CKAP5, CDH11, DDX39, MYBL2, PSMD11, CSE1L, KIF2C, H2AFX, CDC20, PSMC2, CTSC, HMGB2, HADH2, PTGS2, CENPF, UGCG, H2AFZ, KIF11, NUP88, CDC25B, IL8, CCNA2, RANBP1, CCNF, ATR, PSMD12, UBE2C, PSMA2, BARD1, KIF23, PARP1, PKMYT1, PSMA3, KIF14, MCM2, FBN2, POSTN, PLK1 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|-------------------------|----------|--|
| CHANG_SERUM_RESPONSE_UP | 14737219 | Chang HY, Sneddon JB, Alizadeh AA, Sood R, West R8, Montgomery K, Chi, van de Rijn M, Botstein D, Brown PO |
| OLDAGE_DN | 10741968 | Ly DH, Lockhart DJ, Lerner RA, Schultz PG |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| P21_P53_ANY_DN | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1601 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| P21_P53_ANY_DN | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------|-----------------|---------------------------|---|
| P21_P53_ANY_DN | L2L John Newman | Universidad de Washington | Regulado negativamente en cualquier momento (4-24 horas) después de expresión ectópica de p21 (CDJN1A) en células OvCa, dependientes de p53 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------|---|
| P21_P53_ANY_DN | <p>AB – En este estudio se usó transducción mediada por vectores adenovirales del gen p53 (rAd-p53) o el gen p21(WAF1/CIP1) (rAd-p21) para imitar la regulación positiva dependiente e independiente de p53 de p21 (WAF1/CIP1) dentro de una línea celular de cáncer de ovario humano 2774 y las líneas celulares derivadas 2774qw1 y 2774qw2. Se observó que rAd-p53 puede inducir la apoptosis en las células 2774 y 2774qw1 pero no en las células 2774qw2. Sorprendentemente, la sobreexpresión de p21(WAF1/CIP1) también desencadenó la apoptosis dentro de estas dos líneas celulares. Análisis de PCR de transcripción inversa cuantitativa reveló que la expresión diferencial de los genes BAX BCL2 y caspasa 3 específicos en células apoptóticas inducidas por rAd-p53 no se modificaba en células apoptóticas inducidas por rAd-p21 lo que sugería la apoptosis inducida por p21(WAF1/CIP1) a través de una ruta diferenciable de la apoptosis inducida por p53. Análisis de expresión de células 2774qw1 infectadas con rAd-p21 en 60 000 micromatrices de ADNc identificaron 159 genes en respuesta a la expresión de p21(WAF1/CIP1) en al menos un momento con un cambio de 2,5 veces como límite. La integración de los datos con los experimentos con micromatrices en paralelo con infección con rAd-p53 nos permitió extraer 66 genes aguas abajo de p53 y p21(WAF1/CIP1) y 93 genes en respuesta a la expresión de p21(WAF1/CIP1) en una ruta independiente de p53. Los genes en el conjunto anterior pueden desempeñar una función doble tanto en las rutas dependientes como independientes de p53 y los genes en el último grupo proporcionan una explicación molecular mecanística de la apoptosis inducida por p21(WAF1/CIP1) independiente de p53. Además, análisis de secuencia de promotor sugiere que la familia E2F de factores de transcripción es parcialmente responsable de la expresión diferencial de genes después de p21(WAF1/CIP1). Este estudio tiene una fuerte importancia hacia el entendimiento de la función de p21(WAF1/CIP1) en la apoptosis independiente de p53.</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------|---|
| P21_P53_ANY_DN | UBE2T, AURKB, NCAP6, ASPM, PRC1, TU8A3, SMC2, PARP2, HNRPA2B1, AURKA, BIRC2, DLG7, MCM6, TYMS, TUBB3, CDC25B, MCM4, KIAA1794, VEGF, MKI67, ANLN, C14ORF106, MCM2, CYR61, ATAD2, MCM3, CEP55, TRIM44, EX01, TPX2, CCDC99, SERPINI2, ZBTB5, PBK, ZNF84, TTK, HMGB2, MCM7, TCN2, RACGAP1, BUB1, TUBB4, FAT2, CDC2, UBE2C, KNTC1, WDHD1, NCAPD3, NPM1 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------|---|
| P21_P53_ANY_DN | UBE2T, AURKB, NCAP6, ASPM, PRC1, TU8A3, SMC2, PARP2, HNRPA2B1, AURKA, BIRC2, DLG7, MCM6, TYMS, TUBB3, CDC25B, MCM4, KIAA1794, VEGF, MKI67, ANLN, C14ORF106, MCM2, CYR61, ATAD2, MCM3, CEP55, TRIM44, EX01, TPX2, CCDC99, SERPINI2, ZBTB5, PBK, ZNF84, TTK, HMGB2, MCM7, TCN2, RACGAP1, BUB1, TUBB4, FAT2, CDC2, UBE2C, KNTC1, WDHD1, NCAPD3, NPM1 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------|----------|--|
| P21_P53_ANY_DN | 12138103 | Wu Q, Kirschmeier P, Hockenberry T, Yang TY, Brassard DL, Wang L, McClanahan T, Black S, Ri2zi G, Musco ML, Mirza A, Liu S |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| P21_P53_ANY_DN | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1602 | Humano |

5

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------|------------------------------|-------------|---------------------|
| P21_P53_EARLY_DN | | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------|-----------------|---------------------------|---|
| P21_P53_EARLY_DN | L2L John Newman | Universidad Washington de | Regulado negativamente en momentos precoces (4-8 horas) después de expresión ectópica de p21 (CDKN1A) en células OvCa, dependiente de p53 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------|--|
| P21_P53_EARLY_DN | <p>AB – En este estudio se usó transducción mediada por vectores adenovirales del gen p53 (rAd-p53) o el gen p21(WAF1/CIP1) (rAd-p21) para imitar la regulación positiva dependiente e independiente de p53 de p21 (WAF1/CIP1) dentro de una línea celular de cáncer de ovario humano 2774 y las líneas celulares derivadas 2774qw1 y 2774qw2. Se observó que rAd-p53 puede inducir la apoptosis en las células 2774 y 2774qw1 pero no en las células 2774qw2. Sorprendentemente, la sobreexpresión de p21(WAF1/CIP1) también desencadenó la apoptosis dentro de estas dos líneas celulares. Análisis de PCR de transcripción inversa cuantitativa reveló que la expresión diferencial de los genes BAX BCL2 y caspasa 3 específicos en células apoptóticas inducidas por rAd-p53 no se modificaba en células apoptóticas inducidas por rAd-p21 lo que sugería la apoptosis inducida por p21(WAF1/CIP1) a través de una ruta diferenciable de la apoptosis inducida por p53. Análisis de expresión de células 2774qw1 infectadas con rAd-p21 en 60 000 micromatrices de ADNc identificaron 159 genes en respuesta a la expresión de p21(WAF1/CIP1) en al menos un momento con un cambio de 2,5 veces como límite. La integración de los datos con los experimentos con micromatrices en paralelo con infección con rAd-p53 nos permitió extraer 66 genes aguas abajo de p53 y p21(WAF1/CIP1) y 93 genes en respuesta a la expresión de p21(WAF1/CIP1) en una ruta independiente de p53. Los genes en el conjunto anterior pueden desempeñar una función doble tanto en las rutas dependientes como independientes de p53 y los genes en el último grupo proporcionan una explicación molecular mecánica de la apoptosis inducida por p21(WAF1/CIP1) independiente de p53. Además, análisis de secuencia de promotor sugiere que la familia E2F de factores de transcripción es parcialmente responsable de la expresión diferencial de genes después de p21(WAF1/CIP1). Este estudio tiene una fuerte importancia hacia el entendimiento de la función de p21(WAF1/CIP1) en la apoptosis independiente de p53.</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------|--|
| P21_P53_EARLY_DN | CYR61, NCAPG, TCN2, RACGAP1, PRC1, TPX2, CDC2, UBE2C, MK167, AURKA, BSRC2, DLG7, TTK |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---------------------|--|
| P21_P53_EARLY_DN | CYR61, NCAPG, TCN2, RACGAP1, PRC1, TPX2, CDC2, UBE2C, MK167, AURKA, BSRC2, DLG7, TTK |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------|----------|--|
| P21_P53_EARLY_DN | 12138103 | Wu Q, Kirschmeier P, Hockenberry T, Yang TY, Brassard DL, Wang L, McClanahan T, Black S, Rizzi G, Musco ML, Mirza A, Liu S |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|-----------------------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|--------------|
| P21_P53_MIDDLE_DN | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:1604 | Humano |
| HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION | msigdb | V2.5 | 24-Mar-08 | c2:1939 | Homo sapiens |

| NOMBRE CONVENCIONAL | <u>URL DETALLES EXTERNOS</u> | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|-----------------------------------|---|-------------|---------------------|
| P21_P53_MIDDLE_DN | | GENE_SYMBOL | c2 |
| HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION | http://www.kegg.jp/dbget-bin/show_pathway?HSA04512 | GENE_SYMBOL | c2 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|-----------------------------------|-----------------|---------------------------|---|
| P21_P53_MIDDLE_DN | L2L John Newman | Universidad de Washington | Regulado negativamente en momentos intermedios (12-16 horas) después de expresión ectópica de p21 (CDKN1A) en células OvCa, dependientes de p53 |
| HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION | KEGG | KEGG | Genes implicados en la interacción ECM-receptor |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|-----------------------------------|--|
| P21_P53_MIDDLE_DN | <p>AB – En este estudio se usó transducción mediada por vectores adenovirales del gen p53 (rAd-p53) o el gen p21(WAF1/CIP1) (rAd-p21) para imitar la regulación positiva dependiente e independiente de p53 de p21 (WAF1/CIP1) dentro de una línea celular de cáncer de ovario humano 2774 y las líneas celulares derivadas 2774qw1 y 2774qw2. Se observó que rAd-p53 puede inducir la apoptosis en las células 2774 y 2774qw1 pero no en las células 2774qw2. Sorprendentemente, la sobreexpresión de p21(WAF1/CIP1) también desencadenó la apoptosis dentro de estas dos líneas celulares. Análisis de PCR de transcripción inversa cuantitativa reveló que la expresión diferencial de los genes BAX BCL2 y caspasa 3 específicos en células apoptóticas inducidas por rAd-p53 no se modificaba en células apoptóticas inducidas por rAd-p21 lo que sugería la apoptosis inducida por p21(WAF1/CIP1) a través de una ruta diferenciable de la apoptosis inducida por p53. Análisis de expresión de células 2774qw1 infectadas con rAd-p21 en 60 000 micromatrices de ADNc identificaron 159 genes en respuesta a la expresión de p21(WAF1/CIP1) en al menos un momento con un cambio de 2,5 veces como límite. La integración de los datos con los experimentos con micromatrices en paralelo con infección con rAd-p53 nos permitió extraer 66 genes aguas abajo de p53 y p21(WAF1/CIP1) y 93 genes en respuesta a la expresión de p21(WAF1/CIP1) en una ruta independiente de p53. Los genes en el conjunto anterior pueden desempeñar una función doble tanto en las rutas dependientes como independientes de p53 y los genes en el último grupo proporcionan una explicación molecular mecánica de la apoptosis inducida por p21(WAF1/CIP1) independiente de p53. Además, análisis de secuencia de promotor sugiere que la familia E2F de factores de transcripción es parcialmente responsable de la expresión diferencial de genes después de p21(WAF1/CIP1). Este estudio tiene una fuerte importancia hacia el entendimiento de la función de p21(WAF1/CIP1) en la apoptosis independiente de p53.</p> |
| HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|-----------------------------------|--|
| P21_P53_MIDDLE_DN | <p>UBE2T, AURKB, ASPM, MCM3, ATAD2, CEP55, TUBA3, SMC2, EXO1, CCDC99, PBK, ZNF84, TYMS, TUBB3, HMGB2, MCM7, BUB1, CDC25B, TUBB4, MCM4, VEGF, ANLN, KNTC1, WDHD1, NCAPD3</p> |
| HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION | <p>LAMC3, CHAD, COL1A1, COL1A2, COL2A1, COL3A1, COL4A1, COL4A2, COL4A4, COL4A6, COL5A1, COL5A2, COL6A1, COL6A2, COL6A3, COL11A1, COLUA2, COL6A6, DAG1, IAMB4, 1TGA11, FNDC3A, SV2C, FN1, FNDC5, GP1BA, GP1BB, GP5, GP9, LAMA1, HMMR, HSPG2, TNC, IBSP, ITGA6, ITGA1, ITGA2, 1TGA2B, ITGA3, ITGA4, ITGA5, ITGA7, ITGA9, ITGAV, ITGB1, ITGB3, ITGB4, ITGB5, 1TGB6, ITGB7, ITGB8, AGRN, LAMA2, LAMA3, IAMA4, LAMA5, LAMB1, LAMB2, LAMB3, LAMC1, LAMC2, COLSA3, GP6, RELN, SDC1, 5DC2, SDC4, TNN, FNDC4, SPP1, THBS1, THBS2, THBS3, THBS4, TNR, TNXB, VTN, VWF, FNDC1, ITGA10, ITGA8, CD36, CD44, CD47, SDC3, SV2B, SV2A</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|-----------------------------------|---|
| P21_P53_MIDDLE_DN | UBE2T, AURKB, ASPM, MCM3, ATAD2, CEP55, TUBA3, SMC2, EXO1, CCDC99, PBK, ZNF84, TYMS, TUBB3, HMGB2, MCM7, BUB1, CDC25B, TUBB4, MCM4, VEGF, ANLN, KNTC1, WDHD1, NCAPD3 |
| HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION | LAMC3, CHAD, COL1A1, COL1A2, COL2A1, COL3A1, COL4A1, COL4A2, COL4A4, COL4A6, COL5A1, COL5A2, COL6A1, COL6A2, COL6A3, COL11A1, COLUA2, COL6A6, DAG1, IAMB4, ITGA11, FNDC3A, SV2C, FN1, FNDC5, GP1BA, GP1BB, GP5, GP9, LAMA1, HMMR, HSPG2, TNC, IBSP, ITGA6, ITGA1, ITGA2, 1TGA2B, ITGA3, ITGA4, ITGA5, ITGA7, ITGA9, ITGAV, ITGB1, ITGB3, ITGB4, ITGB5, 1TGB6, ITGB7, ITGB8, AGRN, LAMA2, LAMA3, IAMA4, LAMA5, LAMB1, LAMB2, LAMB3, LAMC1, LAMC2, COLSA3, GP6, RELN, SDC1, 5DC2, SDC4, TNN, FNDC4, SPP1, THBS1, THBS2, THBS3, THBS4, TNR, TNXB, VTN, VWF, FNDC1, ITGA10, ITGA8, CD36, CD44, CD47, SDC3, SV2B, SV2A |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|-----------------------------------|----------|--|
| P21_P53_MIDDLE_DN | 12138103 | Wu Q, Kirschmeier P, Hockenberry T, Yang TY, Brassard DL, Wang L, McClanahan T, Black S, Rizzi G, Musco ML, Mirza A, Liu S |
| HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION | | Kanehisa, M., Araki, M., Goto, S., Hattori, M., Hirakawa, M., Itoh, M., Katayama, T., Kawashima, S., Okuda, S., Tokimatsu, T., Yamanishi, Y. |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---------------------|--------|---------|-----------------------|--------------------|-----------|
| MENSE_HYPOXIA_UP | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c2:915 | Humano |

