

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 465 600**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

C12N 15/11 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2007 E 12154344 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.03.2014 EP 2487263**

54 Título: **Métodos basados en microARN y composiciones para el diagnóstico y tratamiento de cánceres sólidos del páncreas**

30 Prioridad:

05.01.2006 US 756585 P

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

06.06.2014

73 Titular/es:

**THE OHIO STATE UNIVERSITY RESEARCH
FOUNDATION (100.0%)
1524 North High Street
Columbus, OH 43201, US**

72 Inventor/es:

**CROCE, CARLO;
CALIN, GEORGE y
VOLINIA, STEFANO**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 465 600 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

Métodos basados en microARN y composiciones para el diagnóstico y tratamiento de cánceres sólidos del páncreas

5 **Apoyo del gobierno**

La presente invención fue apoyada, en su totalidad o en parte, por las Subvenciones del Proyecto de Programa Nº P01CA76259, P01CA81534 y P30CA56036 del Instituto de Cáncer Nacional. El Gobierno tiene ciertos derechos en la presente invención.

10

Antecedentes de la invención

El cáncer, el crecimiento incontrolado de células malignas, es un problema de salud importante de la era médica moderna y es una de las principales causas de muerte en los países desarrollados. En los Estados Unidos, una de cada cuatro muertes está provocada por cáncer (Jemal, A. *et al.*, *CA Cancer J. Clin.* 52: 23-47 (2002)). Entre los cánceres, los que surgen de órganos y tejidos sólidos, conocidos como cánceres sólidos, conocidos como cánceres sólidos (por ejemplo, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de estómago, cáncer de próstata, cáncer pancreático) están entre los cánceres humanos más habitualmente identificados.

15

20

Por ejemplo, el cáncer de próstata es el tumor maligno no cutáneo diagnosticado más frecuentemente entre hombres en países industrializados y, en los Estados Unidos, 1 de cada 8 hombres desarrollarán cáncer de próstata durante su vida (Simard, J. *et al.*, *Endocrinology* 143(6): 2029-40 (2002)). La incidencia del cáncer de próstata ha aumentado drásticamente durante las últimas décadas y el cáncer de próstata es ahora una causa principal de muerte en los Estados Unidos y en Europa Occidental (Peschel, R. E. y J. W. Colberg, *Lancet* 4: 233-41 (2003); Nelson, W. G. *et al.*, *N. Engl. J. Med* 349(4): 366-81 (2003)). Los hombres con cáncer de próstata están afectados por una reducción media de 40 % en la esperanza de vida. Si se detecta de forma temprana, antes de la metástasis y propagación local más allá de la cápsula, el cáncer de próstata puede con frecuencia curarse (por ejemplo, usando cirugía). Sin embargo, si se diagnostica después de su propagación y metátesis de la próstata, el cáncer de próstata es normalmente una enfermedad letal con tasas de curación bajas. Aunque la exploración basada en antígeno específico de próstata (PSA) ha ayudado al diagnóstico temprano del cáncer de próstata, no es ni altamente sensible ni específico (Punglia *et al.*, *N. Engl. J. Med* 349(4): 335-42 (2003)). Esto significa que se asocia con el ensayo un alto porcentaje de diagnósticos de falso negativo y falso positivo. Las consecuencias son tanto muchos casos de cánceres pasados por alto como biopsias de seguimiento innecesarias para las personas sin cáncer.

25

30

35

El cáncer de mama sigue siendo la segunda causa principal de muertes relacionadas con cáncer en mujeres, afectando a más de 180.000 mujeres en los Estados Unidos cada año. Para las mujeres en Norteamérica, las probabilidades en tiempo de vida de tener cáncer de mama son ahora de una de cada ocho. Aunque el descubrimiento de BRCA1 y BRCA2 fueron etapas importantes en la identificación de factores genéticos clave implicados en cáncer de mama, se ha hecho evidente que las mutaciones en BRCA1 y BRCA2 representan solamente una fracción de la susceptibilidad heredada a cáncer de mama (Nathanson, K. L., *et al.*, *Human Mol. Gen.* 10(7): 715-720 (2001); Anglican Breast Cancer Study Group. *Br. J. Cancer* 83(10): 1301-08 (2000); y Syrjakoski, K., *et al.*, *J. Natl. Cancer Inst.* 92: 1529-31 (2000)). A pesar de investigación considerable sobre terapias para cáncer de mama, el cáncer de mama sigue siendo difícil de diagnosticar y tratar eficazmente, y la alta mortalidad observada en pacientes con cáncer de mama indica que se necesitan mejoras en el diagnóstico, tratamiento y prevención de la enfermedad.

40

45

Excluyendo cáncer de piel, el cáncer colorrectal, es el tercer cáncer diagnosticado con más frecuencia en los Estados Unidos y Canadá (después de pulmón y mama en mujeres, y pulmón y próstata en hombres). La Sociedad Americana del Cáncer estima que habrá aproximadamente 145.000 casos nuevos de cáncer colorrectal diagnosticados en los Estados Unidos en 2005 (Cancer Facts and Figures 2005. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2005. Disponibles en www.cancer.org/docroot/STT/stt_0.asp, accedida el 19 de diciembre de 2005). El cáncer colorrectal es la segunda causa principal de muerte por cáncer entre hombres y mujeres en los Estados Unidos y Canadá (después del cáncer de pulmón).

50

55

La incidencia anual del cáncer pancreático es casi equivalente a la mortalidad anual, que se estima que es de 31.860 y 31.270, respectivamente, en los Estados Unidos en 2004 (Cancer Facts and Figures 2004. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2004. Disponible en www.cancer.org/docroot/STT/stt_0_2004.asp, accedida el 21 de agosto de 2005). Los pacientes con cáncer pancreático localmente avanzado y metastásico tienen diagnósticos negativos, y el diagnóstico generalmente se realiza demasiado tarde para que la cirugía o la radioterapia sea curativa (Burr, H. A., *et al.*, *The Oncologist* 10(3): 183-190, (2005)). La quimioterapia puede proporcionar alivio de los síntomas para algunos pacientes con cáncer pancreático avanzado, pero su impacto en la supervivencia ha sido moderado hasta la fecha.

60

65

En los Estados Unidos, se diagnostica a más de 20.000 individuos cáncer de estómago (gástrico) cada año. La Sociedad Americana del Cáncer estima que habrá 22.710 casos nuevos de cáncer colorrectal diagnosticados en los Estados Unidos en 2004 (Cancer Facts and Figures 2004. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2004. Disponible

en www.cancer.org/docroot/STT/stt_0_2004.asp, accedida el 21 de agosto de 2005). Debido a que el cáncer de estómago puede aparecer sin síntomas, puede estar en estadios avanzados en el momento en que se realice el diagnóstico. Después el tratamiento se dirige a aumentar la comodidad del paciente y mejorar su calidad de vida.

- 5 El cáncer de pulmón provoca más muertes en todo el mundo que cualquier otra forma de cáncer (Goodman, G. E., Thorax 57: 994-999 (2002)). En los Estados Unidos, el cáncer de pulmón es la causa principal de muerte por cáncer tanto en hombres como en mujeres. En 2002, la tasa de muerte de cáncer de pulmón fue una estimación de 134.900 muertes, que excede el total combinado de cáncer de mama, próstata y colon. Misma referencia. El cáncer de pulmón también es la causa principal de muerte por cáncer en todos los países Europeos, y los números de muertes
10 relacionadas con cáncer de pulmón están aumentando rápidamente también en los países en desarrollo.

La tasa de supervivencia a cinco años entre todos los pacientes de cáncer de pulmón, independientemente del estadio de la enfermedad en el momento de diagnóstico, es solo de aproximadamente 13 %. Esto se diferencia de una tasa de supervivencia a los cinco años de 46 % entre casos detectados cuando la enfermedad aún está
15 localizada. Sin embargo, solamente 16 % de los cánceres de pulmón se descubren antes de que la enfermedad se haya propagado. La detección temprana es difícil ya que los síntomas clínicos con frecuencia no se observan hasta que la enfermedad ha alcanzado un estadio avanzado. A pesar de la investigación sobre terapias para este y otros cánceres, el cáncer de pulmón sigue siendo difícil de diagnosticar y tratar eficazmente.

20 Claramente, la identificación de marcadores y genes que son responsables de la susceptibilidad a formas particulares de cáncer sólido (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer pancreático) es uno de los principales retos a los que se enfrenta la oncología en la actualidad. Existe la necesidad de identificar medios para la detección temprana de individuos que tengan una
25 susceptibilidad genética al cáncer de modo que puedan instituirse regímenes de exploración e intervención más agresivos para la detección y tratamiento temprano del cáncer. Los genes de cáncer también pueden revelar rutas moleculares clave que pueden manipularse (por ejemplo, usando fármacos de peso molecular grande o pequeño) y pueden conducir a tratamientos más eficaces independientemente del estadio de cáncer cuando se diagnostique por primera vez un cáncer particular.

30 Los microARN son una clase de ARN no codificantes, pequeños, que controlan la expresión génica hibridando con y desencadenando la represión de la traducción o, menos frecuentemente, la degradación de una diana de ARN mensajero (ARNm). El descubrimiento y estudio de los miARN ha revelado mecanismos reguladores de genes mediados por miARN que desempeñan papeles importantes en el desarrollo de los organismos y diversos procesos
35 celulares, tales como diferenciación celular, crecimiento celular y muerte celular (Cheng, A. M., *et al.*, Nucleic Acids Res. 33: 1290-1297 (2005)). Estudios recientes sugieren que la expresión aberrante de los miARN particulares puede estar implicada en enfermedades humanas, tales como trastornos neurológicos (Ishizuka, A., *et al.*, Genes Dev. 16: 2497-2508 (2002)) y cáncer. En particular, se ha descubierto expresión errónea de miR-16-1 y/o miR-15a en leucemias linfocíticas crónicas humanas (Calin, G. A., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99: 15524-15529 (2002)). Wu D *et al.* (Agricultural Sciences in China 5 1: 77-80 (1 de enero de 2006)) describen miARN, su
40 estructura, características, funciones y mecanismos de acción y métodos analíticos adecuados para su uso con miARN. En la sección que describe la función de los miARN, se presenta el uso de miARN como herramientas terapéuticas para tratar el cáncer y se analiza brevemente la expresión relativa de algunos miARN en cáncer de pulmón y cáncer de colon.

45 El documento WO 2005/118806 desvela métodos y composiciones para aislar, enriquecer y/o marcar moléculas de miARN y para preparar y usar matrices u otras técnicas de detección para análisis de miARN. Además, el documento WO 2005/118806 se refiere a métodos y composiciones para generar perfiles de miARN y emplear dichos perfiles para aplicaciones terapéuticas, de diagnóstico y de pronóstico.

50 El documento WO 2005/078139 analiza la asociación entre genes de miARN y elementos cromosómicos implicados en la etiología de diferentes cánceres y sugiere que el cáncer puede tratarse restaurando el nivel de expresión génica de miARN al normal.

Claramente, existe una gran necesidad en la técnica de métodos mejorados para detectar y tratar cánceres sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer
55 pancreático). La presente invención proporciona nuevos métodos para el diagnóstico de cáncer pancreático. También se desvelan métodos para el diagnóstico y tratamiento de cánceres sólidos y composiciones para el diagnóstico y tratamiento de cánceres sólidos.

60 Compendio

La presente invención se basa, en parte, en la identificación de miARN específicos que tienen niveles de expresión alterados en cánceres sólidos particulares.

65 En consecuencia, la invención abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer pancreático. De acuerdo con los métodos de la invención, el nivel de al menos miR-106a en una muestra de ensayo de tejido

pancreático del sujeto se compara con el nivel de miR-106a en una muestra de control. Un aumento del nivel de miR-106a en la muestra de ensayo en relación con el nivel miR-106a en una muestra de control es indicativo de que el sujeto tiene cáncer pancreático.

5 También se desvelan métodos para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer sólido en los que el nivel de al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo del sujeto se compara con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control. Una alteración (por ejemplo, un aumento, una reducción) en el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo, en relación con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer sólido. El cáncer sólido
10 puede ser cualquier cáncer que surja de órganos y tejidos sólidos. En ciertas realizaciones, el cáncer sólido es cáncer de estómago, cáncer de mama, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer de pulmón o cáncer de próstata.

También se desvelan métodos en los que el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-17-5p y combinaciones de los mismos. Como
15 alternativa, el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

20 También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de mama o cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-210, miR-213 y una combinación de los mismos.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de colon, cáncer de estómago, cáncer de
25 próstata o cáncer de páncreas y el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo es miR-218-2.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-125b-1, miR-125b-2, miR-145,
30 miR-21 y combinaciones de los mismos. Como alternativa, el cáncer sólido es cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-29b-2, miR-146, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-10b, miR-145, miR-181a, miR-140, miR-213, miR-29a prec, miR-181b-1, miR-199b, miR-29b-1, miR-130a, miR-155, let-7a-2, miR-205, miR-29c, miR-224, miR-100, miR-31, miR-30c, miR-17-5p,
35 miR-210, miR-122a, miR-16-2 y combinaciones de los mismos.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de colon y el al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-24-1, miR-29b-2, miR-20a, miR-10a,
40 miR-32, miR-203, miR-106a, miR-17-5p, miR-30c, miR-223, miR-126*, miR-128b, miR-21, miR-24-2, miR-99b prec, miR-155, miR-213, miR-150, miR-107, miR-191, miR-221, miR-9-3 y combinaciones de los mismos.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-205, miR-200b, miR-9-1, miR-210, miR-
45 148, miR-141, miR-132, miR-215, miR-128b, let-7g, miR-16-2, miR-129-1/2 prec, miR-126*, miR-142-as, miR-30d, miR-30a-5p, miR-7-2, miR-199a-1, miR-127, miR-34a prec, miR-34a, miR-136, miR-202, miR-196-2, miR-199a-2, let-7a-2, miR-124a-1, miR-149, miR-17-5p, miR-196-1 prec, miR-10a, miR-99b prec, miR-196-1, miR-199b, miR-191, miR-195, miR-155 y combinaciones de los mismos se usa para diagnosticar cáncer de pulmón.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer pancreático y el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-103-1, miR-103-2, miR-155,
50 miR-204 y combinaciones de los mismos.

En una realización, el miR-106a y al menos un producto génico de miR adicional seleccionado del grupo que consiste en miR-103-2, miR-103-1, miR-24-2, miR-107, miR-100, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-24-1, miR-191, miR-
55 23a, miR-26a-1, miR-125a, miR-130a, miR-26b, miR-145, miR-221, miR-126*, miR-16-2, miR-146, miR-214, miR-99b, miR-128b, miR-155, miR-29b-2, miR-29a, miR-25, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-92-2, miR-199a-1, miR-223, miR-29c, miR-30b, miR-129-1/2, miR-197, miR-17-5p, miR-30c, miR-7-1, miR-93-1, miR-140, miR-30a-5p, miR-132, miR-181b-1, miR-152 prec, miR-23b, miR-20a, miR-222, miR-27a, miR-92-1, miR-21, miR-129-1/2 prec, miR-150, miR-32, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos se usan para diagnosticar cáncer pancreático.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en let-7d, miR-128a prec, miR-195, miR-203, let-7a-2 prec,
60 miR-34a, miR-20a, miR-218-2, miR-29a, miR-25, miR-95, miR-197, miR-135-2, miR-187, miR-196-1, miR-148, miR-191, miR-21, let-7i, miR-198, miR-199a-2, miR-30c, miR-17-5p, miR-92-2, miR-146, miR-181b-1 prec, miR-32, miR-206, miR-184 prec, miR-29a prec, miR-29b-2, miR-149, miR-181b-1, miR-196-1 prec, miR-93-1, miR-223, miR-16-1,
65 miR-101-1, miR-124a-1, miR-26a-1, miR-214, miR-27a, miR-24-1, miR-106a, miR-199a-1 y combinaciones de los mismos.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de estómago y el producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-223, miR-21, miR-218-2, miR-103-2, miR-92-2, miR-25, miR-136, miR-191, miR-221, miR-125b-2, miR-103-1, miR-214, miR-222, miR-212 prec, miR-125b-1, miR-100, miR-107, miR-92-1, miR-96, miR-192, miR-23a, miR-215, miR-7-2, miR-138-2, miR-24-1, miR-99b, miR-33b, miR-24-2 y combinaciones de los mismos.

El nivel del al menos un producto génico de miR puede medirse usando diversas técnicas que se conocen bien por los expertos en la materia (por ejemplo, RT-PCR cuantitativa o semicuantitativa, análisis de transferencia de Northern, detección de hibridación en solución). En una realización particular, el nivel de al menos miR-106a se mide por transcripción inversa de al menos ARN de miR-106a de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de miR-106a, hibridando el oligodesoxinucleótido diana con una microserie que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra de ensayo, y comparando el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con un perfil de hibridación de una muestra de control. Un aumento en la señal de al menos miR-106a en la muestra de ensayo en relación con la muestra de control es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer pancreático. Los oligonucleótidos diana pueden hibridarse con una microserie que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para uno o más miARN seleccionados del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

La presente divulgación también abarca métodos para inhibir tumorigénesis en un sujeto que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon), en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado negativamente, regulado positivamente) en las células de cáncer del sujeto. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado negativamente en las células de cáncer, el método comprende administrar una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado, una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del producto génico de miR o variante, de modo que se inhiba la proliferación de células cancerosas en el sujeto. El al menos un producto génico de miR aislado puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos. El producto génico de miR no puede ser miR-15a o miR-16-1. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado positivamente en las células cancerosas, el método puede comprender administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR (denominado en la presente memoria un "compuesto de inhibición de la expresión de miR"), de modo que se inhibe la proliferación de células cancerosas en el sujeto. El al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR puede ser específico para un producto génico de miR seleccionado del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

Los métodos para inhibir la tumorigénesis en un sujeto pueden comprender adicionalmente la etapa de determinar la cantidad de al menos un producto génico de miR en células cancerosas del sujeto, y comparar ese nivel del producto génico de miR en las células con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en células de control. Si la expresión del producto génico de miR está desregulada (por ejemplo, regulada negativamente, regulada positivamente) en células cancerosas, los métodos comprenden además alterar la cantidad del al menos un producto génico de miR expresado en las células cancerosas. La cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas puede ser menor que la cantidad de producto génico de miR expresado en una célula de control (por ejemplo, células de control), y se administra al sujeto una cantidad eficaz del producto génico de miR regulado negativamente, variante aislada o fragmento biológicamente activo del producto génico de miR o variante. Los productos génicos de miR adecuados incluyen miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos, entre otros. El producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. La cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas puede ser mayor que la cantidad del producto génico de miR expresado en la célula de control (por ejemplo, células de control), y puede administrarse al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR regulado positivamente. Los compuestos adecuados para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR incluyen, pero sin limitación, compuestos que inhiben la expresión de miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

La presente divulgación proporciona además composiciones farmacéuticas para tratar cánceres sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon). Las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un producto génico de miR aislado y un vehículo farmacéuticamente aceptable. El al menos un producto génico de miR puede corresponder a un producto génico de miR que tenga una nivel reducido de expresión en células cancerosas en relación con las células de control. El producto génico de miR aislado puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR

y un vehículo farmacéuticamente aceptable. El al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR puede ser específico de un producto génico de miR cuya expresión es mayor en células cancerosas que en células de control. El compuesto de inhibición de la expresión de miR puede ser específico para uno o más productos génicos de miR seleccionados del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

También se desvelan métodos para identificar un inhibidor de tumorogénesis, que comprenden proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR en la célula. El método puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión reducidos en cánceres sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon). Un aumento en el nivel del producto génico de miR en la célula, en relación con una célula de control adecuada, es indicativo de que el agente de ensayo es un inhibidor de tumorogénesis. El al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión reducidos en células de cáncer sólido pueden seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

El método puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con aumento de los niveles de expresión en cánceres sólidos. Una reducción en el nivel del producto génico de miR en la célula, en relación con una célula de control adecuada, es indicativa de que el agente de ensayo es un inhibidor de tumorogénesis. El al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión aumentados en células de cáncer sólido puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

Breve descripción de los dibujos

El archivo de patente o de solicitud contiene al menos un dibujo ejecutado en color. Se proporcionarán copias de esta patente o publicación de solicitud de patente con dibujos a color por la Oficina tras su petición y pago de la tasa necesaria.

La FIGURA 1 representa un análisis de agrupamiento de 540 muestras, que representan 6 cánceres sólidos (parte superior) y los tejidos normales respectivos. Los miARN incluidos en el árbol ($n=137$) representan aquellos cuyo nivel de expresión (intensidad con fondo restado) fue mayor que el valor umbral (256) en al menos 50 % de las muestras analizadas. Las series se centraron en la mediana y se normalizaron usando Gene Cluster 2.0. Se realizó agrupamiento de enlace medio usando métrica de correlación no centrada. Los colores indican la diferencia en el nivel de expresión de la mediana para los microARN de cada muestra.

La FIGURA 2 representa un análisis no supervisado de los datos de expresión de microARN. Los perfiles de microARN de 540 muestras (indicadas en la parte superior del panel) que abarcaban mama, colon, pulmón, páncreas, próstata y estómago (tejidos normales y tumores) se filtraron, centraron y normalizaron para cada característica. Los datos se sometieron a agrupamiento jerárquico tanto en las muestras (orientadas horizontalmente) como en las características (orientadas verticalmente) con enlace medio y correlación de Pearson como una medida de similitud. Los nombres de las muestras se indican en la parte superior de la figura y los nombres de los miARN a la izquierda. El ID de la sonda se indica entre paréntesis, ya que el mismo microARN puede medirse por diferentes oligonucleótidos. Los colores indican la diferencia en los niveles de expresión de la mediana para los microARN en cada muestra.

La FIGURA 3 representa la expresión de miARN regulados diferencialmente entre cánceres sólidos (parte superior). Se representan sesenta y un microARN, que están presentes en al menos 90 % de los cánceres sólidos tisulares (derecha del panel). El árbol presenta los valores de expresión absolutos medios para cada uno de los microARN enumerados después de transformación \log_2 . La media se calculó sobre todas las muestras del mismo histotipo tumoral o tejido. Los genes se centraron en la media y se normalizaron usando Gene Cluster 2.0. Se realizó agrupamiento de enlace medio usando la distancia Euclídea.

La FIGURA 4 representa el factor de cambio en la expresión de miARN presentes en al menos 75 % de los tumores sólidos con al menos un valor absoluto de tumor mayor que 2 en diferentes muestras de cáncer (parte superior), en relación con muestras normales. El árbol presenta la transformación \log_2 del factor de cambio medio (cáncer frente a normal). La media se calculó sobre todas las muestras del mismo histotipo tumoral o tejido. Las matrices se centraron en la media y se normalizaron usando Gene Cluster 2.0. Se realizó agrupamiento de enlaces medio usando métrica de correlación no centrada.

La FIGURA 5 representa el factor de cambio en la expresión de miARN presentes en los distintivos de al menos 50 % de los tumores sólidos en muestras de cáncer frente a normales. El árbol representa la transformación \log_2 del factor de cambio medio (cáncer frente a normal). La media se calculó sobre todas las muestras del mismo histotipo tumoral o tejido. Las matrices se centraron en la media y se normalizaron usando Gene Cluster 2.0. Se realizó agrupamiento de enlace medio usando métrica de correlación no centrada.

La FIGURA 6A representa gráficas de barra que indican que las UTR 3' de diferentes genes que codifican proteína de cáncer permiten la regulación del cáncer por microARN. La represión relativa de expresión de

5 luciferasa de luciérnaga (Factor de Cambio) se normalizó a un control de luciferasa de renilla. PLAG1, gen de adenoma pleiomórfico 1; TGFBR2, receptor de factor de crecimiento transformante beta II; Rb, gen de retinoblastoma. Se usó pGL-3 (Promega) como el vector vacío. Se usaron oligoARN *miR-20a*, *miR-26a-1* y *miR-106* (con sentido y mezclados) para transfecciones. Se muestra en el panel inferior un segundo experimento que usa versiones mutadas de cada ARNm diana que carecen del sitio de complementariedad del extremo de miARN 5' (MUT). Todos los experimentos se realizaron dos veces por triplicado (n=6).

10 La FIGURA 6B representa transferencias de Western que indican que, en ciertos cánceres (por ejemplo, pulmón, mama, colon, gástrico), los niveles de proteína RB1 (Rb) presentan una correlación inversa con el nivel de expresión de *miR-106a*. Se usó β actina como un control para normalización. N1, muestra normal; T1 y T2, muestra tumoral.

15 La FIGURA 7 representa transferencias de Northern que muestran regulación negativa de la expresión de miR-145 (parte superior) y regulación positiva de la expresión de miR-21 (parte inferior) en muestras de cáncer de mama (serie P y serie numerada) en relación con muestras normales. Se realizó normalización con una sonda específica de U6.

20 La FIGURA 8 representa transferencias de Northern que muestran regulación positiva de la expresión de miR-103 y regulación negativa de la expresión de miR-155 (parte superior) en diferentes muestras de cáncer pancreático endocrino (WDET, tumores endocrinos pancreáticos bien diferenciados, WDEC, carcinomas endocrinos pancreáticos bien diferenciados y ACC, carcinomas de células de acinos pancreáticos) en relación con muestras normales (serie K), así como regulación positiva de la expresión de miR-204 (parte inferior) en insulinomas (serie F) en relación con muestras normales (serie K) y muestras no secretoras/no actuantes (serie NF). Se realizó normalización con una sonda específica para ARN 5S.

Descripción detallada

25 La presente invención se basa, en parte, en la identificación de microARN particulares cuya expresión está alterada en células cancerosas asociadas con diferentes cánceres sólidos, tales como cáncer de colon, de estómago, pancreático, de pulmón, de mama y de próstata, en relación con células de control normales.

30 Como se usa en la presente memoria de forma intercambiable un “producto génico de miR”, “microARN”, “miR” o “miARN” se refiere al transcrito de ARN no procesado (por ejemplo, precursor) o procesado (por ejemplo, maduro) de un gen de miR. Ya que los productos génicos de miR no se traducen a proteína, la expresión “productos génicos de miR” no incluye proteínas. El transcrito génico de miR no procesado también se denomina un “precursor de miR” o “miR prec” y normalmente comprende un transcrito de ARN de aproximadamente 70-100 nucleótidos de longitud. El precursor de miR puede procesarse por digestión con una RNasa (por ejemplo, Dicer, Argonaut o RNasa III (por ejemplo RNasa III de *E. coli*)) en una molécula de ARN de 19-25 nucleótidos activa. Esta molécula de ARN de 19-25 nucleótidos activa también se denomina el transcrito génico de miR “procesado” o miARN “maduro”.