| NOMBRE CONVENCIONAL | URL DETALLES EXTERNOS | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---------------------|-----------------------|------------|---------------------|
| MENSE_HYPOXIA_UP | | AFFYMETRIX | c2 |

5

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---------------------|-----------------|---------------------------|--|
| MENSE_HYPOXIA_UP | Kevin Vogelsang | Instituto Broad | Listado de genes inducidos por hipoxia encontrados en astrocitos y en células HeLa |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---------------------|---|
| MENSE_HYPOXIA_UP | <p>AB – El oxígeno es vital para el desarrollo y supervivencia de mamíferos. En respuesta a hipoxia el cerebro inicia numerosas respuestas adaptativas a nivel orgánico así como a niveles molecular y celular incluyendo la modificación de la expresión génica. Los astrocitos desempeñan funciones críticas en el correcto funcionamiento del cerebro por lo tanto la manera en que los astrocitos responden a hipoxia es probablemente importante en la determinación del resultado de la hipoxia cerebral. En este documento se utilizó perfilado de expresión de genes con micromatriz y algoritmos de análisis de datos para identificar y analizar genes sensibles a hipoxia en astrocitos humanos primarios. También se compararon modelos de expresión de genes en astrocitos con los de células HeLa humanas y células endoteliales (CE) de la arteria pulmonar. De manera notable en los astrocitos se indujeron cinco veces más genes que se suprimieron mientras que en EC pulmonar y HeLa tantos o más genes se suprimieron que se indujeron. Más genes que codifican funciones inducibles por hipoxia tales como enzimas glucolíticas y factores de crecimiento angiogénicos se indujeron fuertemente en astrocitos en comparación con células HeLa. Adicionalmente la ontología génica y algoritmos computacionales revelaron que muchos genes diana de las rutas de señalización de EGF e insulina y reguladores transcripcionales Myc Jun y p53 se modifican selectivamente por hipoxia en astrocitos. De hecho un análisis de transferencia de Western confirmó que se activaban dos traductores de señal principales que mediaban la acción de insulina y EGF Akt y MEK1/2 mediante hipoxia en astrocitos. Estos resultados proporcionan una visión global de la señalización y red reguladora que media la regulación de oxígeno en astrocitos humanos.</p> |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------|---|
| MENSE_HYPOXIA_UP | <p>228500_at, 229879_at, 227299_at, 211162_x_at, 239474_at, 226390_at, 226099_at, 215078_at, 203282_at, 212665_at, 220482_s_at, 226452_at, 201848_s_at, 202934_at, 224708_at, 207543_s_at, 219888_at, 244604_at, 235592_at, 227368_at, 201169_s_at, 223746_at, 218651_s_at, 242669_at, 1554008_at, 217739_s_at, 202140_s_at, 226348_at, 227868_at, 1556715_at, 221845_s_at, 209984_at, 214978_s_at, 59625_at, 213397_x_at, 205158_at, 203439_s_at, 218498_s_at, 202672_s_at, 227501_at, 221478_at, 213861_s_at, 1565906_at, 211974_x_at, 218507_at, 201627_s_at, 203725_at, 203574_at, 220942_x_at, 230710_at, 222646_s_at, 202014_at, 202733_at, 235850_at, 231242_at, 202912_at, 242310_at, 214073_at, 204298_s_at, 201313_at, 215446_s_at, 243659_at, 36711_at, 210426_x_at, 217047_s_at, 238482_at, 221567_at, 209122_at, 236513_at, 216236_s_at, 239159_at, 207079_s_at, 212722_s_at, 221985_at, 1553976_a_at, 212501_at, 218325_s_at, 202498_s_at, 224314_s_at, 225898_at, 227539_at, 232293_at, 202129_s_at, 214482_at, 232628_at, 241342_at, 202464_s_at, 235226_at, 45714_at, 227337_at, 242449_at, 207785_s_at, 202364_at, 202022_at, 242523_at, 242758_x_at, 221479_s_at, 1556357_s_at, 223046_at, 205141_at, 217738_at, 224602_at, 212496_s_at, 224345_x_at, 208308_s_at, 212689_s_at, 204284_at, 200737_at, 1558164_s_at, 234970_at, 203973_s_at, 221009_s_at, 1556697_at, 1555167_s_at, 221841_s_at, 210513_s_at, 206307_s_at, 203192_at, 228499_at, 226863_at, 209566_at, 202620_s_at, 235737_at, 202973_x_at, 211527_x_at, 200632_s_at, 223193_x_at, 236545_at, 221497_x_at</p> |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---------------------|--|
| MENSE_HYPOXIA_UP | ATF3, FAM119B, PRP5AP1, PEX13, CDC2L6, RBPSUH, TMEM65, RNASE4, CEBPD, ABCB6, HK2, PFKFB3, MTAC2D1, SPAG4, JMJD1A, ELL2, PDK1, RORA, SOD2, GOSR2, UFM1, JMJD2C, LOC285513, LCORL, NFIL3, CTTN, MGC21644, OSMR, STARD4, HCFC1R1, PTDSR, ADM, BNIP3, EROIL, GADD45A, ERICH1, STC2, FAM110C, FOXD1, ANG /// RNASE4, RAB40C, C3ORF28, MAFF, PLOD2, PBEF1, LOC400027, 6Pi, ANGPTL4, BNIP3L, WSB1, SERGEF, PGK1, KIAA2013, THAP8, RP11-529I10.4, SLC6A6, ENO2, PPP1R15A, SCD, KLF7, MXI1, LOC154761, LOX, WDR5B, CLPB, EGLN1, KLHL24, FAM13A1, VEGF, FNBP1L, WDR54, ALDOC, NOL3, P4HA1, JMJD2B, NADSYN1, BHLHB2, CCNI, CLK3, BHLHB3, TIPARP, HIG2, PBEF1 /// LOC646309, P4HA2, TSLP, DIDO1, PPP3CA, ADFP, MED6, CEBPB, INSIG1, NDRG1, SLC2A3, RIOK3, INSIG2, PPP1R3C, LOC402152, KLF4, PFKFB4, STK4, ASPH, C60RF166, ANKRD37, LARP6, PPFIA4, GBE1, ZBTB25 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---------------------|----------|---|
| MENSE_HYPOXIA_UP | 16507782 | Mense SM, Sengupta A, Zhou M, Lan C, Bentsman G, Volsky DJ, Zhang L |

| NOMBRE CONVENCIONAL | NOMBRE | VERSIÓN | FECHA DE CONSTRUCCIÓN | NOMBRE SISTEMÁTICO | ORGANISMO |
|---|--------|---------|-----------------------|--------------------|--------------|
| POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c5:112 | Homo sapiens |
| REGULATION_OF_CELL_MIGRATION | msigdb | V2.5 | 24-marzo-08 | c5:292 | Homo sapiens |

| NOMBRE CONVENCIONAL | URL DETALLES EXTERNOS | MICROPLACA | CÓDIGO DE CATEGORÍA |
|---|---|-------------|---------------------|
| POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION | http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=terms&depth=0&query=GO:0008284 | GENE_SYMBOL | c5 |
| REGULATION_OF_CELL_MIGRATION | http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=terms&depth=0&query=GO:0030334 | GENE_SYMBOL | c5 |

| NOMBRE CONVENCIONAL | COLABORADOR | ORGANIZACIÓN COLABORADORA | BREVE DESCRIPCIÓN |
|---|---------------|---------------------------|---|
| POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION | Gene Ontology | Gene Ontology | Los genes se indican mediante el término GO:0008284. Cualquier proceso que active o aumente la tasa o grado de proliferación celular. |
| REGULATION_OF_CELL_MIGRATION | Gene Ontology | Gene Ontology | Los genes se indican mediante el término GO:0030334. Cualquier proceso que module la frecuencia, tasa o grado de migración celular. |

| NOMBRE CONVENCIONAL | DESCRIPCIÓN COMPLETA |
|---|----------------------|
| POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION | |
| REGULATION_OF_CELL_MIGRATION | |

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS |
|---|---|
| POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION | ADRA1D, ADRA2A, ALOX12, RH06, BCGF1, BNC1, BTC, CAPN1, CAPNS1, CCKBR, CD86, CD47, CD81, CDC25B, CDK2, CHRM1, CHRNA7, CSF1, CSF3, CTF1, DDX11, DHPS, EDG3, EDN1, EGR4, PTK2B, FGF4, FGF7, FIGF, FLT1, FLT3, FLT3LG, FLT4, GUI, HCLS1, HOXC10, HTR1A, I6F1, IGF1R, IL2, IL3, IL6, IL7, 1L9, IL8RB, IL11, 1L12RB1, OL2RB2, IL15, CXCL10, LIF, LRP5, IYN, MATK, MST1R, MYC, NAP1L1, NOL1, PDGFA, PGF, POU3F2, PRTN3, PTHLH, PTN, REG1A, TSPAN31, CLEC11A, CCL14, CXCL5, SLAMF1, SSR1, TBX2, TBX3, TDGF1, TGFB2, TGFB1, TGF8R2, TIMP1, TSHR, TTK, TNFSF4, VEGFA, VEGFB, VIP, VIPR1, FOSL1, CDC7, CUL3, CDC2L5, TNFSF13, TNFRSF11A, FGF18, NRP1, CDC123, TBRG4, EDG5, GLP2R, CIAO1, PBEF1, DNAJA2, TGRG1, STAMPB, TNFSF13B, FGFRIOP, TBC1D8, MCTS1, SERTAD1, DERL2, T1PIN, SIRPG, MARK4, PDF, 1L31RA, SPDYA, FGF10, CD3E, CD28, IL4, NCK1, PTPRC, NCK2, IL21, CD276, ANG, CDH13, SCG2, TNFSF12, AG6F1, ELA2, EREG, E6FR, ERBB2, LAMB1, LAMC1, NME1, NME2, TGFA, EPGN, LAMA1, EB13, CD24, SL12B, 1118, ICOSLG, BMI1, CDK4, CDK6, CDKN1A, NDUFS4, SPHK1 |
| REGULATION_OF_CELL_MIGRATION | ABI3, RTN4, PARD6B, NEXN, NF1, ACVRL1, ALOX15B, NF2, PTEN, SHH, TBXS, THY1, VCL, GTPBP4, CLIC4, BMP10, CENTD3, MIA3, CDH13, EGFR, IAMI, TDGF1, TRIP6, SPHK1, BCAR1, ANGPTL3, PLG, AMOT |