40 La molécula de ARN de 19-25 nucleótidos activa puede obtenerse del precursor de miR mediante vías de procesamiento naturales (por ejemplo, usando células intactas o lisados celulares) o mediante vías de procesamiento sintéticas (por ejemplo, usando enzimas de procesamiento aisladas, tales como Dicer, Argonaut o RNasa III aislada). Se entiende que la molécula de ARN de 19-25 nucleótidos activa también puede producirse directamente por síntesis biológica o química, sin haberse procesado a partir del precursor de miR. Cuando se hace referencia a un microARN en la presente memoria por nombre, el nombre corresponde a las formas tanto precursoras como maduras, a no ser que se indique de otro modo.

45 Las Tablas 1a y 1b representan las secuencias de nucleótidos de microARN humanos maduros y precursores particulares.

Tabla 1a- Secuencias precursoras de microARN humano

Nombre del Precursor	Secuencia (5' a 3')	SEC ID N°
<i>let-7a-1</i>	CACUGUGGGGAUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUUAGGGUCAC ACCCACCACUGGGAGAUAAACUAUACAAUCUACUGUCUUUCCU AACGUG	1
<i>let-7a-2</i>	AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUUACAUCAAG GGAGAUAAACUGUACAGCCUCCUAGCUUCCU	2
<i>let-7a-3</i>	GGGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUGGGGCUCUGCCCUGCU AUGGGAUAAACUAUACAAUCUACUGUCUUUCCU	3

<i>let-7a-4</i>	GUGACUGCAUGC <u>UCCCAGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU</u> UAGAAU <u>UACACAAGGGAGAUAA</u> CUGUACAGCCUCCUAGCUUU CCUUGGGUCUUGCACUAAACAAC	4
<i>let-7b</i>	GGCGGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUUCAGGGCAGUGA UGUUGCCCCUCGGAAGAUAA <u>CUAUACAACCUACUGCCU</u> UCCC UG	5
<i>let-7c</i>	GCAUCCGGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUUUAGAGUUACA CCCUGGGAGUUAACUGUACAACCUUCUAGCUU <u>UCCUUGGAGC</u>	6
<i>let-7d</i>	CCUAGGAAGAGGUAGUAGGUUGCAUAGU <u>UUUAGGGCAGGGAU</u> UUUGCCCACAAGGAGGUAA <u>CUAUACGACCUGCUGCCU</u> UUCUU AGG	7
<i>let-7d-v1</i>	CUAGGAAGAGGUAGUAGUUUGCAUAGU <u>UUUAGGGCAAAGAU</u> UUUGCCCACAAGUAGUUAGCUAUACGACCUGCAGCCU <u>UUUGU</u> AG	8
<i>let-7d-v2</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACA UUGCCCGCUGUGGAGAUAA <u>CUGCGCAAGCUACUGCCU</u> UGC UA G	9
<i>let-7e</i>	CCCGGGCUGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUUGAGGAGGACACCC AAGGAGAUACUAUACGGCCUCCUAGCUU <u>UCCCCAGG</u>	10
<i>let-7f-1</i>	UCAGAGUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGGUAGUGAU UUUACCCUGUUCAGGAGAUAA <u>CUAUACA</u> AUCUAUUGCCUCC CUGA	11
<i>let-7f-2-1</i>	CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGGUAGUG AUUUUACCCUGUUCAGGAGAUAA <u>CUAUACA</u> AUCUAUUGCCU CCCUGA	12
<i>let-7f-2-2</i>	CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGU <u>UUUAGGGUCAUA</u> CCCCAUCUUGGAGAUAA <u>CUAUACA</u> GUCUACUGUCU <u>UCCCCAC</u> GG	13
<i>let-7g</i>	UUGCCUGAUUCCAGGCUGAGGUAGUAGUUUGUACAGU <u>UUGAG</u> GGUCUAUGAUACCACCCGGUACAGGAGAUAA <u>CUGUACAGGCC</u> ACUGCCUUGCCAGGAACAGCGCGC	14
<i>let-7i</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACA UUGCCCGCUGUGGAGAUAA <u>CUGCGCAAGCUACUGCCU</u> UGC UA G	15
<i>miR-1b-1-1</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCAU <u>AUGAACA</u> UACAAUGC <u>UAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUA</u> UUUUUGGUAG GC	16

<i>miR-1b-1-2</i>	CAGCUAACAAACUUAGUAAUACCUACUCAGAGUACAUACUUCU UUAUGUACCCAUUAUGAACAUACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGA <u>AGUAUGUAUUUUUGGUAGGCAAUA</u>	17
<i>miR-1b-2</i>	GCCUGCUUGGGAAACAUAUCUUCUUUAUAUGCCCAUAUGGACC UGCUAAGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCAGGCCGG G	18
<i>miR-1b</i>	UGGAAACAUAUCUUCUUUAUAUGCCCAUAUGGACCUGCUAAG CUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCA	19
<i>miR-1d</i>	ACCUACUCAGAGUACAUACUUCUUAUAUGUACCCAUUAUGAAC UACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAG GC	20
<i>miR-7-1a</i>	UGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUGU <u>UGUUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAACAAUCACAGUCUGCCA</u> UAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACA	21
<i>miR-7-1b</i>	UUGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUG <u>UUGUUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAACAAUCACAGUCUGCC</u> AUAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACAG	22
<i>miR-7-2</i>	CUGGAUACAGAGUGGACCGGCUGGCCCAUCUGGAAGACUAG <u>UGAUUUUGUUGUUGUCUACUGCGCUCACAAACAAUCCCAG</u> UCUACCUAAUGGUGCCAGCCAUCGCA	23
<i>miR-7-3</i>	AGAUUAGAGUGGCUGUGGUCUAGUGCUGUGUGGAAGACUAGU <u>GAUUUUUGUUGUUCUGAUGUACUACGACAACAAGUCACAGCCG</u> GCCUCAUAGCGCAGACUCCCUUCGAC	24
<i>miR-9-1</i>	CGGGGUUGGUUGUUAUCUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGG UGUGGAGUCUUCAAAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAUAA CCCCA	25
<i>miR-9-2</i>	GGAAGCGAGUUGUUAUCUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGU AUUGGUCUUCAAAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAACUCCU UCA	26
<i>miR-9-3</i>	GGAGGCCCGUUCUCUCUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGC CACAGAGCCGUCAUAAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAGAAAUGA UUCUCA	27
<i>miR-10a</i>	GAUCUGUCUGUCUUCUGUAUAUACCCUGUAGAUCCGAAUUUG <u>UGUAAGGAAUUUUGUGGUCACAAAUUCGUAUCUAGGGGAAUA</u> UGUAGUUGACAUA AACACUCCGCUCU	28

<i>miR-10b</i>	CCAGAGGUUGUAACGUUGUCU <u>AUUAUACCCUGUAGAACCGA</u> <u>AUUUGUGUGGUAUCCGUAUAGUCACAGAUUCGAUUCUAGGGG</u> AAUAUAUGGUCGAUGCAAAAAUCUCA	29
<i>miR-15a-2</i>	GCGCGAAUGUGUGUUUAAAAAAAAAAUAAAACCUUGGAGUAAAG <u>UAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUGAAAAGGUGCAGGC</u> CAUAUUGUGCUGCCUCAAAAAUAC	30
<i>miR-15a</i>	CCUUGGAGUAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUG AAAAGGUGCAGGCCAUUUGUGCUGCCUCAAAAAUACAAGG	31
<i>miR-15b-1</i>	CUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAUGCUACAGUCAAGAUGC GAAUCAUUUUUGCUGCUCUAG	32
<i>miR-15b-2</i>	UUGAGGCCUUAAGUACUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAU GCUACAGUCAAGAUGCGAAUCAUUUUUGCUGCUCUAGAAAU UUAAGGAAAUUCAU	33
<i>miR-16-1</i>	GUCAGCAGUGCCU <u>UAGCAGCACGUA</u> AAU <u>AUUGGCGU</u> AAAGAU UCUAAAAUU <u>AUCUCCAGUA</u> UUAA <u>CUGUGCUGCUGA</u> AGUAAGG UUGAC	34
<i>miR-16-2</i>	GUUCCACUCUAGCAGCACGUA <u>AAU</u> AUUGGCGUAGUGAAU <u>U</u> AUUUAAACACCAAU <u>AU</u> ACUGUGCUGCUUUAGUGUGAC	35
<i>miR-16-13</i>	GCAGUGCCU <u>UAGCAGCACGUA</u> AAU <u>AUUGGCGU</u> AAAGAUUCUA AAUU <u>AUCUCCAGUA</u> UUAA <u>CUGUGCUGCUGA</u> AGUAAGGU	36
<i>miR-17</i>	GUCAGAAUAAUGUCA <u>AAAGUGCU</u> UACAGUGCAGGUAGUGAU <u>U</u> GUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUU <u>AUGGUGAC</u>	37
<i>miR-18</i>	UGUUCU <u>AAGGUGCAUCU</u> AGUGCAGAUAGUGAAGUAGAU <u>UAGC</u> AUCUACUGCCC <u>AAGUGC</u> UCCUUCUGGCA	38
<i>miR-18-13</i>	UUUUUGUUCU <u>AAGGUGCAUCU</u> AGUGCAGAUAGUGAAGUAGAU UAGCAUCUACUGCCC <u>AAGUGC</u> UCCUUCUGGCAU <u>AAGAA</u>	39
<i>miR-19a</i>	GCAGUCCUCUGUUAGUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAAGAA UGUAGUUGUGCAA <u>AUCUAUGCAA</u> AAACUGAUGGUGGCCUGC	40

<i>miR-19a-13</i>	CAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAAU GUAGUUGUGCAA <u>AUCUAUGCAAACUGAUGGUGGCCUG</u>	41
<i>miR-19b-1</i>	CACUGUUCUAUGG <u>UUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUG</u> UGAUAAUUCUGCUGUGCAA <u>UCCAUGCAAACUGACUGUGGUA</u> GUG	42
<i>miR-19b-2</i>	ACAUUGCACUACAAUUAAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGC GUAUUAUAGUAUAUGUGGCCUGUGCAA <u>UCCAUGCAAACUGA</u> UUGUGAUAAUGU	43
<i>miR-19b-13</i>	UUCUAUGG <u>UUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUGUGAUA</u> UUCUGCUGUGCAA <u>UCCAUGCAAACUGACUGUGGUAG</u>	44
<i>miR-19b-X</i>	UUACA <u>AUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGCGUAUUAUAGU</u> AUAUGUGGCCUGUGCAA <u>UCCAUGCAAACUGAUUGUGAU</u>	45
<i>miR-20 (miR-20a)</i>	GUAGCACUAAAGUG <u>CUUAUAGUGCAGGUAGUGUUUAGUUAUC</u> UACUGCAUUAUGAGCACUAAAGUACUGC	46
<i>miR-21</i>	UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCA UGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA	47
<i>miR-21-17</i>	ACCUUGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAU CUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA <u>UUUUG</u>	48
<i>miR-22</i>	GGCUGAGCCGCAGUAGUUCUUCAGUGGCAAGCUUAUGUCCU GACCCAGCUAAAGCUGCCAGUUGAAGAACUGUUGCCCUCUGC C	49
<i>miR-23a</i>	GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUGUCAC AAAUACA <u>AUUGCCAGGGAUUCCAACCGACC</u>	50
<i>miR-23b</i>	CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGGU <u>UCCUGGCAUGCUGAUUUG</u> UGACUUAAGAUUAAA <u>UACA</u> UUGCCAGGGAUUACCACGCAA CCACGACCUUGGC	51
<i>miR-23-19</i>	CCACGGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUG UCACAAAUCACA <u>UUGCCAGGGAUUCCAACCGACCCUGA</u>	52

ES 2 465 600 T3

<i>miR-24-1</i>	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUUCAGUUCUCAUUUUACACA CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	53
<i>miR-24-2</i>	CUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGUUGGUUUG UGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGG	54
<i>miR-24-19</i>	CCCUGGGCUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGU UGGUUUGUGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGGG	55
<i>miR-24-9</i>	CCCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUUCAGUUCUCAUUUUACA CACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGCAUC	56
<i>miR-25</i>	GGCCAGUGUUGAGAGGGCGGAGACUUGGGCAAUUGCUGGACGC UGCCCUGGGCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACAGUGCCGGCC	57
<i>miR-26a</i>	AGGCCGUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAG GUCCCAAUGGCCUAUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGCGGGC CU	58
<i>miR-26a-1</i>	GUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAGGUCCC AAUGGGCCUAUUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGC	59
<i>miR-26a-2</i>	GGCUGUGGCUGGAUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUUUCCA UCUGUGAGGCCUAUUCUUGAUUACUUGUUUCUGGAGGCAGCU	60
<i>miR-26b</i>	CCGGGACCCAGUUCAAGUAAUUCAGGAUAGGUUGUGUGCUGU CCAGCCUGUUCUCCAUAUACUUGGCUCGGGGACCGG	61
<i>miR-27a</i>	CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACC AAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCCCAG	62
<i>miR-27b-1</i>	AGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAGUGAUUGGUUCC GCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACCU	63
<i>miR-27b-2</i>	ACCUCUCUAACAAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAG UGAUUGGUUCCGCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACC UGAAGAGAAGGUG	64

<i>miR-27-19</i>	CCUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACAC CAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCCAGG	65
<i>miR-28</i>	GGUCCUUGCCCUCAAGGAGCUCACAGUCUAUUGAGUUACCUU UCUGACUUUCCCACUAGAUUGUGAGCUCCUGGAGGGCAGGCA CU	66
<i>miR-29a-2</i>	CCUUCUGUGACCCCUUAGAGGAUGACUGAUUUUUUGGUGU UCAGAGUCAAUUAUAAUUUCUAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA UAAUGAUUGGGGAAGAGCACCAUG	67
<i>miR-29a</i>	AUGACUGAUUUUUUGGUGUUCAGAGUCAAUUAUAAUUUCU AGCACCAUCUGAAAUCGGUUAU	68
<i>miR-29b-1</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUUAGGUGGUUUAGAUUUAAAUAG UGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGGG	69
<i>miR-29b-2</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCCUUAGAUUUUCCAU CUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUUUAGGAG	70
<i>miR-29c</i>	ACCACUGGCCCAUCUCUUACACAGGCUGACCGAUUUCUCCUG GUGUUCAGAGUCUGUUUUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCGGU UAUGAUGUAGGGGGAAAAGCAGCAGC	71
<i>miR-30a</i>	GCGACUGUAAACA <u>UCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCACAGA</u> UGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGC	72
<i>miR-30b-1</i>	AUGUAAACA <u>UCCUACACUCAGCUGUAAUACAUGGAUUGGCUG</u> GGAGGUGGAUGUUUACGU	73
<i>miR-30b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUC <u>AGUAAACAUCCUACACUCAGCUGUAA</u> UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	74
<i>miR-30c</i>	AGAUACUGUAAACA <u>UCCUACACUCUCAGCUGUGGAAAGUAAG</u> AAAGCUGGGAGAAGGCUGUUUACUCUUUCU	75
<i>miR-30d</i>	GUUGU <u>UGUAAACAUCCCCGACUGGAAGCUGUAAAGACACAGCU</u> AAGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC	76

<i>miR-30e</i>	CUGUAAACA <u>UCCUUGACUGGAAGCUGUAAGGUGUUCAGAGGA</u> GCUUUCAGUCGGAUGUUACAG	77
<i>miR-31</i>	GGAGAGGAGGCAAGAUGCUGGCAUAGCUGUUGAACUGGGAAC CUGCUAUGCCAACAUAUUGCCAUCUUCC	78
<i>miR-32</i>	GGAGAU <u>AUUGCACAUA</u> CUAAGUUGCAUGUUGUCACGGCCUC AAUGCAAUUUAGUGUGUGUGAUUUUUC	79
<i>miR-33b</i>	GGGGCCGAGAGAGGGCGGGCGGCCCGCGGUGCAUUGCUGUU GCAUUGCACGUGUGUGAGGGCGGGUGCAGUGCCUCGGCAGUGC AGCCCGGAGCCGGCCCCUGGCACCAC	80
<i>miR-33b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUC <u>AUGUAAACA</u> UCCUACACUCAGCUGUAA UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	81
<i>miR-33</i>	CUGUGGUGCAUUG <u>UAGUUGCAUUGCA</u> UGUUCUGGUGGUACCC AUGCAAUGUUUCCACAGUGCAUCACAG	82
<i>miR-34-a</i>	GGCCAGCUGUGAGUGUUUCUUUGGCAGUGUCUUAGCUGGUUG UUGUGAGCAAUAGUAAGGAAGCAAUCAGCAAGUAUACUGCCC UAGAAGUGCUGCACGUUGUGGGGCC	83
<i>miR-34-b</i>	GUGCUCGGUUUGU <u>AGGCAGUGUCAU</u> UAGCUGAUUGUACUGUG GUGGUUACAAUCACUAAUCCACUGCCAUCAAAAACAAGGCAC	84
<i>miR-34-c</i>	AGUCUAGUUACUAGGCAGUGUAGUUAGCUGAUUGC <u>UAAUAGU</u> ACCAAUCACUAAACCACCGGCCAGGUAAAAAGAUU	85
<i>miR-91-13</i>	UCAGAAUAAUGUCA <u>AAAGUGCUUACAGUGCAGGU</u> AGUGAUUAG UGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGA	86
<i>miR-92-1</i>	CUUUCUACACAGGUUGGGAUCGGUUGCAAUGCUGUGUUUCUG UAUGGUAAUUGCACUUGUCCCGGCCUGUUGAGUUUGG	87
<i>miR-92-2</i>	UCAUCCCUGGGUGGGGAUUUGUUGCAUUA <u>CUUGUGUUCUAUA</u> UAAAGUAUUGCACUUGUCCCGGCCUGUGGAAGA	88

ES 2 465 600 T3

<i>miR-93-1</i> (<i>miR-93-2</i>)	CUGGGGGCUCCA <u>AAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAGUGUGAUUAC</u> CCAACCUACUGCUGAGCUAGCACU <u>UCCCGAGCCCCCGG</u>	89
<i>miR-95-4</i>	AACACAGUGGGCACUCA <u>AAUAAAUGUCUGUUGAAUUGAAAUGC</u> GUUACAUUCAACGGGU <u>AUUUUAUUGAGCACCCACUCUGUG</u>	90
<i>miR-96-7</i>	UGGCCGAUUUUGGCACUAGCACAUUUUUGCUUGUGUCUCUCC GCUCUGAGCAAUCAUGUGCAGUGCCA <u>AAUAUGGGAAA</u>	91
<i>miR-97-6</i> (<i>miR-30*</i>)	GUGAGCGACUGUAAACA <u>UCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCA</u> CAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGU <u>UUGCAGCUGCCUACU</u>	92
<i>miR-98</i>	GUGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUUGUGGGGUAGGGAU <u>AUUAG</u> GCCCAAUUAGAAGAUAA <u>CUAUACAACUACUACUUCC</u>	93
<i>miR-99b</i>	GGCACCCACCCGUAGAACCGACCUUGCGGGGCCUUCGCGGCAC ACAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCGUGUC	94
<i>miR-99a</i>	CCCAUUGGCAUAAACCCGUAGA <u>UCCGAUCUUGUGGUGAAGUG</u> GACCGCACAAGCUCGCUUCUAUGGGUCUGUGUCAGUGUG	95
<i>miR-100-1/2</i>	AAGAGAGAAGAU <u>AUUGAGGCCUGUUGCCACAAACCCGUAGAU</u> <u>CCGAACUUGUGGUUUAGUCCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGG</u> UAUGUGUCUGUUAGGCA <u>AUCUCAC</u>	96
<i>miR-100-11</i>	CCUGUUGCCACAAACCCGUAGA <u>UCCGAACUUGUGGUUUAGU</u> CCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGGUAUGUGUCUGUUAGG	97
<i>miR-101-1/2</i>	AGGCUGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCUAU UCUAAAGGUACAGUACUGUGAUAA <u>CUGAAGGAUGGCAGCCA</u> CUUACCUUCCAUCAGAGGAGCCUCAC	98
<i>miR-101</i>	UCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCCA <u>UUCUAAAGGUACAG</u> <u>UACUGUGAUAA<u>CUGA</u></u>	99
<i>miR-101-1</i>	UGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCUAUUCUA AAGGUACAGUACUGUGAUAA <u>CUGAAGGAUGGCA</u>	100

ES 2 465 600 T3

<i>miR-101-2</i>	ACUGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUAUCU GAAAGGUACAGUACUGUGAUAACUGAAGAAUGGUGGU	101
<i>miR-101-9</i>	UGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUAUCUGA AAGGUACAGUACUGUGAUAACUGAAGAAUGGUG	102
<i>miR-102-1</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCUUAGAUUUUCCA CUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUUUAGGAG	103
<i>miR-102-7.1</i> (<i>miR-102-7.2</i>)	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUUAUGGUGGUUUAGAUUUAAAUAG UGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGGG	104
<i>miR-103-2</i>	UUGUGCUUUCAGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUAGCAUUCA GGUCAAGCAACAUUGUACAGGGCUAUGAAAGAACCA	105
<i>miR-103-1</i>	UACUGCCCUCGGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUUGCAUAUG GAUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGAAGGCAUUG	106
<i>miR-104-17</i>	AAAUGUCAGACAGCCCAUCGACUGGUGUUGCCAUGAGAUUCA ACAGUCAACAUCAGUCUGAUAAGCUACCCGACAAGG	107
<i>miR-105-1</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU CAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUACGGUGUCUA	108
<i>miR-105-2</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU UAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUAUGGUGUCUA	109
<i>miR-106-a</i>	CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUCUACAGUGCAGGUAGCUUUUUG AGAUCUACUGCAAUGUAAGCACUUCUACAUUACCAUGG	110
<i>miR-106-b</i>	CCUGCCGGGGCUAAAAGUGCUCAGACAGUGCAGAUAGUGGUCCUC UCCGUGCUACCGCACUGUGGGUACUUGCUGCUCCAGCAGG	111
<i>miR-107</i>	CUCUCUGCUUUCAGCUUCUUACAGUGUUGCCUUGUGGCAUG GAGUUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCAAAGCACAGA	112

<i>miR-108-1-pequeño</i>	ACACUGCAAGAACAUAAGGAUUUUUAGGGGCAUUAUGACUG AGUCAGAAAACACAGCUGCCCCUGAAAGUCCCUCAUUUUUCU UGCUGU	113
<i>miR-108-2-pequeño</i>	ACUGCAAGAGCAAUAAGGAUUUUUAGGGGCAUUAUGAUAGUG GAAUGGAAACACAUCUGCCCCAAAAGUCCCUCAUUUU	114
<i>miR-122a-1</i>	CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCUA AACUAUCAAAACGCCAUUAUCACACUAAAUAGCUACUGCUAGG C	115
<i>miR-122a-2</i>	AGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCCAAACUAUCA ACGCCAUUAUCACACUAAAUAGCU	116
<i>miR-123</i>	ACAUAUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUCAAACUCGU ACCGUGAGUAAUAUGCGC	117
<i>miR-124a-1</i>	AGGCCUCUCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAAUG UCCAUAACAUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAAUGGGGCU G	118
<i>miR-124a-2</i>	AUCAAGAUUAGAGGCUCUGCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCU UGAUUUAAUGUCAUACAUAUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAG AGCGGAGCCUACGGCUGCACUUGAAG	119
<i>miR-124a-3</i>	UGAGGGCCCCUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUG UCUAUAACAUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAGAGGGCGCC UCC	120
<i>miR-124a</i>	CUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCAUACAA UUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG	121
<i>miR-124b</i>	CUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCAUACAAU UAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG	122
<i>miR-125a-1</i>	UGCCAGUCUCUAGGUCCCUGAGACCCUUUAACCUUGUGAGGAC AUCCAGGGUCACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGGCGUCUGG CC	123
<i>miR-125a-2</i>	GGUCCCUGAGACCCUUUAACCUUGUGAGGACAUCCAGGGUCAC AGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGG	124

<i>miR-125b-1</i>	UGC <u>GC</u> UCCUCUCAGU <u>CCCUGAGACCCUAACUUGUGAUGUUAA</u> CCGUUUAAA <u>UCCACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCUGCGAGUCG</u> UGCU	125
<i>miR-125b-2</i>	ACCAGACUUUUCCUAGU <u>CCCUGAGACCCUAACUUGUGAGGUA</u> UUUUAGUAACAUCACAAGUCAGGCUCUUGGGACCUAGGCGGA GGGGA	126
<i>miR-126-1</i>	CGCUGGCGACGGGACA <u>UUUUACUUUUGGUACGCGCUGUGAC</u> ACUUCAAACUCGU <u>ACCGUGAGUAAUAAUGCGCCGUCCACGGC</u> A	127
<i>miR-126-2</i>	<u>ACAUUAAUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUUCAAACUCGU</u> <u>ACCGUGAGUAAUAAUGCGC</u>	128
<i>miR-127-1</i>	UGUGAUCACUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUG AUUCAGAAAGAUC <u>AUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG</u> AAGUCUCAUCAUC	129
<i>miR-127-2</i>	CCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAAAGAUC UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG	130
<i>miR-128a</i>	UGAGCUGUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUU ACAUUUCUCACAGUGA <u>ACCGGUCUCUUUUUCAGCUGCUUC</u>	131
<i>miR-128b</i>	GCCCGGCAGCCACUGUGCAGUGGGGAAGGGGGCCGAUACACU GUACGAGAGUGAGUAGCAGGUCUCACAGUGA <u>ACCGGUCUCUU</u> <u>UCCCUACUGUGUCACACUCCUAAUGG</u>	132
<i>miR-128</i>	GUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUUACAUUU CUCACAGUGA <u>ACCGGUCUCUUUUUCAGC</u>	133
<i>miR-129-1</i>	UGGAUCUUUUUGCGGUCUGGGCU <u>UGCUGU</u> UCCUCUACAGU AGUCAGGAAGCCCU <u>UACCCCAAAAAGUAUCUA</u>	134
<i>miR-129-2</i>	UGCCCUUCGCGAAUCUUUUUGCGGUCUGGGCU <u>UGCUGU</u> ACAU AACUCAAUAGCCGGAAGCCCU <u>UACCCCAAAAAGCAUUUGCGG</u> AGGGCG	135
<i>miR-130a</i>	UGCUGCUGGCCAGAGCUCUUUUCACAUUGUGCUACUGUCUGC ACCUGUCACUAGCAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAUUGGCCGUG UAGUG	136