ES 2 405 605 T3

| NOMBRE CONVENCIONAL | MIEMBROS SIMBOLIZADOS |
|---|---|
| POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION | ADRA1D, ADRA2A, ALOX12, RH06, BCGF1, BNC1, BTC, CAPN1, CAPNS1, CCKBR, CD86, CD47, CD81, CDC25B, CDK2, CHRM1, CHRNA7, CSF1, CSF3, CTF1, DDX11, DHPS, EDG3, EDN1, EGR4, PTK2B, FGF4, FGF7, FIGF, FLT1, FLT3, FLT3LG, FLT4, GUI, HCLS1, HOXC10, HTR1A, I6F1, IGF1R, IL2, IL3, IL6, IL7, 1L9, IL8RB, IL11, 1L12RB1, OL2RB2, IL15, CXCL10, LIF, LRP5, IYN, MATK, MST1R, MYC, NAP1L1, NOL1, PDGFA, PGF, POU3F2, PRTN3, PTHLH, PTN, REG1A, TSPAN31, CLEC11A, CCL14, CXCL5, SLAMF1, SSR1, TBX2, TBX3, TDGF1, TGFB2, TGFB1, TGF8R2, TIMPI, TSHR, TTK, TNFSF4, VEGFA, VEGFB, VIP, VIPR1, FOSL1, CDC7, CUL3, CDC2L5, TNFSF13, TNFRSF11A, FGF18, NRP1, CDC123, TBRG4, EDG5, GLP2R, CIAO1, PBEF1, DNAJA2, TGRG1, STAMPB, TNFSF13B, FGFRIOP, TBC1D8, MCTS1, SERTAD1, DERL2, T1PIN, SIRPG, MARK4, PDF, 1L31RA, SPDYA, FGF10, CD3E, CD28, IL4, NCK1, PTPRC, NCK2, IL21, CD276, ANG, CDH13, SCG2, TNFSF12, AG6F1, ELA2, EREG, E6FR, ERBB2, LAMB1, LAMC1, NME1, NME2, TGFA, EPGN, LAMA1, EB13, CD24, SL12B, 1118, ICOSLG, BMI1, CDK4, CDK6, CDKN1A, NDUFS4, SPHK1 |
| REGULATION_OF_CELL_MIGRATION | ABI3, RTN4, PARD6B, NEXN, NF1, ACVRL1, ALOX15B, NF2, PTEN, SHH, TBXS, THY1, VCL, GTPBP4, CLIC4, BMP10, CENTD3, MIA3, CDH13, EGFR, IAMBI, TDGF1, TRIP6, SPHK1, BCAR1, ANGPTL3, PLG, AMOT |

| NOMBRE CONVENCIONAL | PMID | AUTORES |
|---|------|--|
| POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION | | Ashburner M, Bail CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry J M, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issei-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G. |
| REGULATION_OF_CELL_MIGRATION | | Ashburner M, Bail CA, Biake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issei-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G. |

5 Considerando en su conjunto los anteriores resultados definen una jerarquía de diferenciación en un cultivo primario de NSCLC e indican que la diferenciación del ácido retinoico puede invertir parcialmente el perfil tumorigénico.

Ejemplo 4

Identificación de células iniciadoras de tumores

En xenoinjertos de células de cáncer pulmonar no microcítico

5 Se prepararon líneas de xenoinjerto primario usando ratones hembra, atímicos nu/nu (desnudos) y NOD-SCID (18-23 g) obtenidos de Charles River de Wilmington, Massachusetts, Estados Unidos. Para evaluar el potencial tumorigénico de las células clasificadas, las células se implantaron en Matrigel al 50% (BD Biosciences) subcutáneamente entre las escápulas. Típicamente, para H460T y HCC2429, se implantaron 100 células separadas por ratón desnudo. Para la línea 37622, se implantaron 2500 células por ratón desnudo. Para la línea 60257, se implantaron 5000 células por ratón nod-scid. Los tumores se midieron al menos una vez a la semana con un volumen tumoral = 0,5 x (anchura tumoral²) x (longitud tumoral). Cada línea tumoral se propagó explantando un fragmento del xenoinjerto resultante en los nuevos animales y por tanto se mantuvo exclusivamente *in vivo*. En cada línea, la histología de los xenoinjertos se asemejó a la del tumor original. Las muestras se crioconservaron de tal manera que los experimentos pudieron realizarse y repetirse en xenoinjertos de pases más bajos.

15 Se realizó análisis inmunohistoquímico de implantes primarios usando técnicas convencionales y revelaron expresión heterogénea de 5T4. En líneas de implante múltiples la mayor expresión de 5T4 se observó en la interfaz tumor-estroma. En xenoinjertos preparados usando células 37622, se observó un patrón de tinción similar para la vimentina, un marcador de la transición epitelial-mesenquimal de diferenciación. La vimentina no se detectó en xenoinjertos preparados usando las células 60274.

20 La expresión de 5T4 heterogénea en xenoinjertos también se observó por citometría de flujo. Implantes de 37622 disociados mostraron distintas poblaciones 5T4^{alto} y 5T4^{bajo} que fueron evidentes entre las células humanas viables (Figura 8A). Cuando se estableció un cultivo asérico de 37622 xenoinjertos, todas las células expresaron 5T4 alto (Figura 8A), que fue coherente con las condiciones de cultivo que promueven el crecimiento de células madre. Cuando estas células se reimplantaron en animales, los tumores resultantes fueron heterogéneos para la expresión de 5T4 (Figura 8A).

25 Para determinar si la expresión de 5T4 estaba asociada con una mayor tumorigenicidad, como en H460T, se disociaron xenoinjertos de implante primario y se implantaron células aisladas por FACS en los animales. Las células 5T4^{alto} fueron más tumorigénicas que las células 5T4^{bajo} en líneas de implante 37622 y 60257 (Figura 8B).

Ejemplo 5

Biomarcadores adicionales de células iniciadoras de tumores

30 Las células recogidas de líneas celulares cultivadas (como se describe en los Ejemplos 1 y 2) se resuspendieron en tampón de lisis (QIAGEN de Valencia, California, Estados Unidos) y se purificó ARN total usando columnas QIAGEN RNEASY[®] siguiendo las instrucciones del fabricante. Para tumores de xenoinjerto (como se describe en el Ejemplo 4), en primer lugar muestras de tumores se modificaron mediante ultrasonidos en 3 ml de tampón de acetato sódico al 10%/guanidinio 4M enfriado con hielo (RNAGENTS[®], Promega de Madison, Wisconsin, Estados Unidos), se extrajo 2X con fenol/cloroformo-alcohol isoamílico (50:48:2) y el ARN se precipitó de la fase acuosa usando el mismo volumen de isopropanol. Posteriormente, el precipitado se resuspendió en tampón de lisis (QIAGEN) y el ARN total se purificó usando columnas QIAGEN RNEASY[®] siguiendo las instrucciones del fabricante.

40 Se sintetizó ADNc a partir de 10 µg de ARN total usando el kit SUPERSRIPT[®] Kit (Gibco BRL de Gaithersburg, Maryland, Estados Unidos) esencialmente como describen Byrne y col., en F. e. a. Ausubel, ed., Current Protocols in Molecular Biology, 2000, Nueva York: John Wiley and Sons, Inc. La síntesis de la primera cadena se realizó a 50 °C para impedir errores de cebado del ARN ribosomal y se utilizó un promotor de ARN polimerasa T7 que contenía el cebador de poli T (T7T24) para posterior amplificación del ARN antisentido *in vitro* (ARNc) y marcaje con biotina. El ADNc se purificó usando el módulo de limpieza de muestras de GENECHIP[®] (Affymetrix de Santa Clara California, Estados Unidos) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las reacciones de transcripción conducidas por T7 polimerasa *in vitro* para la síntesis y marcaje con biotina de ARNc antisentido utilizaron el kit de Reactivos de Amplificación 3' de Expresión GENECHIP[®] (Affymetrix de Santa Clara California, Estados Unidos) usando las instrucciones del fabricante. El ARNc sintetizado se purificó usando columnas QIAGEN RNEASY[®].

50 Para cada muestra, 10 µg de ARNc marcado con biotina se fragmentaron y se hibridaron con micromatrices oligonucleotídicas de Genoma Humano U133+2 de GENECHIP[®] (Affymetrix de Santa Clara, California, Estados Unidos) usando tampones y las condiciones recomendadas por el fabricante. Las micromatrices oligonucleotídicas GENECHIP[®] se lavaron y se tiñeron con R-ficoeritrina Estreptavidina (Molecular Probes de Eugene, Oregón, Estados Unidos), usando la Estación de Fluidos GENECHIP[®] 450 y se escaneó con un Escáner 3000 de Affymetrix GENECHIP[®] (Affymetrix de Santa Clara, California, Estados Unidos) usando las instrucciones del fabricante. Los datos de fluorescencia se recogieron y se convirtieron a intensidades de señal específica de genes usando el programa informático MicroArray Suite 5.0 (MASS) en el que la diferencia media de fluorescencia entre conjuntos de sondas de coincidencia perfecta y errores sencillos que contienen oligonucleótidos específicos de genes se usan para determinar la intensidad de señal de ARNm. Para el análisis, la intensidad de señal media del ARNm de

muestras duplicadas se determinó para cada uno de los grupos experimentales. Inicialmente los genes se filtraron para eliminar aquellas sondas en las que todas las muestras se denominaban ausentes mediante el programa informático MASS. Los valores de intensidad de señal media se compararon posteriormente entre los grupos experimentales para identificar genes con un cambio promedio en veces típicamente mayor de 2 veces.

- 5 Un número de genes se expresaron diferencialmente en las células iniciadoras de tumores, incluyendo los siguientes genes, que presentaron expresión elevada en células iniciadoras de tumores CD24^{-bajo}CD44⁺: TGFβRIII, Unc5D, PNPLA4, KCNJ2, GABRB3, DPYD, SPAG1, ICK, STC2, DEFβ1 y el gen previsto FLJ38736.

10 Los perfiles de expresión génica del cultivo primario en crecimiento y diferenciación (véase Ejemplo 3) también se compararon con los de las poblaciones H460T CD24^{-bajo}CD44⁺ y CD24^{alto}CD44⁺. Una fracción significativa de los genes que se expresaban a altos niveles durante la diferenciación del cultivo primario también se expresó a niveles más altos en las células CD24^{alto}CD44⁺ (FDR = 0,0015). Para comparación estadística de los conjuntos de datos H460T y 87426, los primeros 250 genes regulados positivamente en el cultivo 87426 diferenciado se compararon en las poblaciones H460T. La Figura 7D muestra la diferencia de expresión para los genes que están por encima del nivel de fondo en el conjunto de datos H460T. Un análisis estadístico produjo la Tasa de Descubrimiento Falso de 0,0015. Este análisis indica que estos sistemas experimentales muy diferentes son modelos fisiológicos de la diferenciación jerárquica en NSCLC. Los datos de micromatriz se confirmaron mediante citometría de flujo (Figuras 7E-7F). Por consiguiente, marcadores adicionales para el enriquecimiento o aislamiento de células iniciadoras de tumores, bien por selección positiva, mediante expresión de nivel bajo, o por empobrecimiento de células diferenciadas, incluyen aquellos indicados en las Tablas 1 y 2 (véase Ejemplo 3).

20 **Ejemplo 6**

Sox2 Regula la Diferenciación de Células Iniciadoras de Tumores en Cáncer de Pulmón

El perfil de expresión de genes se realizó en un panel de clones CD24^{-bajo}CD44⁺ para comparar los clones que transicionaban a CD24^{alto} con los clones que eran estables (>99% CD24^{-bajo}). Las células CD24^{-bajo}CD44⁺ se separaron de cada clon y se extrajo ARN para análisis de micromatriz como se describe en el Ejemplo 5.

- 25 Los perfiles de expresión de genes para clones CD24^{-bajo}CD44⁺ y clones de transición CD24^{-bajo}CD44⁺ fueron similares en su conjunto, pero los niveles de ARNm de algunos genes se correlacionaron con la eficacia de transición. Por ejemplo, los niveles de ARNm de Sox2 eran mayores en los clones de transición de lo que lo eran en los clones estables (Figura 9A). Sox2 es un factor de transcripción que es necesario para la pluripotencia y autorrenovación de las células madre (Avilion y col., Genes Dev., 2003, 17: 126-140; Boyer y col., Cell, 2005, 122: 947-956) y puede contribuir a la inducción de pluripotencia en células diferenciadas (Takahashi y Yamanaka, Cell, 2006, 126: 663-676). En células H460T parentales, Sox2 se expresó en las células iniciadoras de tumores CD24^{-bajo}CD44⁺ pero no en las células CD24^{alto}CD44⁺.