ES 2 465 600 T3

<i>miR-131-1</i>	GCCAGGAGGCGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUG UAUGAGUGGUGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAG <u>UAAAAUAACCCCAUACACUGCGCAG</u>	137
<i>miR-131-3</i>	CACGGCGCGGCAGCGGCACUGGCUAAGGGAGGCCCGUUUCUC UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGCCACAGAGCCGUCAUA AAGCUAGAUAAACCGAAAGUAGAAAUG	138
<i>miR-131</i>	GUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGUAUUGGUCU UCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAAC	139
<i>miR-132-1</i>	CCGCCCCGCGUCUCCAGGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUAC UGUGGGAACUGGAGGUAAACAGUCUACAGCCAUGGUCGCCCCG CAGCACGCCACGCGC	140
<i>miR-132-2</i>	GGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUACUGUGGGAACUGGAGGU AACAGUCUACAGCCAUGGUCGCCC	141
<i>miR-133a-1</i>	ACAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAUCGCCU CUUCA AUGGAU <u>UUGGUCCCCU</u> UCAACCAGCUGUAGCUAUGCA UUGA	142
<i>miR-133a-2</i>	GGGAGCCAAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAA UCGACUGUCCAAUGGAU <u>UUGGUCCCCU</u> UCAACCAGCUGUAGC UGUGCAUUGAUGGCGCCG	143
<i>miR-133</i>	GCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAUCGCCUCUUCA AUGGA UUUGGUCCCCUUCAACCAGCUGUAGC	144
<i>miR-133b</i>	CCUCAGAAGAAAGAUGCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGA ACCAAGUCCGUCU <u>UCCUGAGAGGUUUGGUCCCCU</u> UCAACCAG <u>CUACAGCAGGGCUGGCAAUGCCCAGUCCUUGGAGA</u>	145
<i>miR-133b-pequeño</i>	GCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUCCGUCU <u>UCC</u> UGAGAGGUUUGGUCCCCUUCAACCAGCUACAGCAGGG	146
<i>miR-134-1</i>	CAGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACUGUGUU CACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAACCCUC	147
<i>miR-134-2</i>	AGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACUGUGUUC ACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAACCCU	148

ES 2 465 600 T3

<i>miR-135a-1</i>	AGGCCUCGCGUUCUCUAUGGCCUUUUUAU <u>UCCUAUGUGAUUC</u> UACUGCUCACUCAUAUAGGGAUUGGAGCCGUGGCGCACGGCG GGGACA	149
<i>miR-13a-2</i> (<i>miR-135-2</i>)	AGAUAAAUUCACUCUAGUGCUUU <u>AUGGCCUUUUUAUCCUAUG</u> UG <u>AUAGUAAUAAAGUCUCAUGUAGGGAUGGAAGCCAUGAAA</u> ACAUUGUGAAAAUCA	150
<i>miR-135</i>	CUAUGGCCUUUUUAU <u>UCCUAUGUGAUUCUACUGCUCACUCA</u> UAGGGAUUGGAGCCGUGG	151
<i>miR-135b</i>	CACUCUGCUGUGGCCUAUGGCCUUU <u>UCAUCCUAUGUGAUUGC</u> UGUCCCAAACUCAUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGGCUACAGUG AGGGGCGAGCUCC	152
<i>miR-136-1</i>	UGAGCCCUCGGAGGACUCCA <u>UUUGUUUGAUGAUGGAUUCUU</u> AUGC <u>CCAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCUUCAGAGGGUUCU</u>	153
<i>miR-136-2</i>	GAGGACUCCA <u>UUUGUUUGAUGAUGGAUUCUUAUGCUCCAUC</u> AUCGUCUCAAAUGAGUCUUC	154
<i>miR-137</i>	CUUCGGUGACGGGU <u>AUUCUUGGGUGGAUAAUACGGAUACGU</u> UGUU <u>AUUGCUUAAGAAUACGCGUAGUCGAGG</u>	155
<i>miR-138-1</i>	CCCUGGCAUGGUGUGGGGGCAGCUGGUGU <u>UGUGAAUCAGG</u> CCGUUGCCAAUCAGAGAACGGCUACUUCACAACACCAGGGCC ACACCACACUACAGG	156
<i>miR-138-2</i>	CGUUGCUGCAGCUGGUGU <u>UGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCG</u> CAUCCUCU <u>UACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGUUGCAUCA</u>	157
<i>miR-138</i>	CAGCUGGUGU <u>UGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCGCAUCCUCU</u> UACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGUUG	158
<i>miR-139</i>	GUGUAU <u>UCUACAGUGCACGUGUCUCCAGUGUGGCUCGGAGGC</u> UGGAGACGCGGCCCU <u>GUUGGAGUAAC</u>	159
<i>miR-140</i>	UGUGUCUCUCUCUGUGUCCUGCCAGUGGUUUU <u>UACCCUAUGGU</u> <u>AGGUUACGUCAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGAC</u> AGGAUACCGGGGCACC	160

<i>miR-140as</i>	UCCUGCC <u>AGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUU</u> ACGUCAUGCUG UUCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGGA	161
<i>miR-140s</i>	CCUGCC <u>AGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUU</u> ACGUCAUGCUGU UCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGG	162
<i>miR-141-1</i>	CGGCCGGCCUGGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGU CUAAUUGUGAAGCUCCU <u>AAACACUGUCUGGUA</u> AAAGAUGGCUCC CGGGUGGGUUC	163
<i>miR-141-2</i>	GGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUCUAAUUGUGAA GCUCCUAAACACUGUCUGGUA <u>AAAGAUGGCC</u> C	164
<i>miR-142</i>	ACCCAUA <u>AAAGUAGAAAGCACUACU</u> AAACAGCACUGGAGGGUGU AGUGUUCCUACUUUAUGGAUG	165
<i>miR-143-1</i>	GCGCAGCGCCUGUCUCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUC UCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGG AAGAGAGAAGUUGUUCUGCAGC	166
<i>miR-143-2</i>	CCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGA GAUGAAGCACUGUAGCUCAGG	167
<i>miR-144-1</i>	UGGGGCCUGGCUGGGAUUCAUCAUAUACUGUAAGUUUGCG AUGAGACACUACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUCCGGGCACCC CC	168
<i>miR-144-2</i>	GGCUGGGAUUCAUCAUAUACUGUAAGUUUGCGAUGAGACAC UACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUC	169
<i>miR-145-1</i>	CACCUUGUCCUCACGGUCCAGUUU <u>UCCCAGGAAUCCCU</u> UAGA UGCUAAGAUGGGGAUCCUGGAAAUACUGUUCUUGAGGUCAU GGUU	170
<i>miR-145-2</i>	CUCACGGUCCAGUUU <u>UCCCAGGAAUCCCU</u> UAGAUGCUAAGAU GGGGAUCCUGGAAAUACUGUUCUUGAG	171
<i>miR-146-1</i>	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUUGAGAACUGAAUCCAUGGGUU GUGUCAGUGUCAGACCUCUGAAAUUCAGUUCUUCAGCUGGGA UAUCUCUGUCAUCGU	172

<i>miR-146-2</i>	AGCUUUGAGAACUGAAUCCAUGGGUUGUGUCAGUGUCAGAC CUGUGAAAUUCAGUUCUUCAGCU	173
<i>miR-147</i>	AAUCUAAAGACAACAUUUCUGCACACACACCAGACUAUGGAA GCCAGUGUGUGGAAAUGCUUCUGCUAGAUU	174
<i>miR-148a</i> (<i>miR-148</i>)	GAGGCAAAGUUCUGAGACACUCCGACUCUGAGUAUGAUAGAA GUCAGUGCACUACAGAACUUUGUCUC	175
<i>miR-148b</i>	CAAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUC AGGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAUCACAGAACUUUGU CUCGAAAGCUUUCUA	176
<i>miR-148b-</i> <i>pequeño</i>	AAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUCA GGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAU	177
<i>miR-149-1</i>	GCCGGCGCCCGAGCUCUGGCUCGUGUCUUCACUCCCGUGCUU GUCCGAGGAGGGAGGGAGGGACGGGGGCUGUGCUGGGGCAGC UGGA	178
<i>miR-149-2</i>	GCUCUGGCUCGUGUCUUCACUCCCGUGCUUGUCCGAGGAGG GAGGGAGGGAC	179
<i>miR-150-1</i>	CUCCCCAUGGCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGC UCAGACCCUGGUACAGGCCUGGGGGACAGGGACCUGGGGAC	180
<i>miR-150-2</i>	CCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGCUCAGACCCUG GUACAGGCCUGGGGGACAGGG	181
<i>miR-151</i>	UUUCCUGCCCUCGAGGAGCUCACAGUCUAGUAUGUCUCAUCC CCUACUAGACUGAAGCUCCUUGAGGACAGG	182
<i>miR-151-2</i>	CCUGUCCUCAAGGAGCUUCAGUCUAGUAGGGGAUGAGACAU CUAGACUGUGAGCUCCUCGAGGGCAGG	183
<i>miR-152-1</i>	UGUCCCCCGGCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGC UCUGGAGCAGUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCCGGAAGGA CC	184

<i>miR-152-2</i>	GGCCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGCUCUGGAGCA GUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCCCGG	185
<i>miR-153-1-1</i>	CUCACAGCUGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUCUGCAGCUAGUAU UCUCACUCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGCAGG UGUGGC	186
<i>miR-153-1-2</i>	UCUCUCUCUCCCCUCACAGCUGCCAGUGUCAUUGUCACAAAAG UGAUCAUUGGCAGGUGUGGCUGCUGCAUG	187
<i>miR-153-2-1</i>	AGCGGUGGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAU AUGAGCCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGAAACU GUG	188
<i>miR-153-2-2</i>	CAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAUAUGAGCCCA GUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUG	189
<i>miR-154-1</i>	GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUAU UUGUGACGAAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUUCAGUACCAA	190
<i>miR-154-2</i>	GAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUAUUUGUGACGA AUCAUACACGGUUGACCUAUUUUU	191
<i>miR-155</i>	CUGUUA AUGCUAAUCGUGAUAGGGGUUUUUGCCUCCAACUGA CUCCUACAUAUUAGCAUUAACAG	192
<i>miR-156</i> = <i>miR-157</i> = <i>solapamiento</i> <i>con miR-141</i>	CCUAACACUGUCUGGUAAGAUGGCUCCCGGGUGGGUUCUCU CGGCAGUAACCUUCAGGGAGCCCUGAAGACCAUGGAGGAC	193
<i>miR-158- pequeño</i> = <i>miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAG CCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUCCAUAUGGUCA CAGGUAUGUUCGCCUCAUUGCCAGC	194
<i>miR-159-1- pequeño</i>	UCCCGCCCCUGUAAACAGCAACUCCAUGUGGAAGUGCCCACUG GUUCCAGUGGGGCUGCUGUUAUCUGGGGCGAGGGCCA	195
<i>miR-161- pequeño</i>	AAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGUGACUGGUC UGGGCUACGCUAUGCUGCGGGCUCGGG	196

<i>miR-163-1b-pequeño</i>	CAUUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCCACC CGGGGUAAGAAAGGCCGAAUU	197
<i>miR-163-3-pequeño</i>	CCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCCACCUGGGGUAGA GGUGAAAGUCCUUUUACGGAAUUUUUU	198
<i>miR-162</i>	CAAUGUCAGCAGUGCCU <u>AGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUA</u> AGA <u>UUCUAAAAUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGU</u> AAGGUUGACCAUACUCUACAGUUG	199
<i>miR-175-pequeño</i> = <i>miR-224</i>	GGGCUUCAAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUGAUUGU GCAUUGUUUCAA <u>AAUGGUGCCCUAGUGACUACAAAGCCC</u>	200
<i>miR-177-pequeño</i>	ACGCAAGUGUCCUAAGGUGAGCUCAGGGAGCACAGAAACCUC CAGUGGAACAGAAAGGGCAAAGCUCAUU	201
<i>miR-180-pequeño</i>	CAUGUGUCACUUUCAGGUGGAGUUUCAAGAGUCCCUUCCUGG UUCACCGUCUCCUUUGCUCUCCACAAC	202
<i>miR-181a</i>	AGAAGGGCUAUCAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCCAAGGAACA <u>UUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGGAUUUUGAAAAACCACUGA</u> CCGUUGACUGUACCUUGGGGUCCUUA	203
<i>miR-181b-1</i>	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUAAAAGGUCACAAUCAACA <u>UUC</u> <u>AUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA</u> CAAUGAAUGCAACUGUGGCCCCGCUU	204
<i>miR-181b-2</i>	CUGAUGGCUGCACUCAACA <u>UUCAUUGCUGUCGGUGGGUUUGA</u> GUCUGAAUCAACUCACUGAUCAAUGAAUGCAAACUGCGGACC AAACA	205
<i>miR-181c</i>	CGGAAAAUUUGCCAAGGGUUUGGGGGAACA <u>UUC</u> AA <u>CCUGUCG</u> <u>GUGAGUUUGGGCAGCUCAGGCAAACCAUCGACCGUUGAGUGG</u> ACCCUGAGGCCUGGAAUUGCCA <u>UCCU</u>	206
<i>miR-182-as</i>	GAGCUGCUUGCCUCCCCCGUUUUUGGCAAUGGUAGA <u>ACUCA</u> <u>CACUGGUGAGGUAACAGGAUCCGGUGGUUCUAGACUUGCCAA</u> <u>CUAUGGGGCGAGGACUCAGCCGGCAC</u>	207
<i>miR-182</i>	UUUUUGGCAAUGGUAGA <u>ACUCACACUGGUGAGGUAACAGGAU</u> CCGGUGGUUCUAGACUUGCCAACUAUGG	208