35 Para ensayar si Sox2 podría regular la transición de la expresión de CD24^{-bajo} a CD24^{alto}, se introdujo Sox2 exógeno en clones estables CD24^{-bajo}CD44⁺. Los vectores de expresión EX-T2547-M46 (Sox-2) y EX-M0425-M46 (Sox-11) de GeneCopoeia (Germantown, Maryland, Estados Unidos) se introdujeron en clones H460T con el programa T-020, solución V nucleofector de Amaxa (2 µg de ADN por 10⁶ células). Se transfectaron clones estables con la Etiqueta Sox2, etiqueta Sox11, el vector vacío o sin ADN. Cuarenta y ocho horas después de la transfección, se añadió G418 a 400 µg/ml. Las células se incubaron en G418 durante seis días y posteriormente sin G418. Se realizó análisis de inmunotransferencia como se describe en el Ejemplo 2, lo que confirmó la expresión de los transgenes indicados (Figura 9B). Después de una selección de 6 días en G418 y dos semanas adicionales en cultivo, los tres clones estables CD24^{-bajo}CD44⁺ mostraron grandes fracciones de células CD24^{alto}CD44⁺ después de transfección con Etiquetas Sox2 pero no con Etiquetas Sox11 o vector vacío (Figuras 9C-9D). Estos datos indican que Sox2 es suficiente para conducir la transición de CD24^{-bajo} a CD24^{alto}, lo que indica una función en la diferenciación de células iniciadoras de tumores multipotentes.

45 **Ejemplo 7**

Inhibición del crecimiento de células tumorales usando conjugados fármaco/anticuerpo anti-5T4

50 La población CD24^{-bajo}CD44⁺ era más sensible a un conjugado fármaco-anticuerpo anti-5T4 de lo que lo era la población CD24^{-bajo}CD44⁺ en un ensayo de viabilidad celular y un ensayo de crecimiento de colonias. Para cada ensayo, se prepararon conjugados de anticuerpo-caliquemina unidos a AcBut (AcBut – ácido AcBut-[4-(4-acetilfenoxi) butanoico]) como se ha descrito (Hamann y col., Bioconjug. Chem., 2002, 13: 47-58). El efecto del conjugado fármaco-anticuerpo anti-huH8 5T4 o conjugado fármaco-anticuerpo anti-CD22 en células separadas se evaluó usando un indicador de viabilidad celular ((3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfonil)-2H-tetrazolio (MTS) (Promega de Madison, Wisconsin, Estados Unidos) para determinar el número de células supervivientes después de exposición al tratamiento con fármaco. Las células se separaron 18 horas antes de comenzar el ensayo. Las células se sembraron en placas de microtitulación de 96 pocillos a una densidad de 10.000 células por pocillo y se expusieron a diversas concentraciones del fármaco. Después de la determinación del número de células viables que sobrevivían a 96 horas de exposición al fármaco, se calculó el valor CI₅₀ de cada tratamiento

basándose en parámetros de regresión logísticos derivados de curvas de respuesta a la dosis. Los valores CI_{50} se calcularon mediante regresión logística no lineal y se describieron como la concentración de caliqueamicina dimetil hidrazida (CalichDMH) para cada grupo de tratamiento que produce un 50% de pérdida de viabilidad celular. Las células $CD24^{bajo}CD44^+$ eran más de diez veces más sensibles al conjugado anti-5T4-caliqueamicina (Figura 10A).

5 No se observaron diferencias entre las dos poblaciones cuando se trataron con un conjugado anti-CD22-caliqueamicina o solo con caliqueamicina (Figura 10A).

Para realizar un ensayo de formación de colonias, las células se sembraron en una placa de 24 pocillos a una densidad de 5.000 células por pocillo. Veinticuatro horas después de la siembra las células se expusieron a diversas concentraciones de (0,000097, 0,000390, 0,00156, 0,00625, 0,025, 0,1, 0,4 ng de equivalentes de caliqueamicina/ml) de conjugado anti-5T4 H8-AcBut, conjugado anti-CD22 AcBut, o solo con caliqueamicina. Setenta y dos horas después de la exposición al fármaco, las células se digirieron con tripsina, se contaron y 200 células se sembraron en placas de 6 pocillos. Después de 8 días, las colonias se fijaron y se tiñeron con azul de metileno. El número de colonias por pocillo se contó usando un estereoscopio. Las células $CD24^{bajo}CD44^+$ fueron más de diez veces más sensibles al conjugado (Figura 10B). No se observaron diferencias entre las dos poblaciones cuando se trataron con conjugado anti-CD22-caliqueamicina o solo con caliqueamicina (Figura 10B).

10

15

Para ensayar si la expresión de 5T4 estaba directamente asociada con el potencial tumorigénico, se separaron células H460T basándose en la expresión de $5T4^{alto}$ y $5T4^{bajo}$ y se implantaron subcutáneamente en ratones. Tumores de células $5T4^{alto}$ eran más grandes que los tumores de las células $5T4^{bajo}$ ($p < 0,03$; Figura 11). Para este experimento, se usó la línea clonal H460T 24N-26, que presenta niveles más bajos de expresión de 5T4 y una resolución aumentada de expresión de $5T4^{alto}$ y $5T4^{bajo}$ en comparación con la línea parental.

20

Ejemplo 8

Regresión de tumor usando un conjugado fármaco/anticuerpo anti-5T4

A ratones desnudos (de 37622) o nod-scid (de 60274) se les inyectó subcutáneamente entre las escápulas fragmentos de implantes primarios de pases bajos. Cuando los tumores alcanzaron la masa de 0,2 a 0,5 g, los tumores se estatificaron para asegurar la uniformidad de la masa tumoral entre diversos grupos de tratamiento antes de la administración de la terapia. El anticuerpo anti-5T4 huH8 y anticuerpo anti-CD33 p67.6 se conjugaron con caliqueamicina mediante un engarce amida como se ha descrito (Hamann y col., Bioconug. Chem., 2002, 13: 40-46). El engarce "amida" limita la liberación de la caliqueamicina a las células que internalizar el conjugado anticuerpo-fármaco (Hamann y col., Bioconug. Chem., 2002, 13: 40-46). Cada uno del conjugado anticuerpo-fármaco o vehículo se administraron por vía intraperitoneal en solución salina (0,2 ml/ratón) el día 1 y se repitió el mismo tratamiento dos veces cuatro días después (Q4Dx3). Los conjugados de caliqueamicina se administraron a una dosis de 160 μ g/kg de CalichDMH. Los tumores se midieron al menos una vez a la semana y su masa fue volumen = $0,5 \times$ (anchura de tumor²) (longitud de tumor). El volumen tumoral medio (\pm ETM) para cada grupo de tratamiento se calculó y se comparó con el grupo tratado con vehículo con respecto a significancia estadística usando un ensayo t unilateral, con un término de error para el ensayo t basado en la varianza agrupada a través de todos los grupos de tratamiento. Los valores de tumores para cada grupo de tratamiento se registraron hasta 120 días después del inicio del tratamiento o hasta que los ratones portadores de tumores murieron o los tumores crecieron hasta un 15% del peso corporal momento en el cual estos ratones se sometieron a eutanasia de acuerdo con las regulaciones institucionales. El conjugado anti-CD33 sirvió como un control debido a que estos xenoinjertos no expresan CD33.

25

30

35

El tratamiento con conjugado anti-5T4-caliqueamicina erradicó completamente los xenoinjertos 37622, y hasta el final del estudio no se observó un nuevo crecimiento, 120 días después de la última dosis (Figura 12A). Los xenoinjertos tratados con vehículo o conjugado anti-CD33-caliqueamicina crecieron a tumores más grandes. De manera similar, el tratamiento de xenoinjertos 60274 con el conjugado anti-5T4-caliqueamicina disminuyó los tumores significativamente (Figura 12B). Por otro lado, el tratamiento de tumores 60274 con cisplatino a la dosis máxima tolerable redujo el tamaño tumoral transitoriamente, y los tumores crecieron de nuevo rápidamente después de finalizar el régimen de dosificación (Figura 12C). Las células 60274 expresan 5T4 a niveles inferiores cuando se comparan con células 37622 (Figura 13). Estos resultados demuestran un efecto específico de un conjugado anticuerpo anti-5T4-caliqueamicina sobre la inhibición del crecimiento de implantes primarios NSCLC con la expresión de 5T4 heterogénea.

40

45

50

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una población de células iniciadoras de tumores aislada, derivada de una población de células tumorales, comprendiendo la población de células iniciadoras de tumores aislada al menos el 90% de células iniciadoras de tumores, en el que las células iniciadoras de tumores (i) expresan 5T4 a un nivel que es al menos 2 veces mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen, (ii) son tumorigénicas, (iii) son capaces de migración, (iv) son capaces de autorrenovación y (v) generan tumores que comprenden células no tumorigénicas.
2. La población de células iniciadoras de tumores aislada de la reivindicación 1, que comprende al menos el 95% de células iniciadoras de tumores.
- 10 3. La población de células iniciadoras de tumores aislada de la reivindicación 1, en la que las células iniciadoras de tumores comprenden menos de aproximadamente el 50% de la población de células tumorales a partir de la cual deriva, tal como menos de aproximadamente el 33%, menos de aproximadamente el 25%, menos de aproximadamente el 15% o menos de aproximadamente 10% de la población de células de tumores de la cual deriva.
- 15 4. Una población de células iniciadoras de tumores enriquecida derivada de una población de células de tumores que comprende células iniciadoras de tumores y células no tumorigénicas, en la que las células iniciadoras de tumores (i) expresan 5T4 a un nivel que es al menos 2 veces mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen, (ii) son tumorigénicas, (iii) son capaces de migración, (iv) son capaces de autorrenovación y (v) generan tumores que comprenden células no tumorigénicas y (vi) están enriquecidas al menos 2 veces en comparación con la población de células tumorales.
- 20 5. La población de células iniciadoras de tumores enriquecida de la reivindicación 4, en la que las células iniciadoras de tumores están enriquecidas al menos 5 veces en comparación con la población de células tumorales, tal como al menos 10 veces, al menos 50 veces, o al menos 100 veces en comparación con la población de células tumorales.
- 25 6. La población de células iniciadoras de tumores aislada de la reivindicación 1 o la población de células iniciadoras de tumores enriquecidas de la reivindicación 4, que expresa 5T4 a un nivel que es al menos 5 veces mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen, tal como al menos 10 veces mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen.
7. La población de células iniciadoras de tumores aislada de la reivindicación 1 o la población de células iniciadoras de tumores enriquecidas de la reivindicación 4, que adicionalmente expresa CD24 a un nivel que es al menos 5 veces inferior al de las células no tumorigénicas del mismo origen, y/o que expresan adicionalmente CD44.
- 30 8. La población de células iniciadoras de tumores aislada de la reivindicación 1 o la población de células iniciadoras de tumores enriquecidas de la reivindicación 4, que deriva de un tumor pulmonar.
9. La población de células iniciadoras de tumores aislada de la reivindicación 1 o la población de células iniciadoras de tumores enriquecidas de la reivindicación 4, en la que una subpoblación de aproximadamente 10 células o menor de la población de células iniciadoras de tumores aislada tiene la capacidad de formar un tumor palpable.
- 35 10. Un procedimiento para aislar o enriquecer una población de células iniciadoras de tumores que comprende:
 - (a) proporcionar células tumorales disociadas, en el que una mayoría de las células expresan 5T4 a un nivel bajo y una minoría de las células expresa 5T4 a un nivel alto;
 - (b) poner en contacto las células tumorales disociadas con un agente que se una específicamente a 5T4, tal como un anticuerpo anti-5T4; y
 - 40 (c) seleccionar células que se unen específicamente al agente de (b) a un grado que presente un nivel alto de expresión de 5T4 que sea al menos aproximadamente 2 veces mayor que el nivel bajo; mediante el cual una población de células iniciadoras de tumores es aislada o es enriquecida.
11. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que la población de células iniciadoras de tumores aislada o enriquecida comprende al menos el 95% de células iniciadoras de tumores.
- 45 12. El procedimiento de la reivindicación 10, mediante el cual la población de células iniciadoras de tumores está enriquecida en células iniciadoras de tumores al menos 2 veces en comparación con las células tumorales disociadas, tal como al menos 5 veces o al menos 10 veces en comparación con las células tumorales disociadas.
13. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que las células tumorales disociadas son células cancerosas pulmonares.
- 50 14. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que la selección de células se realiza mediante citometría de flujo, selección de células activada por fluorescencia, inmunopurificación, separación en columnas por afinidad o selección magnética.
15. El procedimiento de la reivindicación 10, que comprende adicionalmente (d) poner en contacto las células

tumorales disociadas con un agente que se una específicamente a CD44, tal como un anticuerpo anti-CD44; y (e) seleccionar células que se unen específicamente al agente de (d) en una medida que presente expresión de CD44.