<i>miR-183</i>	CCGCAGAGUGUGACUCCUGUUCUGUGUAUGGCACUGGUAGAA UUCACUGUGAACAGUCUCAGUCAGUGAAUUACCGAAGGGCCA UAAACAGAGCAGAGACAGAUCCACGA	209
<i>miR-184-1</i>	CCAGUCACGUCCCCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGAC UGUAAGUGUUGGACGGAGAACUGAUAAGGGUAGGUGAUUGA	210
<i>miR-184-2</i>	CCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGACUGUAAGUGUUG GACGGAGAACUGAUAAGGGUAGG	211
<i>miR-185-1</i>	AGGGGGCGAGGGAAUUGGAGAGAAAGGCAGUUCUGAUGGUCC CCUCCCCAGGGGCUGGCUUUCCUCUGGUCCUCCCCUCCA	212
<i>miR-185-2</i>	AGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUUCUGAUGGUCCCCUCCCCA GGGGCUGGCUUUCCUCUGGUCCUU	213
<i>miR-186-1</i>	UGCUUGUAACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGG UUUUAUUUUAAGCCCAAGGUGAAUUUUUUGGGAAGUUUGA GCU	214
<i>miR-186-2</i>	ACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGGUUUUAUUU UAAGCCCAAGGUGAAUUUUUUGGGAAGU	215
<i>miR-187</i>	GGUCGGGCUCACCAUGACACAGUGUGAGACUCGGGCUACAAC ACAGGACCCGGGGCGCUGCUCUGACCCCUCGUGUCUUGUGUU GCAGCCGGAGGGACGCAGGUCCGCA	216
<i>miR-188-1</i>	UGCUCUUCUCUCACAUCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUU UCUGAAAACCCCUCCCAUGCAGGGUUUGCAGGAUGGCGAG CC	217
<i>miR-188-2</i>	UCUCACAUCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUUUCUGAAAAC CCCUCCCACAUGCAGGGUUUGCAGGA	218
<i>miR-189-1</i>	CUGUCGAUUGGACCCGCCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUAU CAGUUCUCAUUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGG AGUCGAGCCCUUGAGCAA	219
<i>miR-189-2</i>	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUUCAGUUCUCAUUUUACACA CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	220

<i>miR-190-1</i>	UGCAGGCCUCUGUGUGAU <u>AUGUUUGAUUAUUAGGUUGUUAU</u> UUA <u>AUCCAACUAUAUAUCAAAACAUAU</u> UCCUACAGUGUCUUGC C	221
<i>miR-190-2</i>	CUGUGUGAU <u>AUGUUUGAUUAUUAGGUUGUUAUUAAUCCA</u> ACUAUAUAUCAAAACAUAU <u>UCCUACAG</u>	222
<i>miR-191-1</i>	CGGCUGGACAGCGGGCAACGGAAUCCCAAAGCAGCUGUUGU CUCCAGAGCAU <u>UCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUC</u> CCCUGCUC UCCUGCCU	223
<i>miR-191-2</i>	AGCGGGCAACGGAAUCCCAAAGCAGCUGUUGUCUCCAGAGC AU <u>UCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUC</u> CCCUGCU	224
<i>miR-192-2/3</i>	CCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAGC CAGUGCUCUCGUCU <u>CCCCUCUGGCUGCCAAU</u> UCCAUAGGUCAC AGGUAUGUUCGCCUCA <u>U</u> GCCAG	225
<i>miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAG CCAGUGCUCUCGUCU <u>CCCCUCUGGCUGCCAAU</u> UCCAUAGGUCA CAGGUAUGUUCGCCUCA <u>U</u> GCCAGC	226
<i>miR-193-1</i>	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGA GGGUGUCGGAUCAACUGGGCCUACA <u>AAAGUCC</u> CAGUUCUCGGCC CCCG	227
<i>miR-193-2</i>	GCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCAACUGG CCUACA <u>AAAGUCC</u> CAGU	228
<i>miR-194-1</i>	AUGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGU ACCAAUUUCCAGUGGAGAUGCUGUACUUUUGAUGGUUACCA A	229
<i>miR-194-2</i>	GUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAAUUUCCAGU GGAGAUGCUGUACUUUUGAU	230
<i>miR-195-1</i>	AGCUUCCUGGCUCU <u>UAGCAGCACAGAAUAU</u> UGGCACAGGGA AGCGAGUCUGCCAAUAUUGGCUGUGCUGCUC <u>UCCAGGCAGGGUG</u> GUG	231
<i>miR-195-2</i>	<u>UAGCAGCACAGAAUAUUGGCACAGGGAAGCGAGUCUGCCAA</u> <u>UAUUGGCUGUGCUGCU</u>	232

<i>miR-196-1</i>	CUAGAGCUUGAAUUGGAACUGCUGAGUGAAU <u>UAGGUAGUUUC</u> <u>AUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAACACAACAACAUA</u> AAACC ACCCGAUUCACGGCAGUUACUGCUC	233
<i>miR-196a-1</i>	GUGAAU <u>UAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAA</u> CACAACAACAUA <u>AAACCACCCGAUUCAC</u>	234
<i>miR-196a-2</i> (<i>miR-196-2</i>)	UGCUCGCUCAGCUGAUCUGUGGCU <u>UAGGUAGUUUCAUGUUGU</u> <u>UGGGAUUGAGUUUGAACUCGGCAACAAGAAACUGCCUGAGU</u> UACAUCAGUCGGUUUCGUCGAGGGC	235
<i>miR-196</i>	GUGAAU <u>UAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAA</u> CACAACAACAUA <u>AAACCACCCGAUUCAC</u>	236
<i>miR-196b</i>	ACUGGUCGGUGAUU <u>UAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGAUCCAC</u> CUUUCUCUCGACAGCACGACACUGCCUUCAUUACUUCAGUUG	237
<i>miR-197</i>	GGCUGUGCCGGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAAGAGCUCU CACCCUUCACCACCUUCUCCACCCAGCAUGGCC	238
<i>miR-197-2</i>	GUGCAUGUGUAUGUAUGUGUGCAUGUGCAUGUGUAUGUGUA UGAGUGCAUGCGUGUGUC	239
<i>miR-198</i>	UCAUUGGUCCAGAGGGGAGAU <u>AGGUUCCUGUGAUUUUCCU</u> CUUCUCUAUAGAAUAAAUGA	240
<i>miR-199a-1</i>	GCCA <u>ACCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAU</u> GUGUACAGUAGUCUGCACA <u>UUGGUAGGC</u>	241
<i>miR-199a-2</i>	AGGAAGCUUCUGGAGAUCCUGCUC <u>CGUCGCCCCAGUGUUCAG</u> <u>ACUACCUGUUCAGGACA AUGCCGUUGUACAGUAGUCUGCACA</u> <u>UUGGUUAGACUGGGCAAGGGAGAGCA</u>	242
<i>miR-199b</i>	CCAGAGGACACCUCCACUCCGUCU <u>ACCCAGUGUUUAGACUAU</u> <u>CUGUUCAGGACUCCCAAUUGUACAGUAGUCUGCACA</u> <u>UUGGU</u> <u>UAGGCUGGGCUGGGUUAGACCCUCGG</u>	243
<i>miR-199s</i>	GCCA <u>ACCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAU</u> GUGUACAGUAGUCUGCACA <u>UUGGUAGGC</u>	244

<i>miR-200a</i>	GCCGUGGCCAUCUUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCAGGUC UCUAAUACUGCCUGGUAUAUGAUGACGGC	245
<i>miR-200b</i>	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUCUJACUGGGCAGCAUUGGA UGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAUAUGAUGACGGCGG AGCCCUGCACG	246
<i>miR-200c</i>	CCCUCGUCUUACCCAGCAGUGUUUGGGUGCGGUUGGGAGUCU CUAAUACUGCCGGGUAUAUGAUGGAGG	247
<i>miR-202</i>	GUUCCUUUUUCCUAUGCAUAUACUUCUUUGAGGAUCUGGCCU AAAGAGGUUAUAGGGCAUGGGAAGAUGGAGC	248
<i>miR-203</i>	GUGUUGGGGACUCGCGCGCUGGGUCCAGUGGUUCUUAACAGU UCAACAGUUCUGUAGCGCAAUUGUGAAAUGUUUAGGACCACU AGACCCGGCGGGCGCGGCGACAGCGA	249
<i>miR-204</i>	GGCUACAGUCUUUCUUAUGUGACUCGUGGACUCCCUUUGU CAUCCUAUGCCUGAGAAUAUAUGAAGGAGGCUGGGAAGGCAA AGGGACGUUCAAUUGUCAUCACUGGC	250
<i>miR-205</i>	AAAGAUCUCAGACAAUCCAUGUGCUUCUCUUGUCCUUAUU CCACCGGAGUCUGUCUCAUACCCAACCAGAUUUCAGUGGAGU GAAGUUCAGGAGGCAUGGAGCUGACA	251
<i>miR-206-1</i>	UGCUUCCCGAGGCCACAUGCUUCUUUAUAUCCCCAUUAUGGAU UACUUUGCUAUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUCGGCAAG UG	252
<i>miR-206-2</i>	AGGCCACAUGCUUCUUUAUAUCCCCAUUAUGGAUUACUUUGCU AUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUU	253
<i>miR-208</i>	UGACGGGCGAGCUUUUGGCCCCGGGUUAUACCUGAUGCUCACG UAUAAGACGAGCAAAAAGCUUGUUGGUCA	254
<i>miR-210</i>	ACCCGGCAGUGCCUCCAGGCGCAGGGCAGCCCCUGCCCACCGC ACACUGCGCUGCCCCAGACCCACUGUGCGUGUGACAGCGGCU GAUCUGUGCCUGGGCAGCGCGACCC	255
<i>miR-211</i>	UCACCUGGCCAUGUGACUUGUGGGCUUCCCUUUGUCAUCCUU CGCCUAGGGCUCUGAGCAGGGCAGGGACAGCAAAGGGGUGCU CAGUUGUCACUCCACAGCACGGAG	256

<i>miR-212</i>	CGGGGCACCCCGCCCGGACAGCGCGCCGGCACCUUGGCUCUAG ACUGCUUACUGCCCGGGCCGCCUCAGUAAACAGUCUCCAGUCA CGGCCACCGACGCCUGGCCCCCGCC	257
<i>miR-213-2</i>	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUAAAAGGUCACAAUCAACAUUC AUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA CAAUGAAUGCAACUGUGGCCCCCGCUU	258
<i>miR-213</i>	GAGUUUUGAGGUUGCUUCAGUGAACAUUCAACGCUGUCGGUG AGUUUGGAAUUA AAAUCAAAACCAUCGACCGUUGAUUGUACC CUAUGGCUAACCAUCAUCUACUCC	259
<i>miR-214</i>	GGCCUGGCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUCUACAC UUGCUGUGCAGAACAUCCGCUCACCUGUACAGCAGGCACAGA CAGGCAGUCACAUGACAACCCAGCCU	260
<i>miR-215</i>	AUCAUUCAGAAAUGGUUAUACAGGAAAUGACCUAUGAAUUGA CAGACAUAUAGCUGAGUUUGUCUGUCAUUUCUUUAGGCCAA UAUUCUGUAUGACUGUGCUACUCAA	261
<i>miR-216</i>	GAUGGCUGUGAGUUGGCUUAAUUCUCAGCUGGCAACUGUGAGA UGUUCAUACAAUCCUCACAGUGGUCUCUGGGAUUAUGCUAA ACAGAGCAAUUUCCUAGCCUCACGA	262
<i>miR-217</i>	AGUAUAAUUAUUACAUAAGUUUUUGAUGUCGCAGAUACUGCAU CAGGAACUGAUUGGAUAAGAAUCAGUCACCAUCAGUCCUAA UGCAUUGCCUUCAGCAUCUAAACAAG	263
<i>miR-218-1</i>	GUGAUAAUGUAGCGAGAUUUUCUGUUGUGCUUGAUCUAACCA UGUGGUUGCGAGGUUAUGAGUAAAACAUGGUUCCGUCAAGCAC CAUGGAACGUCACGCAGCUUUCUACA	264
<i>miR-218-2</i>	GACCAGUCGCUGCGGGGCUUCCUUUGUGCUUGAUCUAACCA UGUGGUUGGAACGAUGGAAACGGAACAUGGUUCUGUCAAGCAC CGCGGAAAGCACCGUGCUCUCCUGCA	265
<i>miR-219</i>	CCGCCCCGGGCCGCGGCUCCUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCG AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAG CCGCCGCCCCCAAACCUCGAGCGGG	266
<i>miR-219-1</i>	CCGCCCCGGGCCGCGGCUCCUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCG AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAG CCGCCGCCCCCAAACCUCGAGCGGG	267
<i>miR-219-2</i>	ACUCAGGGGCUUCGCCACUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUUGU ACGAGUCUGCGGCCAACCGAGAAUUGUGGCUGGACAUCUGUG GCUGAGCUCCGGG	268

ES 2 465 600 T3

<i>miR-220</i>	GACAGUGUGGCAUUGUAGGGCUCCACACCGUAUCUGACACUU UGGGCGAGGGCACCAUGCUGAAGGUGUUCAUGAUGCGGUCUG GGAACUCCUCACGGAUCUUACUGAUG	269
<i>miR-221</i>	UGAACAUCCAGGUCUGGGGCAUGAACCUGGCAUACAAUGUAG AUUUCUGUGUUCGUUAGGCAACAGCUACA <u>UUGUCUGCUGGGU</u> <u>UUCAGGCUACCUGGAAACAUGUUCUC</u>	270
<i>miR-222</i>	GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCAUGGCUCAGUAGCCAG UGUAGAUCUGUCUUUCGUAAUCAGCAGCUACAUCUGGGCUAC <u>UGGGUCUCUGAUGGCAUCUUCUAGCU</u>	271
<i>miR-223</i>	CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCUCCGUGUAUUUGACAAGCU GAGUUGGACACUCCAUGUGGUAGAGUGUCAGUUUGUCAAUA <u>CCCCAAGUGCGGCACAUGCUUACCAG</u>	272
<i>miR-224</i>	GGGCUUUC <u>AAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUGAUUGU</u> GCAUUGUUUCAAAAUGGUGCCCUAGUGACUACAAAGCCC	273
Nombre del Precursor	Secuencia (5' a 3')*	SEC ID N°:
<i>miR-294-1 (chr16)</i>	CAAUCUCCUUUAUCAUGGUAUUGAUUUUUCAGUGCUUCCCU UUUGUGUGAGAGAAGUA	274
<i>miR-296</i>	AGGACCCUCCAGAGGGCCCCCCUCAAUCCUGUUGUGCCUAA UUCAGAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCCUGAAGGGCUCU	275
<i>miR-299</i>	AAGAAUGGUUUACCGUCCACAUAUAUUUGAAUAUGUAUG UGGGAUGGUAACCGCUUCU	276
<i>miR-301</i>	ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUUAUUGCACUACUGUACUUU ACAGCUAGCAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAAGCAUCUGAAAGCA GG	277
<i>miR-302a</i>	CCACCACUAAACGUGGAUGUACUUGC UUUGAAACUAAAGAA GUAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGAUGG	278
<i>miR-302b</i>	GCUCCCUUCA <u>ACUUUAACAUGGAAGUGCUUUCUGUGACUUUA</u> AAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUAGUAGGAGU	279

<i>miR-302c</i>	CCUUUGCUUUUAACAUGGGGGUACCUGCUGUGUGAAACAAAAG UAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGGAGG	280
<i>miR-302d</i>	CCUCUACUUUAACAUGGAGGCACUUGCUGUGACAUGACAAAA AUAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGUGG	281
<i>miR-320</i>	GCUUCGCUCCCCUCCGCCUUCUCUCCCCGGUUCUCCCCGGAGU CGGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGU	282
<i>miR-321</i>	UUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCACCCG GGUAAAAGAAAGGCCGA	283
<i>miR-323</i>	UUGGUACUUGGAGAGAGGUGGUCCGUGGCGCGUUCGCUUUAU UUAUGGCGCACAUUACACGGUCGACCUCUUUGCAGUAUCUAA UC	284
<i>miR-324</i>	CUGACUAUGCCUCCCCGCAUCCCCUAGGGCAUUGGUGUAAAG CUGGAGACCCACUGCCCCAGGUGCUGCUGGGGGUUGUAGUC	285
<i>miR-325</i>	AUACAGUGCUUGGUUCCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGUUUGU GACAUAAUUUGUUUAUUGAGGACCUCCUAUCAAUCAAGCACU GUGCUAGGCUCUGG	286
<i>miR-326</i>	CUCAUCUGUCUGUUGGGCUGGAGGCAGGGCCUUGUGAAGGC GGGUGGUGCUCAGAUCGCCUCUGGGCCCUUCCUCCAGCCCCGA GGCGGAUUCA	287
<i>miR-328</i>	UGGAGUGGGGGGGCAGGAGGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAUAC AGCCCCUGGCCUCUCUGCCCUUCCGUCCCCUG	288
<i>miR-330</i>	CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUAGGCUCU GCAAGAUAACCGAGCAAAGCACACGGCCUGCAGAGAGGCAG CGCUCUGCCC	289
<i>miR-331</i>	GAGUUUGGUUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGUAUGGUCCCAGG GAUCCAGAUCAAACCAGGCCCUUGGGCCUAUCCUAGAACCAA CCUAAGCUC	290
<i>miR-335</i>	UGUUUUGAGCGGGGGUCAAGAGCAAUAACGAAAAAUGUUUGU CAUAAACCGUUUUUCAUUAUUGCUCUCCUGACCUCUCUUAUU GCUAUAUUCA	291

<i>miR-337</i>	GUAGUCAGUAGUUGGGGGGUGGGGAACGGCUUCAUACAGGAGU UGAUGCACAGUUAUCCAGCUCCUAUAUGAUGCCUUUCUUCAU CCCCUUCAA	292
<i>miR-338</i>	UCUCCAACAAUAUCCUGGUGCUGAGUGAUGACUCAGGCGACU CCAGCAUCAGUGAUUUUGUUGAAGA	293
<i>miR-339</i>	CGGGGCGGCCGCUCUCCCUGUCCUCCAGGAGCUCACGUGUGCC UGCCUGUGAGCGCCUCGACGACAGAGCCGGCGCCUGCCCCAGU GUCUGCGC	294
<i>miR-340</i>	UUGUACCUGGUGUGAUUAUAAAGCAAUGAGACUGAUUGUCAU AUGUCGUUUGUGGGAUCCGUCUCAGUUACUUUAUAGCCAUAAC CUGGUAUCUUA	295
<i>miR-342</i>	GAAACUGGGCUCAAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUUGAGGG ACAUGGUUAAUGGAAUUGUCUCACACAGAAAUCGCACCCGUC ACCUUGGCCUACUUA	296
<i>miR-345</i>	ACCCAAACCCUAGGUCUGCUGACUCCUAGUCCAGGGCUCGUG AUGGCUGGUGGGCCUGAACGAGGGGUCUGGAGGCCUGGGUU UGAAUAUCGACAGC	297
<i>miR-346</i>	GUCUGUCUGCCCCGCAUGCCUGCCUCUCUGUUGCUCUGAAGGA GGCAGGGGCUGGGCCUGCAGCUGCCUGGGCAGAGCGGCUCCU GC	298
<i>miR-367</i>	CCAUUACUGUUGC UAAUAUGCAACUCUGUUGAAUAUAAAUUG GAAUUGCACUUUAGCAAUGGUGAUGG	299
<i>miR-368</i>	AAAAGGUGGAUAUCCUUCUAUGUUUAUGUUUUAUUGGUUA AACAUAGAGGAAAUUCCACGUUUU	300
<i>miR-369</i>	UUGAAGGGAGAUCGACCGUGUUAUAUUCGCUUUAUUGACUUC GAAUAAUACAUGGUUGAUCUUUUCUCAG	301
<i>miR-370</i>	AGACAGAGAAGCCAGGUCACGUCUCUGCAGUUACACAGCUCA CGAGUGCCUGCUGGGGUGGAACCUGGUCUGUCU	302
<i>miR-371</i>	GUGGCACUCAAACUGUGGGGGCACUUUCUGCUCUCUGGUGAA AGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUAC	303

<i>miR-372</i>	GUGGGCCUCAAAUGUGGAGCACUAUUCUGAUGUCCAAGUGGA AAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCAC	304
<i>miR-373</i>	GGGAUACUCAAAAUGGGGGCGCUUCCUUUUUGUCUGUACUG GGAAGUGCUCGAUUUUGGGGUGUCCC	305
<i>miR-374</i>	UACAUCGGCCAUAUAUAACAACCUGAUAAGUGUUAUAGCAC UUAUCAGAUUGUAUUGUAAUUGUCUGUGUA	306
<i>miR-hes1</i>	AUGGAGCUGCUCACCCUGUGGGCCUCAAAUGUGGAGGAACUA UUCUGAUGUCCAAGUGGAAAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCA CCGGUGACGCCCAUAUCA	307
<i>miR-hes2</i>	GCAUCCCCUCAGCCUGUGGCACUCAAACUGUGGGGGCACUUU CUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUACCG CUUGAGAAGACUCAACC	308
<i>miR-hes3</i>	CGAGGAGCUCAUACUGGGGAUACUCAAAAUGGGGGCGCUUCC UUUUUGUCUGUUACUGGGAAAGUGCUCGAUUUUGGGGUGUCC CUGUUUGAGUAGGGCAUC	309
* Una secuencia subrayada dentro de una secuencia precursora corresponde a un transcrito de miR procesado maduro (véase Tabla 1b). Algunas secuencias precursoras tienen dos secuencias subrayadas que indican dos miR maduros diferentes que derivan del mismo precursor. Todas las secuencias son humanas.		

Tabla 1b- Secuencias de microARN maduro humano.

Nombre de miARN Maduro	Secuencia de miARN Maduro (5' a 3')	SEC ID N°	microARN precursor correspondiente; véase Tabla 1a
<i>let-7a</i>	ugagguaguagguuguauagu	310	<i>let-7a-1; let-7a-2; let-7a-3; let-7a-4</i>
<i>let-7b</i>	ugagguaguagguugugugguu	311	<i>let-7b</i>
<i>let-7c</i>	ugagguaguagguuguauugguu	312	<i>let-7c</i>
<i>let-7d</i>	agagguaguagguugcauagu	313	<i>let-7d; let-7d-v1</i>
<i>let-7e</i>	ugagguaggagguuguauagu	314	<i>let-7e</i>
<i>let-7f</i>	ugagguaguagauuguauagu	315	<i>let-7f-1; let-7f-2-1; let-7f-2-2</i>
<i>let-7g</i>	ugagguaguaguuuguacagu	316	<i>let-7g</i>
<i>let-7i</i>	ugagguaguaguuugugcu	317	<i>let-7i</i>
<i>miR-1</i>	uggaauguaaagaaguauagua	318	<i>miR-1b; miR-1b-1; miR-1b-2</i>
<i>miR-7</i>	uggaagacuagugauuuuguu	319	<i>miR-7-1; miR-7-1a; miR-7-2; miR-7-3</i>
<i>miR-9</i>	ucuuugguuauacuagcuguauaga	320	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-9*</i>	uaaagcuagauaacgaaagu	321	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-10a</i>	uaccuaguagauccgaaauugug	322	<i>miR-10a</i>
<i>miR-10b</i>	uaccuaguagauccgaaauugu	323	<i>miR-10b</i>

ES 2 465 600 T3

<i>miR-15a</i>	uagcagcacauaaugguuuugug	324	<i>miR-15a; miR-15a-2</i>
<i>miR-15b</i>	uagcagcacaucaugguuuaca	325	<i>miR-15b</i>
<i>miR-16</i>	uagcagcacguaaaauuugcg	326	<i>miR-16-1; miR-16-2; miR-16-13</i>
<i>miR-17-5p</i>	caaagugcuuacagugcagguagu	327	<i>miR-17</i>
<i>miR-17-3p</i>	acugcagugaaggcacuugu	328	<i>miR-17</i>
<i>miR-18</i>	uaaggugcaucuagugcagaua	329	<i>miR-18; miR-18-13</i>
<i>miR-19a</i>	ugugcaaaucuaugcaaaacuga	330	<i>miR-19a; miR-19a-13</i>
<i>miR-19b</i>	ugugcaaaucuaugcaaaacuga	331	<i>miR-19b-1; miR-19b-2</i>
<i>miR-20</i>	uaagugcuuauagugcaggua	332	<i>miR-20 (miR-20a)</i>
<i>miR-21</i>	uagcuuauacagacugauguuga	333	<i>miR-21; miR-21-17</i>
<i>miR-22</i>	aagcugccaguugaagaacugu	334	<i>miR-22</i>
<i>miR-23a</i>	aucacauugccagggauuucc	335	<i>miR-23a</i>
<i>miR-23b</i>	aucacauugccagggauuaccac	336	<i>miR-23b</i>
<i>miR-24</i>	uggcucaguucagcaggaacag	337	<i>miR-24-1; miR-24-2; miR-24-19; miR-24-9</i>
<i>miR-25</i>	cauugcacuugucucggucuga	338	<i>miR-25</i>
<i>miR-26a</i>	uucaaguaauccaggauaggcu	339	<i>miR-26a; miR-26a-1; miR-26a-2</i>
<i>miR-26b</i>	uucaaguaauccaggauaggu	340	<i>miR-26b</i>
<i>miR-27a</i>	uucacaguggcuagaauccgcc	341	<i>miR-27a</i>
<i>miR-27b</i>	uucacaguggcuagaauccug	342	<i>miR-27b-1; miR-27b-2</i>
<i>miR-28</i>	aaggagcucacagucuauugag	343	<i>miR-28</i>
<i>miR-29a</i>	cuagcaccuucgaaauccgguu	344	<i>miR-29a-2; miR-29a</i>
<i>miR-29b</i>	uagcaccuauugaaaucagu	345	<i>miR-29b-1; miR-29b-2</i>
<i>miR-29c</i>	uagcaccuauugaaaucgguua	346	<i>miR-29c</i>
<i>miR-30a-5p</i>	uguaaacauccucgacuggaagc	347	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30a-3p</i>	cuuucagucggauuuugcagc	348	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30b</i>	uguaaacauccuacacucagc	349	<i>miR-30b-1; miR-30b-2</i>
<i>miR-30c</i>	uguaaacauccuacacucucagc	350	<i>miR-30c</i>
<i>miR-30d</i>	uguaaacaucuccgacuggaag	351	<i>miR-30d</i>
<i>miR-30e</i>	uguaaacauccuugacugga	352	<i>miR-30e</i>
<i>miR-31</i>	ggcaagaugcuggcauagcug	353	<i>miR-31</i>
<i>miR-32</i>	uauugcacauuacuaaguugc	354	<i>miR-32</i>
<i>miR-33</i>	gugcauuguaguugcauug	355	<i>miR-33; miR-33b</i>
<i>miR-34a</i>	uggcagugucuauagcugguugu	356	<i>miR-34a</i>
<i>miR-34b</i>	aggcagugucuauagcugauug	357	<i>miR-34b</i>
<i>miR-34c</i>	aggcaguguaguauagcugauug	358	<i>miR-34c</i>
<i>miR-92</i>	uauugcacuuguccggccugu	359	<i>miR-92-2; miR-92-1</i>
<i>miR-93</i>	aaagugcuguucgugcagguag	360	<i>miR-93-1; miR-93-2</i>