16. El procedimiento de la reivindicación 10 o 15, que comprende adicionalmente:

- 5 (d) poner en contacto las células tumorales disociadas con un agente que se una específicamente a CD24, tal como un anticuerpo anti-CD24; y
(e) seleccionar células que se unen específicamente al agente de (d) en una medida que presente un bajo nivel de expresión de CD24 que sea al menos aproximadamente 5 veces inferior al de las células no tumorigénicas del mismo origen.

17. El procedimiento de la reivindicación 10 o 15, que comprende adicionalmente:

- 10 (d) poner en contacto las células tumorales disociadas con un agente que se una específicamente a CD24, tal como un anticuerpo anti-CD24; y
(e) empobrecer células que se unen específicamente al agente de (d) en una medida que muestre un alto nivel de expresión de CD24 que sea al menos aproximadamente 5 veces mayor que el de las células no tumorigénicas del mismo origen.

15 18. El procedimiento de la reivindicación 10, que adicionalmente comprende:

- (d) poner en contacto las células tumorales disociadas con uno o más agentes que se unan específicamente a un marcador de diferenciación expresado por las células tumorales; y
(e) empobrecer la población de células iniciadoras de tumores de células que se unan específicamente a uno o más agentes de (d).

20 19. Una población de células iniciadoras de tumores aislada o enriquecida preparada de acuerdo con el procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 10-18.

20. Un procedimiento para ensayar la eficacia de un fármaco contra el cáncer o un fármaco candidato contra el cáncer que comprende:

- 25 (a) proporcionar una población de células iniciadoras de tumores aislada o enriquecida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 o 19;
(b) poner en contacto las células iniciadoras de tumores con un fármaco contra el cáncer o un fármaco candidato contra el cáncer; y
(c) observar un cambio en el potencial tumorigénico de las células iniciadoras de tumores después de poner en
30 contacto las células iniciadoras de tumores con el fármaco contra el cáncer o fármaco candidato contra el cáncer.

FIG. 1A

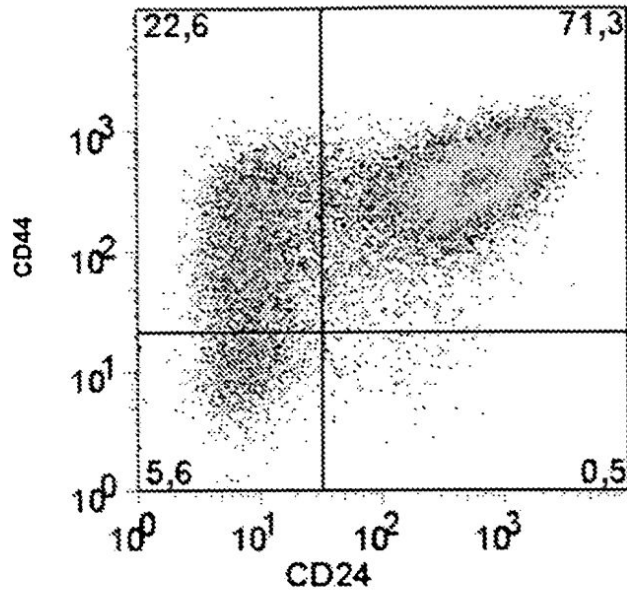


FIG. 1B

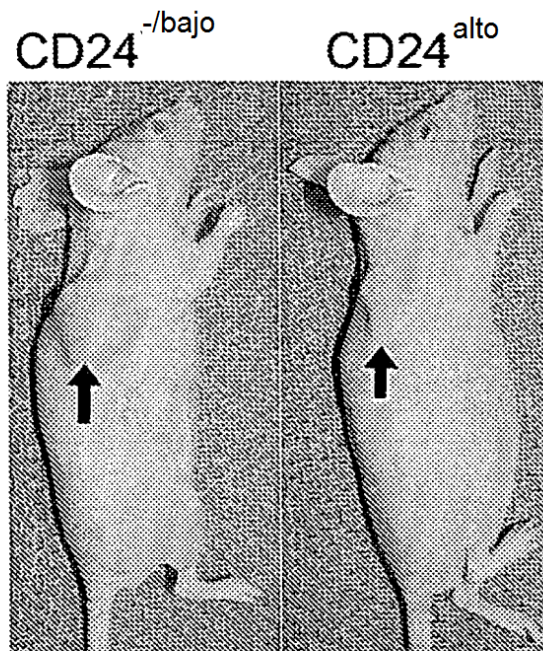


FIG. 1C

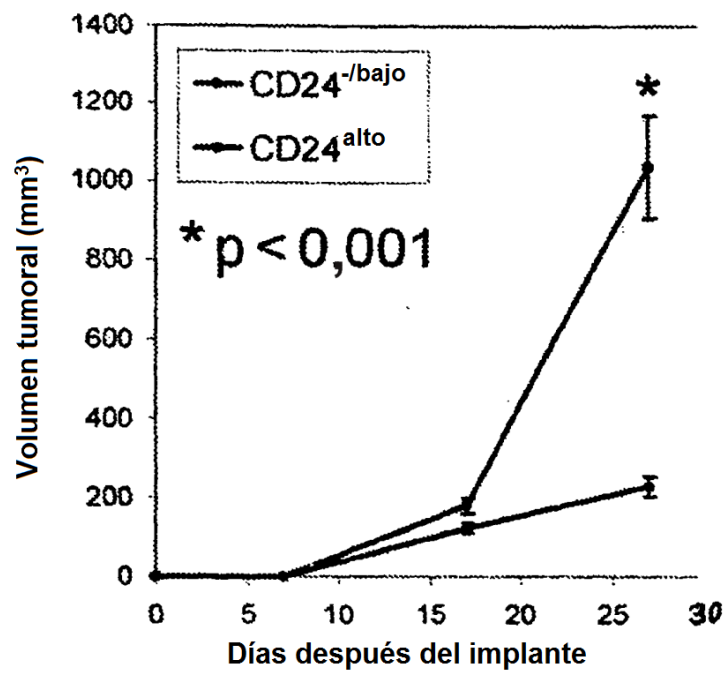


FIG. 1D

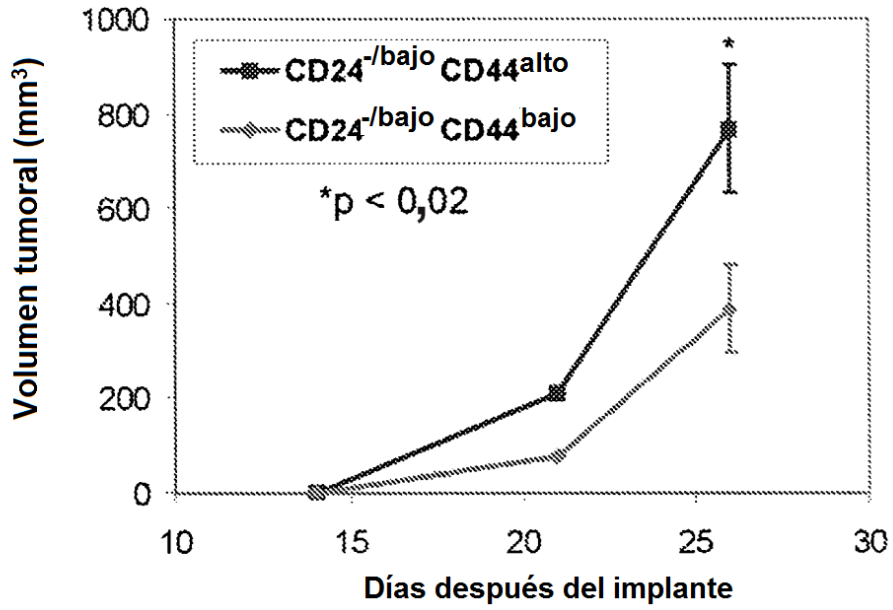


FIG. 1E

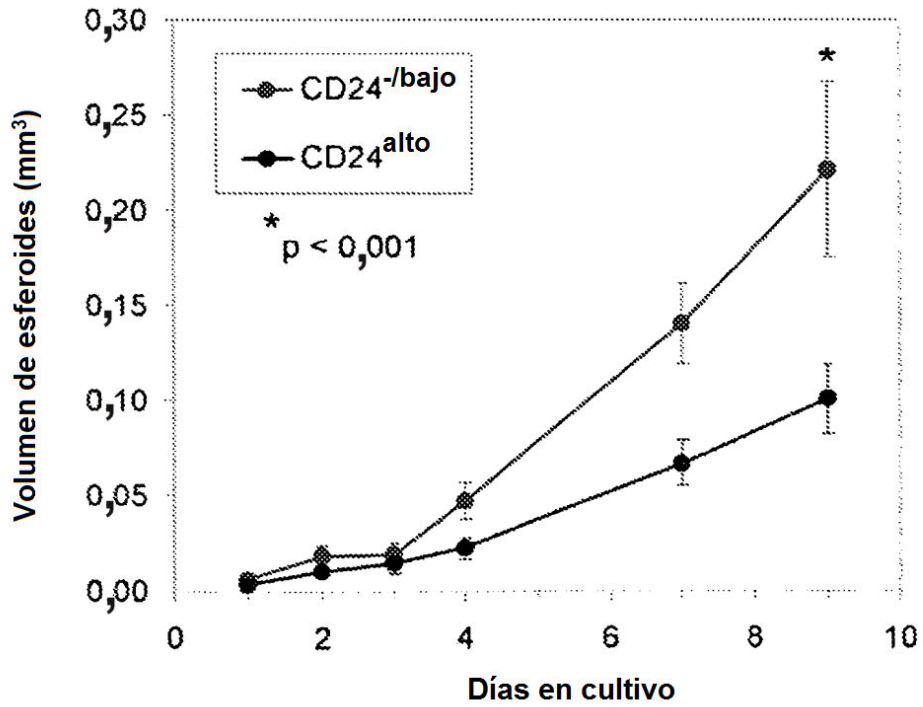


FIG. 1F

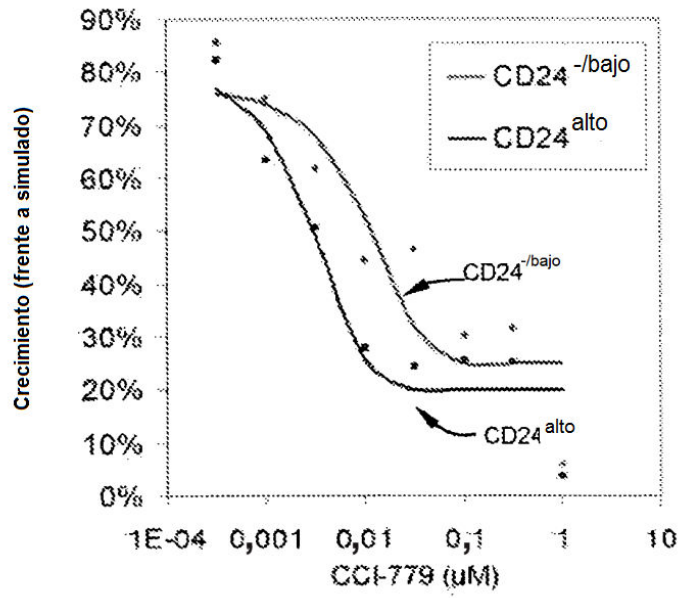


FIG. 1G

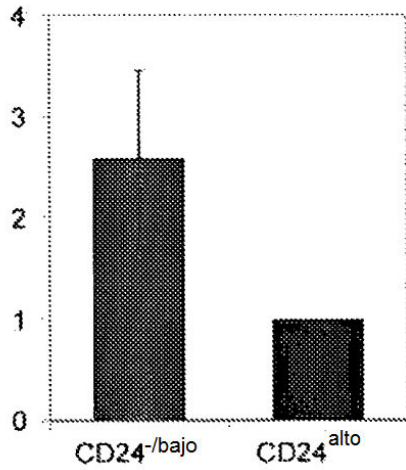
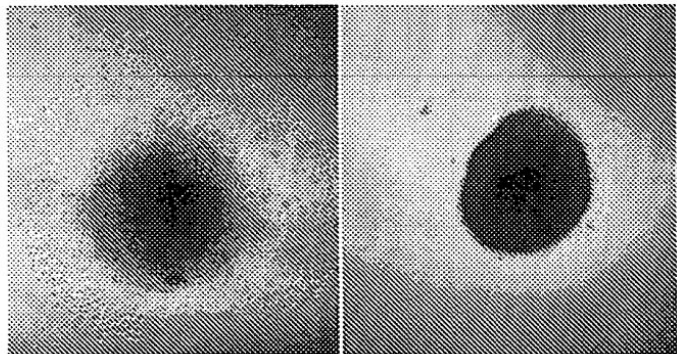
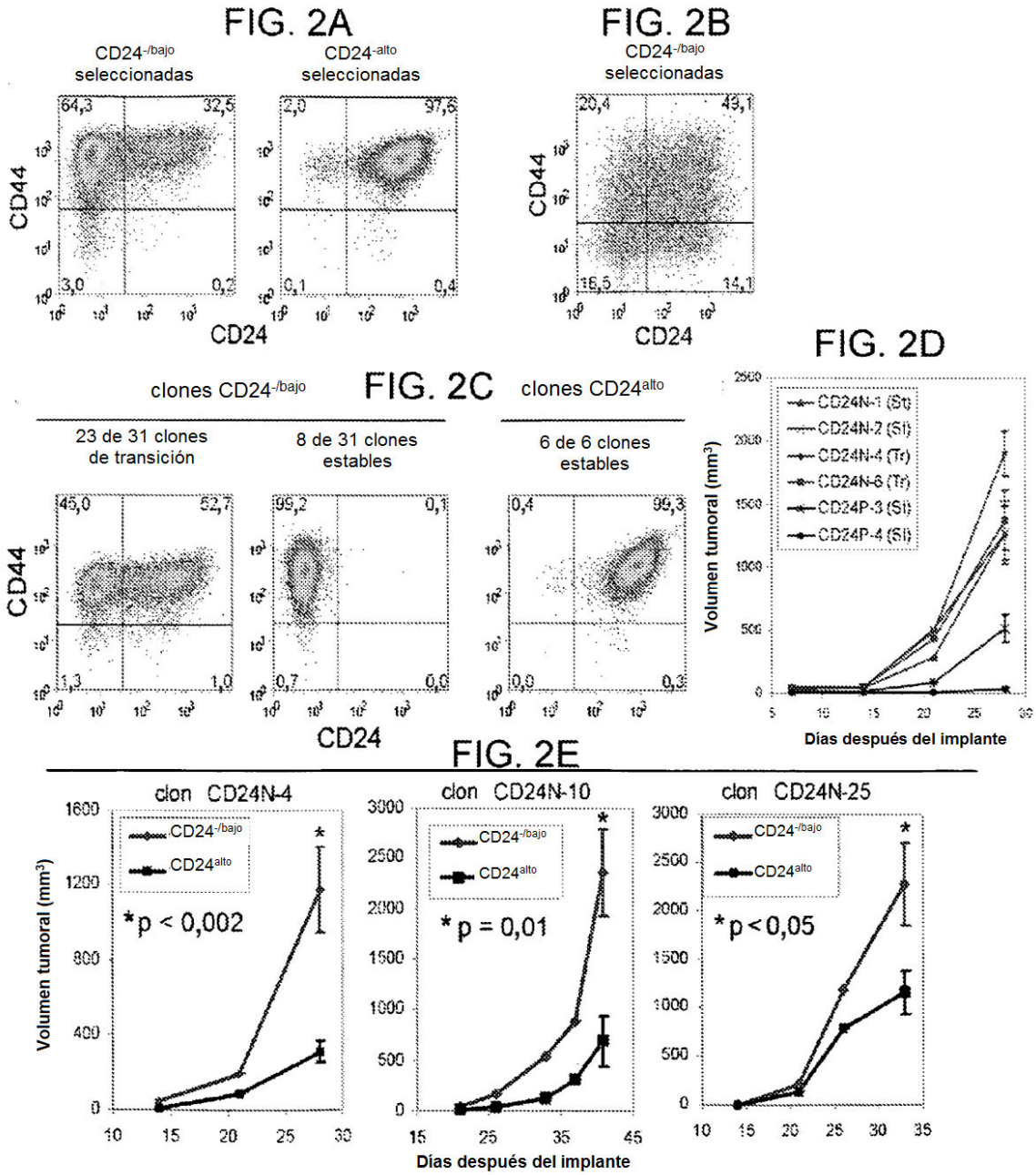


FIG. 1H





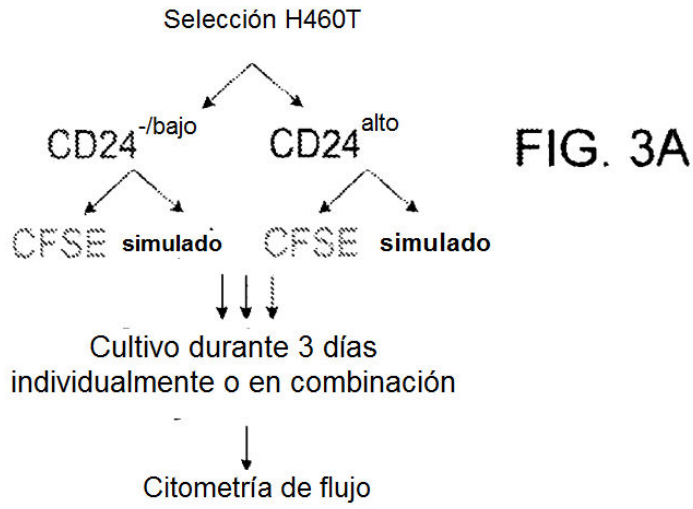


FIG. 3A

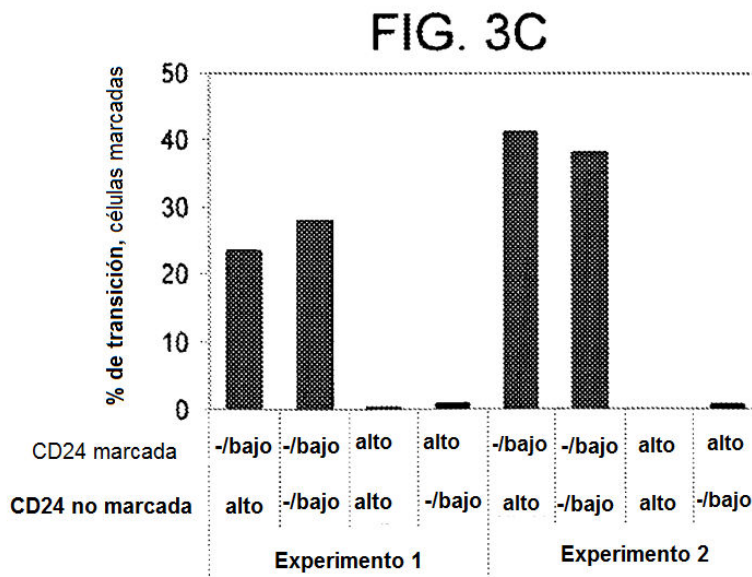
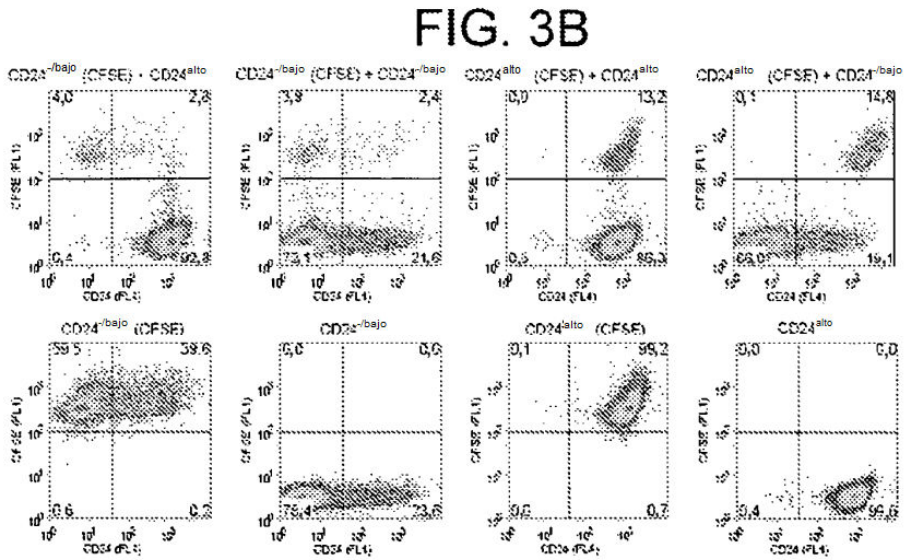


FIG. 4A

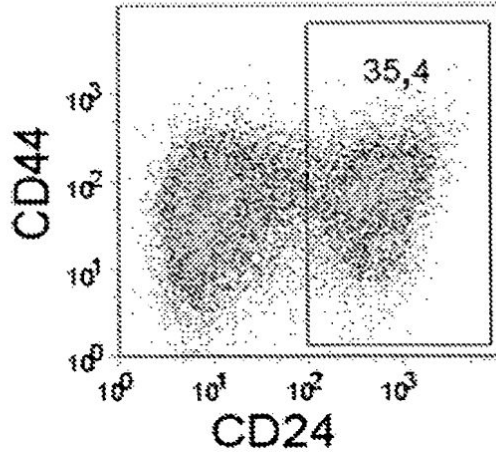


FIG. 4B

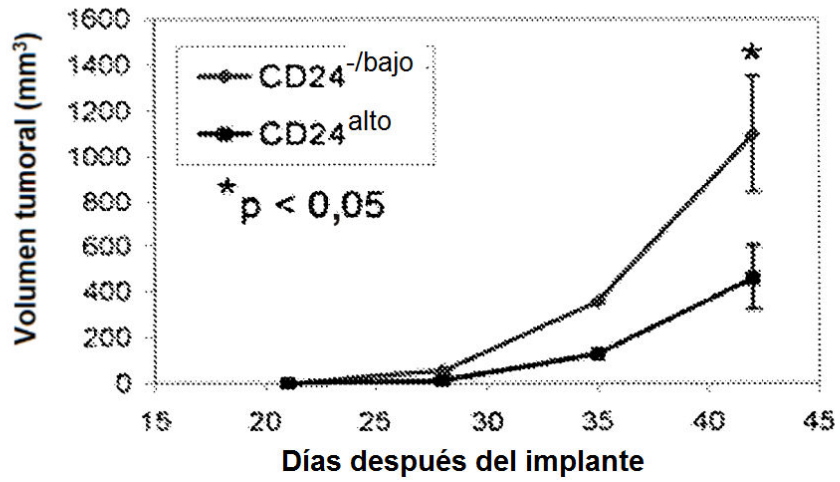


FIG. 4C

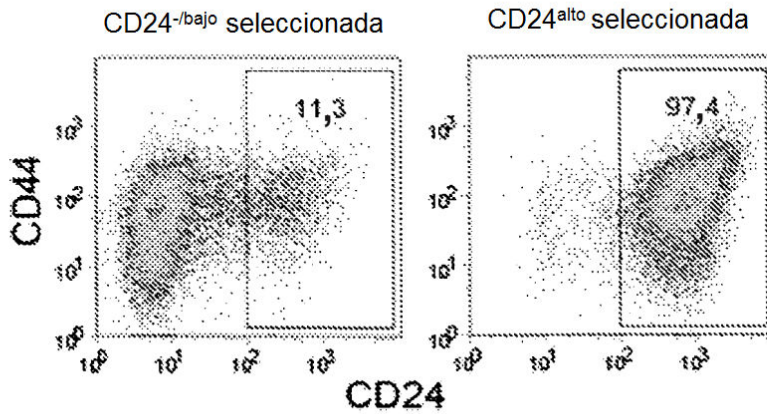


FIG. 5

CD24

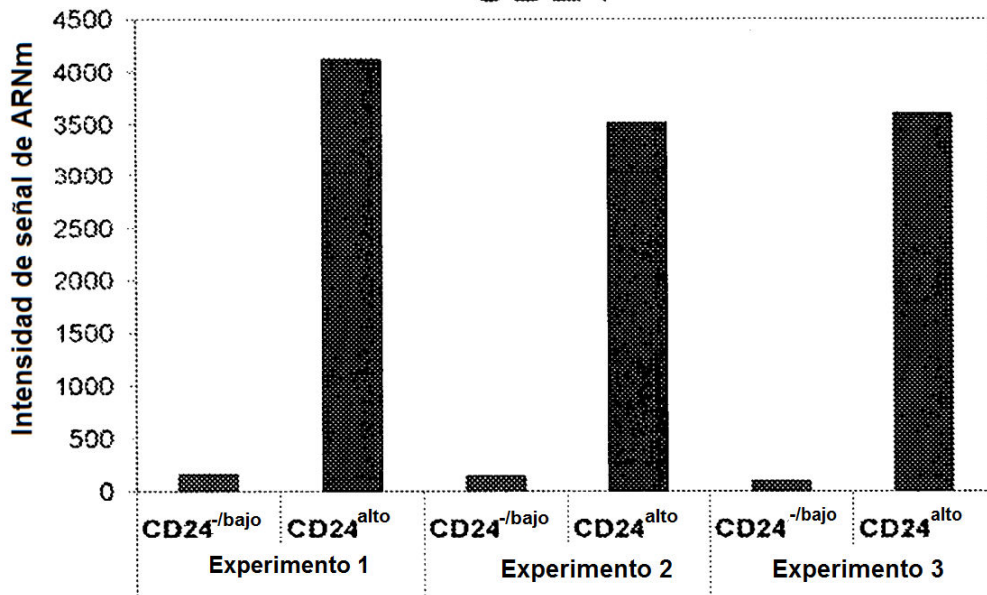


FIG. 6A

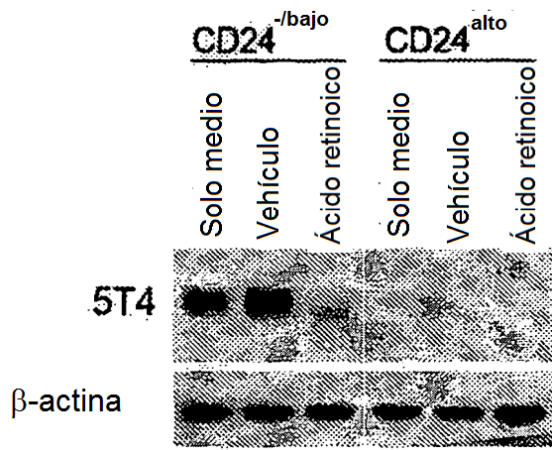


FIG. 6B

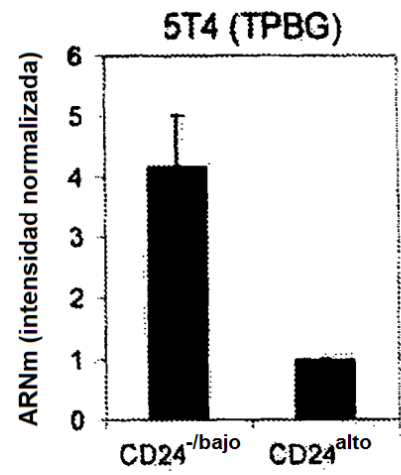


FIG. 7A

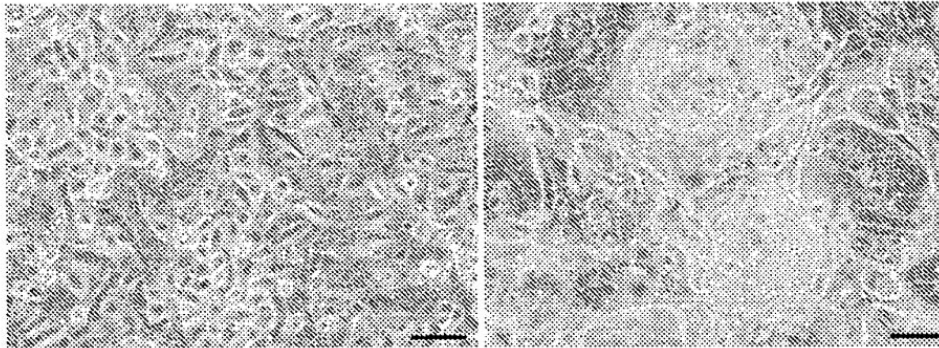


FIG. 7B

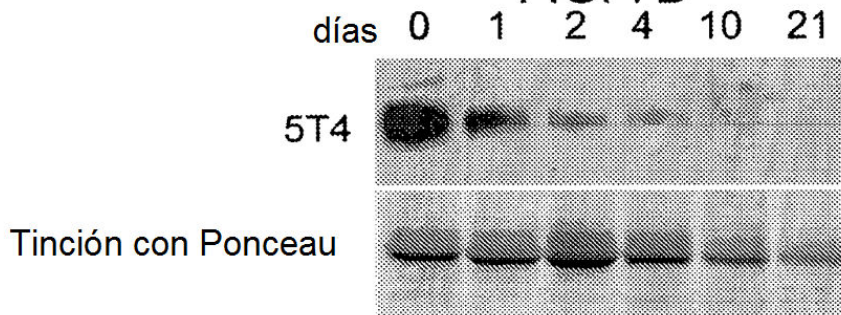


FIG. 7C

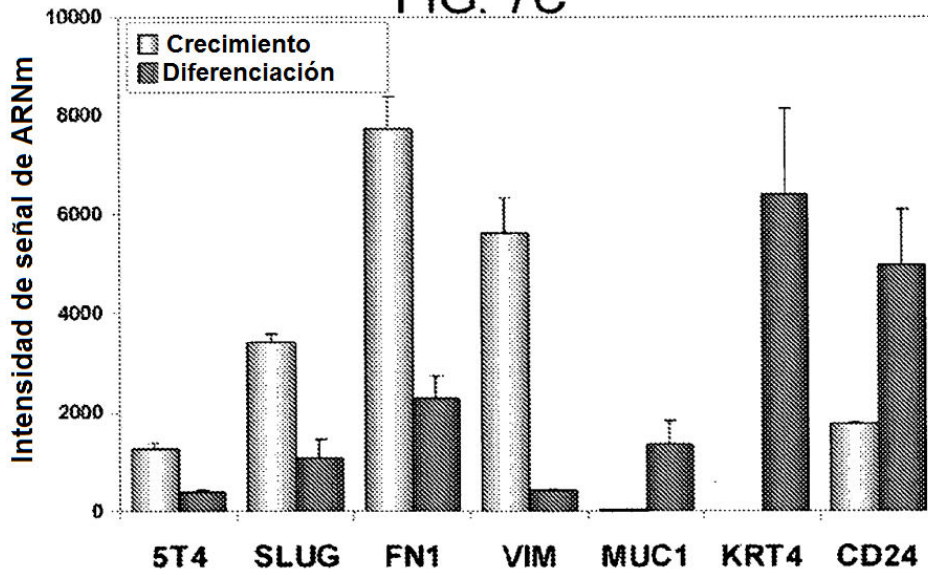


FIG. 7E

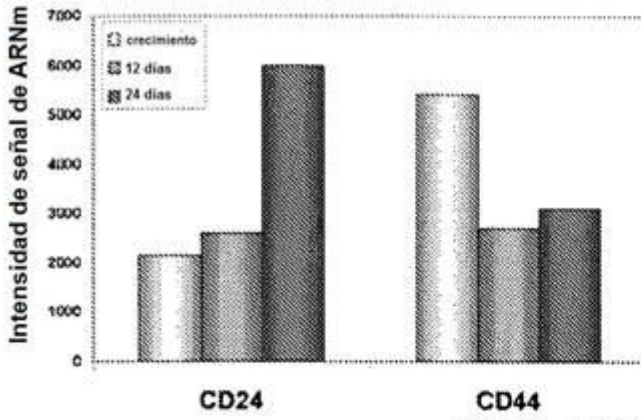


FIG. 7F

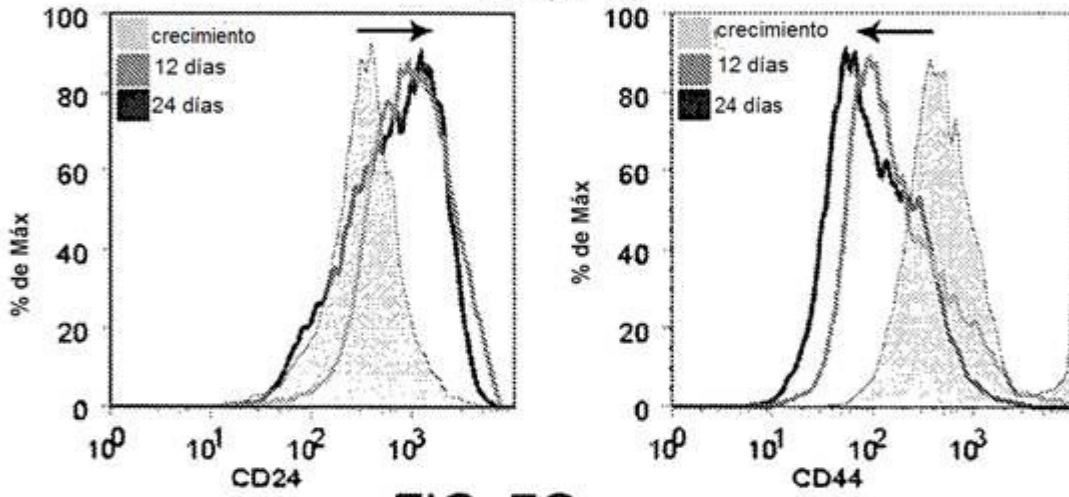


FIG. 7G

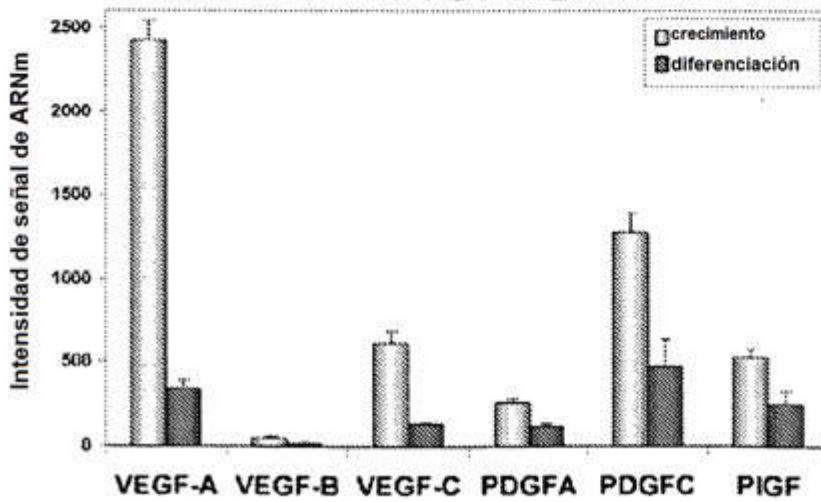


FIG. 8A

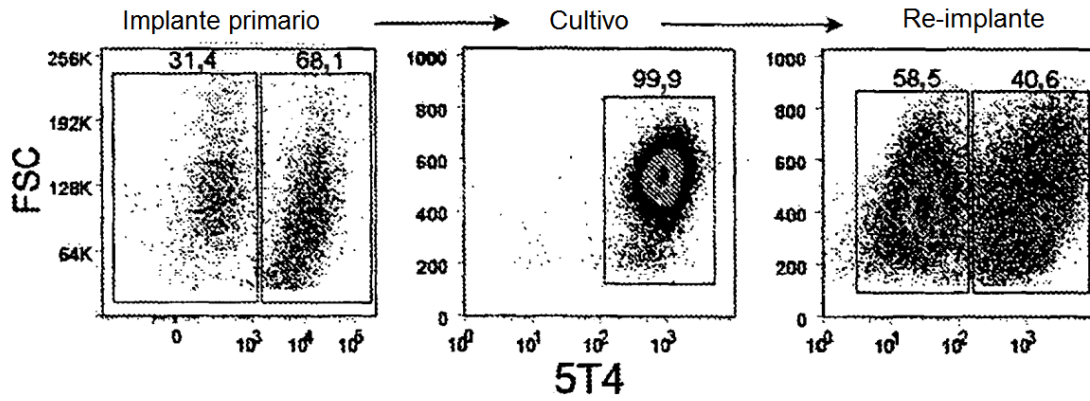


FIG. 8B

| Línea de implante | Número de tumores de: | |
|----------------------|-----------------------|-------------|
| | 5T4[alto] | 5T4[-/bajo] |
| 37622 ^{nº1} | 6/10 | 1/10 |
| 37622 ^{nº2} | 12/20 | 2/20 |
| 60257 ^{nº1} | 6/10 | 2/10 |
| 60257 ^{nº2} | 12/20 | 4/20 |

FIG. 9A

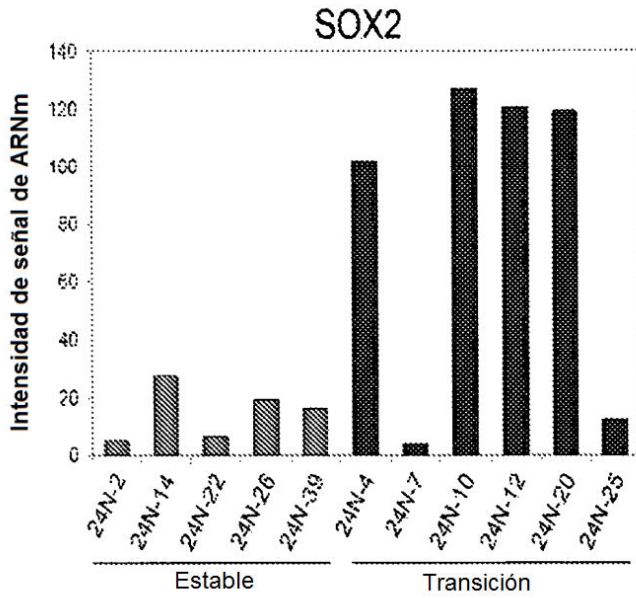


FIG. 9B

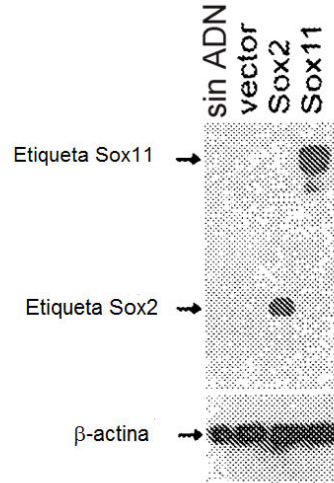


FIG. 9C

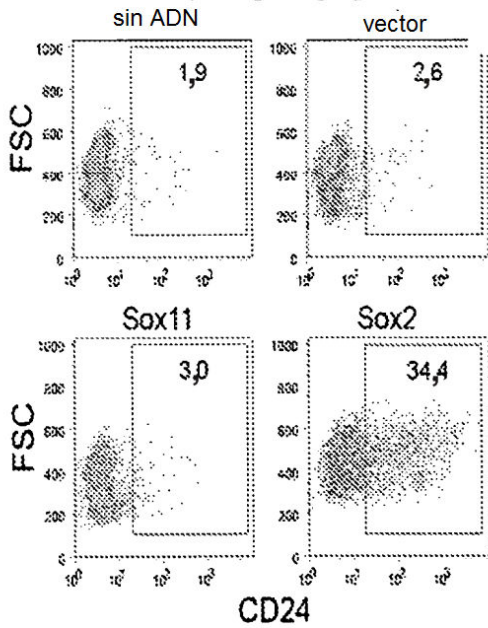


FIG. 9D

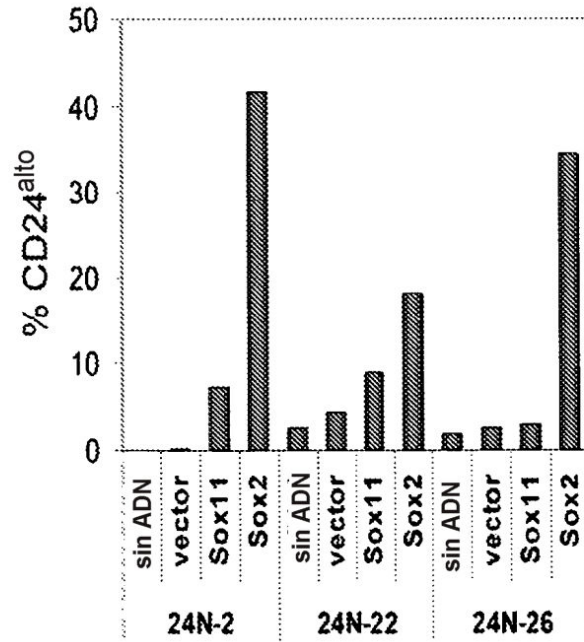


FIG. 10A

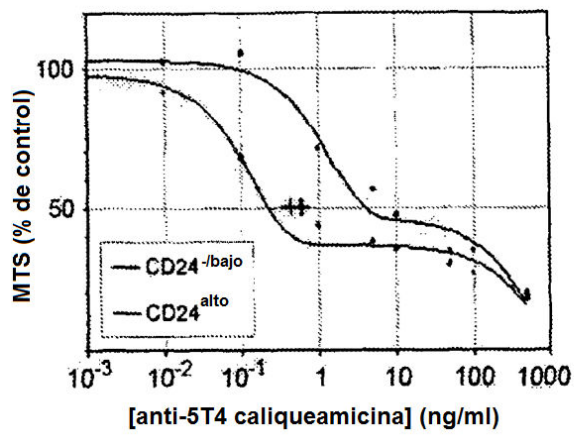


FIG. 10B

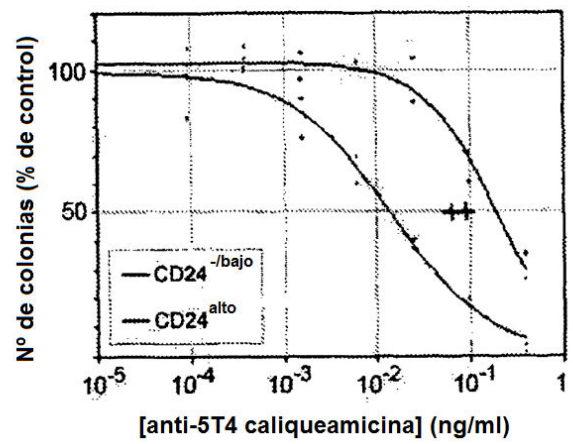


FIG. 11

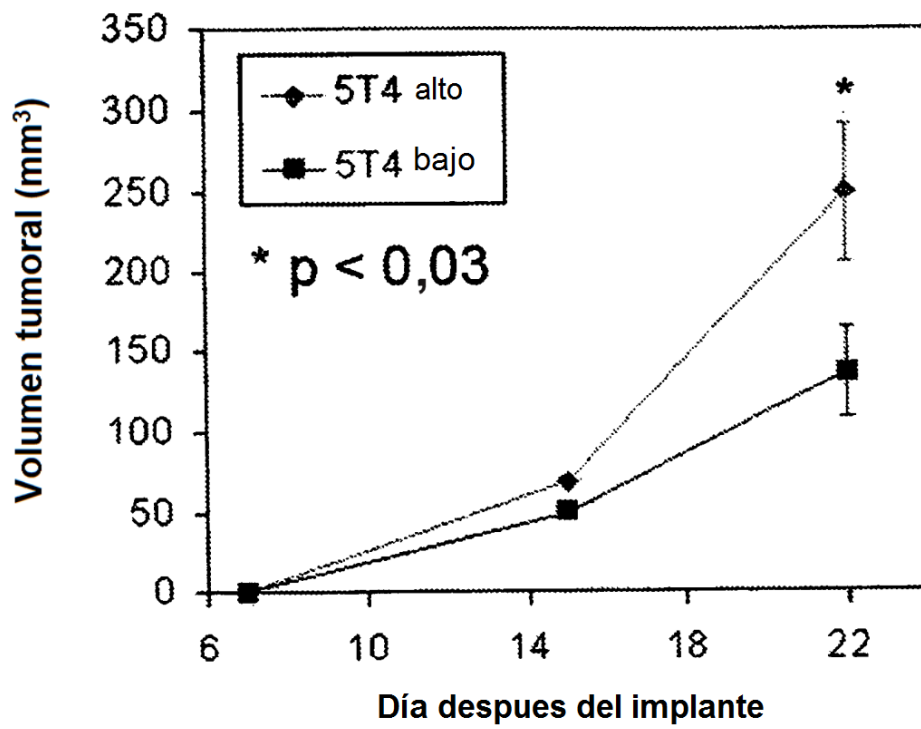


FIG. 12A

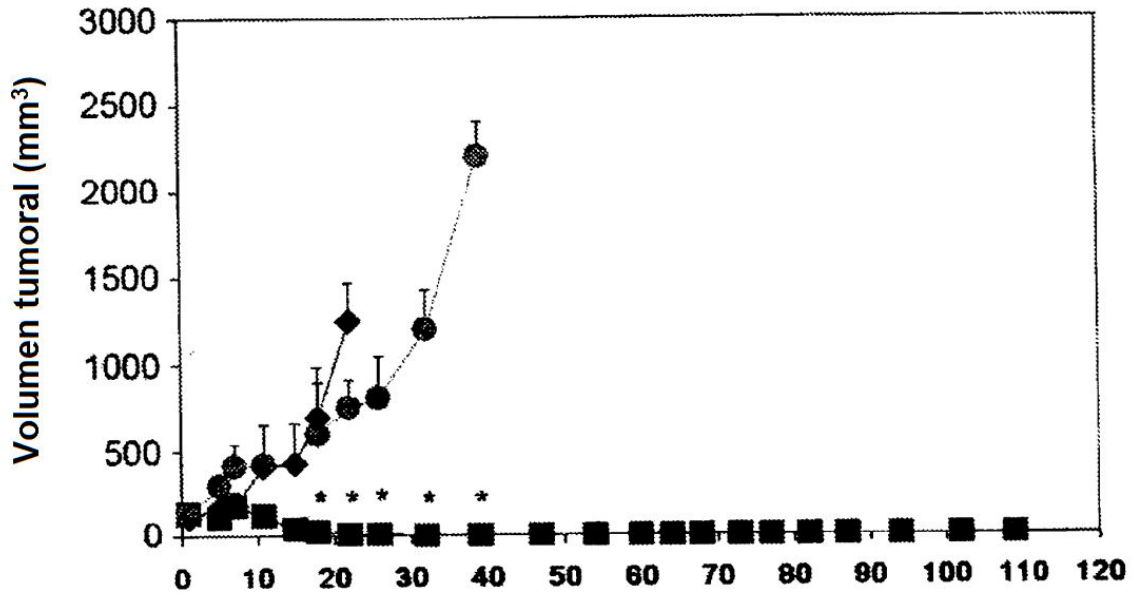


FIG. 12B

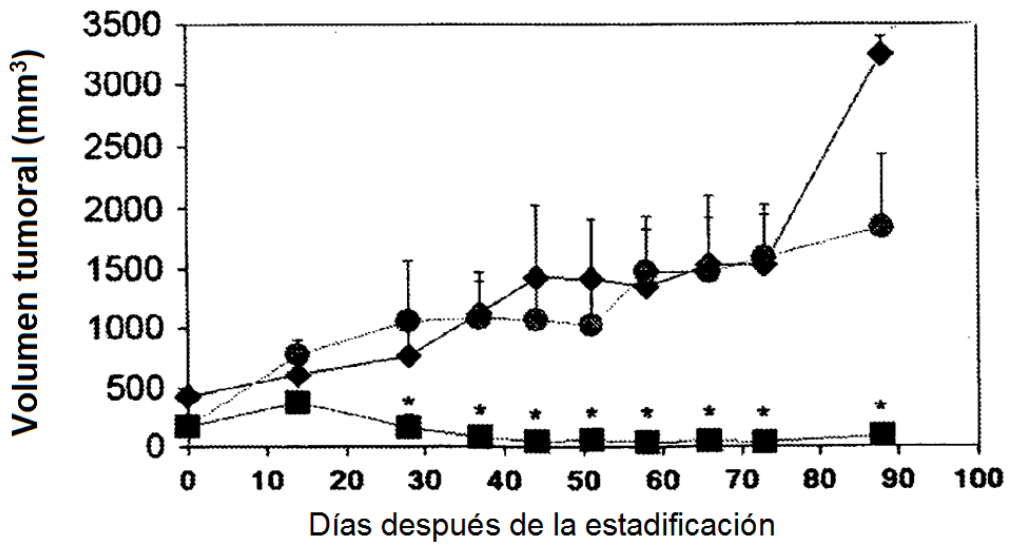


FIG. 12C

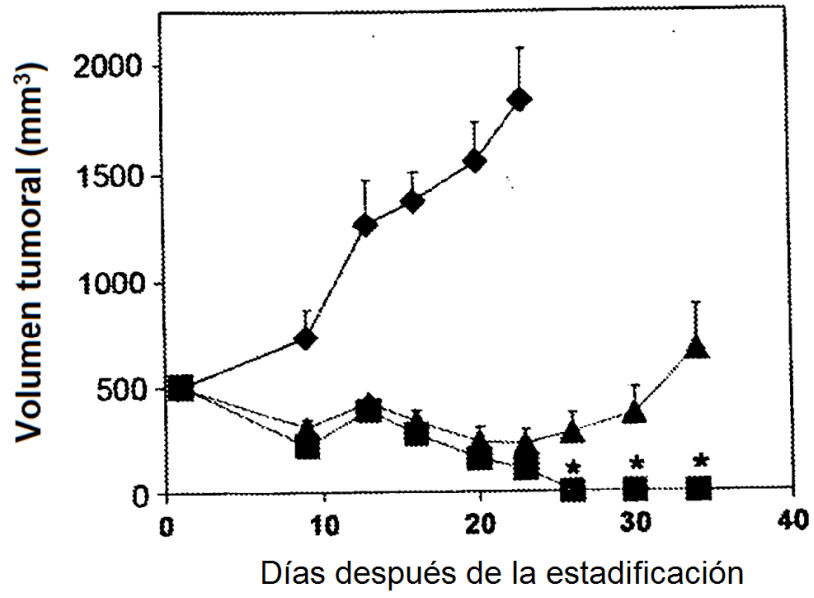


FIG. 13

5T4 (TPBG)