ES 2 465 600 T3

<i>miR-95</i>	uucaacggguauuuauugagca	361	<i>miR-95</i>
<i>miR-96</i>	uuuggcacuagcacauuuuugc	362	<i>miR-96</i>
<i>miR-98</i>	ugagguaguaaguuguauuguu	363	<i>miR-98</i>
<i>miR-99a</i>	aacccguagauccgauucuugug	364	<i>miR-99a</i>
<i>miR-99b</i>	cacccguagaaccgaccuugcg	365	<i>miR-99b</i>
<i>miR-100</i>	uacaguacugugauaacugaag	366	<i>miR-100</i>
<i>miR-101</i>	uacaguacugugauaacugaag	367	<i>miR-101-1; miR-101-2</i>
<i>miR-103</i>	agcagcauuguacagggcuaua	368	<i>miR-103-1</i>
<i>miR-105</i>	ucaaauugcucagacuccugu	369	<i>miR-105</i>
<i>miR-106-a</i>	aaaagugcuuacagugcagguagc	370	<i>miR-106-a</i>
<i>miR-106-b</i>	uaaagugcugacagugcagau	371	<i>miR-106-b</i>
<i>miR-107</i>	agcagcauuguacagggcuauca	372	<i>miR-107</i>
<i>miR-122a</i>	uggagugugacaaugguguuugu	373	<i>miR-122a-1; miR-122a-2</i>
<i>miR-124a</i>	uuaaggcacgcgguuauugcca	374	<i>miR-124a-1; miR-124a-2; miR-124a-3</i>
<i>miR-125a</i>	ucccugagaccuuuaaccugug	375	<i>miR-125a-1; miR-125a-2</i>
<i>miR-125b</i>	ucccugagaccuaacuuguga	376	<i>miR-125b-1; miR-125b-2</i>
<i>miR-126*</i>	cauuauuacuuuugguacgcg	377	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-126</i>	ucguaccgugaguaauaauugc	378	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-127</i>	ucggaucggucugagcuuggcu	379	<i>miR-127-1; miR-127-2</i>
<i>miR-128a</i>	ucacagugaaccggucucuuuu	380	<i>miR-128; miR-128a</i>
<i>miR-128b</i>	ucacagugaaccggucucuuuu	381	<i>miR-128b</i>
<i>miR-129</i>	cuuuuugcgucugggcuugc	382	<i>miR-129-1; miR-129-2</i>
<i>miR-130a</i>	cagugcaauguuaaaagggc	383	<i>miR-130a</i>
<i>miR-130b</i>	cagugcaaugaugaaagggcau	384	<i>miR-130b</i>
<i>miR-132</i>	uaacagucuacagccauggucg	385	<i>miR-132-1</i>
<i>miR-133a</i>	uuggucccuuuaaccagcugu	386	<i>miR-133a-1; miR-133a-2</i>
<i>miR-133b</i>	uuggucccuuuaaccagcua	387	<i>miR-133b</i>
<i>miR-134</i>	ugugacugguugaccagaggg	388	<i>miR-134-1; miR-134-2</i>
<i>miR-135a</i>	uauggcuuuuauuccuauuguga	389	<i>miR-135a; miR-135a-2 (miR-135-2)</i>
<i>miR-135b</i>	uauggcuuuuauuccuauugug	390	<i>miR-135b</i>
<i>miR-136</i>	acuccauuuguuuugaugaugga	391	<i>miR-136-1; miR-136-2</i>
<i>miR-137</i>	uaauugcuuaagaauacgcuag	392	<i>miR-137</i>
<i>miR-138</i>	agcugguguugugaauuc	393	<i>miR-138-1; miR-138-2</i>
<i>miR-139</i>	ucuacagugcagcugucu	394	<i>miR-139</i>
<i>miR-140</i>	agugguuuuaccuauugguag	395	<i>miR-140; miR-140as; miR-140s</i>
<i>miR-141</i>	aacacugucugguaaagaugg	396	<i>miR-141-1; miR-141-2</i>
<i>miR-142-3p</i>	uguaguguuuuccuacuuuugga	397	<i>miR-142</i>
<i>miR-142-5p</i>	cauaaaguagaaagcacuac	398	<i>miR-142</i>

ES 2 465 600 T3

<i>miR-143</i>	ugagaugaagcacuguagcuca	399	<i>miR-143-1</i>
<i>miR-144</i>	uacaguauagaugauguacuag	400	<i>miR-144-1; miR-144-2</i>
<i>miR-145</i>	guccaguuuuccaggaaucccuu	401	<i>miR-145-1; miR-145-2</i>
<i>miR-146</i>	ugagaacugaauuccaugguu	402	<i>miR-146-1; miR-146-2</i>
<i>miR-147</i>	guguguggaaaugcuucugc	403	<i>miR-147</i>
<i>miR-148a</i>	ucagugcacuacagaacuugu	404	<i>miR-148a (miR-148)</i>
<i>miR-148b</i>	ucagugcaucacagaacuugu	405	<i>miR-148b</i>
<i>miR-149</i>	ucuggcuccgugucuucacucc	406	<i>miR-149</i>
<i>miR-150</i>	ucucccaaccuuguaccagug	407	<i>miR-150-1; miR-150-2</i>
<i>miR-151</i>	acuagacugaagcuccuugagg	408	<i>miR-151</i>
<i>miR-152</i>	ucagugcaugacagaacuugg	409	<i>miR-152-1; miR-152-2</i>
<i>miR-153</i>	uugcauagucacaaaaguga	410	<i>miR-153-1-1; miR-153-1-2; miR-153-2-1; miR-153-2-2</i>
<i>miR-154</i>	uagguuauccguguugccuucg	411	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-154*</i>	aaucacuacacgguugaccuauu	412	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-155</i>	uuauugcuauucgugauagggg	413	<i>miR-155</i>
<i>miR-181a</i>	aacauucaacgcugucggugagu	414	<i>miR-181a</i>
<i>miR-181b</i>	aacauucauugcugucggugguu	415	<i>miR-181b-1; miR-181b-2</i>
<i>miR-181c</i>	aacauucaaccugucggugagu	416	<i>miR-181c</i>
<i>miR-182</i>	uuuggcaaugguagaacucaca	417	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-182*</i>	ugguucuagacuugccaacua	418	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-183</i>	uauggcacugguagaauucacug	419	<i>miR-183</i>
<i>miR-184</i>	uggacggagaacugauaaggu	420	<i>miR-184-1; miR-184-2</i>
<i>miR-185</i>	uggagagaaaggcaguuc	421	<i>miR-185-1; miR-185-2</i>
<i>miR-186</i>	caaagaauucuccuuuugggcuu	422	<i>miR-186-1; miR-186-2</i>
<i>miR-187</i>	ucgugucuuguguugcagccg	423	<i>miR-187</i>
<i>miR-188</i>	caucccuugcaugguggaggu	424	<i>miR-188</i>
<i>miR-189</i>	gugccuacugagcugauaucagu	425	<i>miR-189-1; miR-189-2</i>
<i>miR-190</i>	ugauauguuugauauuuaggu	426	<i>miR-190-1; miR-190-2</i>
<i>miR-191</i>	caacggaaucccaaaagcagcu	427	<i>miR-191-1; miR-191-2</i>
<i>miR-192</i>	cugaccuauagaauugacagcc	428	<i>miR-192</i>
<i>miR-193</i>	aacuggccuacaaagucccag	429	<i>miR-193-1; miR-193-2</i>
<i>miR-194</i>	uguaacagcaacuccaugugga	430	<i>miR-194-1; miR-194-2</i>
<i>miR-195</i>	uagcagcacagaaauauggc	431	<i>miR-195-1; miR-195-2</i>
<i>miR-196a</i>	uagguaguuucauguuguugg	432	<i>miR-196a; miR-196a-2 (miR196-2)</i>
<i>miR-196b</i>	uagguaguuuuccuguugg	433	<i>miR-196b</i>
<i>miR-197</i>	uuccaccuucuccaccagc	434	<i>miR-197</i>
<i>miR-198</i>	gguccagaggggagauagg	435	<i>miR-198</i>

ES 2 465 600 T3

<i>miR-199a</i>	cccaguguucagacuaccuguuc	436	<i>miR-199a-1; miR-199a-2</i>
<i>miR-199a*</i>	uacaguagucugcacauugguu	437	<i>miR-199a-1; miR-199a-2; miR-199s; miR-199b</i>
<i>miR-199b</i>	cccaguguuuagacuauucuguuc	438	<i>miR-199b</i>
<i>miR-200a</i>	uaacacugucugguaacgaugu	439	<i>miR-200a</i>
<i>miR-200b</i>	cucuaauacugccugguaaugaug	440	<i>miR-200b</i>
<i>miR-200c</i>	aaucugccggguaaugaugga	441	<i>miR-200c</i>
<i>miR-202</i>	agagguauagggaugggaaga	442	<i>miR-202</i>
<i>miR-203</i>	gugaaauguuaggaccacuag	443	<i>miR-203</i>
<i>miR-204</i>	uucccuuugucauccuugccu	444	<i>miR-204</i>
<i>miR-205</i>	uccuucauuccaccggagucug	445	<i>miR-205</i>
<i>miR-206</i>	uggaauguaaggaugugugg	446	<i>miR-206-1; miR-206-2</i>
<i>miR-208</i>	aaaagacgagcaaaaagcuugu	447	<i>miR-208</i>
<i>miR-210</i>	cugugcgugugacagcggcug	448	<i>miR-210</i>
<i>miR-211</i>	uucccuuugucauccuugccu	449	<i>miR-211</i>
<i>miR-212</i>	uaacagucuccagucacggcc	450	<i>miR-212</i>
<i>miR-213</i>	accaucgaccguugauuguacc	451	<i>miR-213</i>
<i>miR-214</i>	acagcaggcacagacaggcag	452	<i>miR-214</i>
<i>miR-215</i>	augaccuaugaauugacagac	453	<i>miR-215</i>
<i>miR-216</i>	uaaucucagcuggcaacugug	454	<i>miR-216</i>
<i>miR-217</i>	uacugcaucaggaacugauuggau	455	<i>miR-217</i>
<i>miR-218</i>	uugugcuugaucuaaccaugu	456	<i>miR-218-1; miR-218-2</i>
<i>miR-219</i>	ugauuguccaaacgcauuucu	457	<i>miR-219; miR-219-1; miR-219-2</i>
<i>miR-220</i>	ccacaccguaucugacacuuu	458	<i>miR-220</i>
<i>miR-221</i>	agcuacaauugucugcugguuuc	459	<i>miR-221</i>
<i>miR-222</i>	agcuacaucuggcuacugggucuc	460	<i>miR-222</i>
<i>miR-223</i>	ugucaguuuugucaaaauacccc	461	<i>miR-223</i>
<i>miR-224</i>	caagucacuagugguuccguuuu	462	<i>miR-224</i>
<i>miR-296</i>	agggccccccucaauccugu	463	<i>miR-296</i>
<i>miR-299</i>	ugguuuaccguccacauacau	464	<i>miR-299</i>
<i>miR-301</i>	cagugcaauaguauugucaaaagc	465	<i>miR-301</i>
<i>miR-302a</i>	uaagugcuuccauguuuugguga	466	<i>miR-302a</i>
<i>miR-302b*</i>	acuuuaacauggaagugcuuucu	467	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302b</i>	uaagugcuuccauguuuaguag	468	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302c*</i>	uuuaacauggggguaccugcug	469	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302c</i>	uaagugcuuccauguuucagugg	470	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302d</i>	uaagugcuuccauguuugagugu	471	<i>miR-302d</i>
<i>miR-320</i>	aaaagcuggguugagagggcgaa	472	<i>miR-320</i>

<i>miR-321</i>	uaagccagggauuguggguuc	473	<i>miR-321</i>
<i>miR-323</i>	gcacauuacacggucgaccucu	474	<i>miR-323</i>
<i>miR-324-5p</i>	cgcauccccuagggcauuggugu	475	<i>miR-324</i>
<i>miR-324-3p</i>	ccacugccccaggugcugcugg	476	<i>miR-324</i>
<i>miR-325</i>	ccuaguagguguccaguaagu	477	<i>miR-325</i>
<i>miR-326</i>	ccucugggcccuccuccag	478	<i>miR-326</i>
<i>miR-328</i>	cuggcccucucugcccuuccgu	479	<i>miR-328</i>
<i>miR-330</i>	gcaaagcacacggccugcagaga	480	<i>miR-330</i>
<i>miR-331</i>	gccccugggccaauccuagaa	481	<i>miR-331</i>
<i>miR-335</i>	ucaagagcaauaacgaaaaugu	482	<i>miR-335</i>
<i>miR-337</i>	uccagcuccuauaugccuuu	483	<i>miR-337</i>
<i>miR-338</i>	uccagcaucagugauuuuguuga	484	<i>miR-338</i>
<i>miR-339</i>	ucccuguccuccaggagcuca	485	<i>miR-339</i>
<i>miR-340</i>	uccgucucaguuacuuuauagcc	486	<i>miR-340</i>
<i>miR-342</i>	ucucacacagaaaucgaccccguc	487	<i>miR-342</i>
<i>miR-345</i>	ugcugacuccuaguccagggc	488	<i>miR-345</i>
<i>miR-346</i>	ugucugcccgaugccugccucu	489	<i>miR-346</i>
<i>miR-367</i>	aaaugcacuuuagcaaugguga	490	<i>miR-367</i>
<i>miR-368</i>	acauagaggaaauuccacguuu	491	<i>miR-368</i>
<i>miR-369</i>	aaauaacaugguugaucuuu	492	<i>miR-369</i>
<i>miR-370</i>	gccugcuggggggaaccugg	493	<i>miR-370</i>
<i>miR-371</i>	gugccgcaucuuuugagugu	494	<i>miR-371</i>
<i>miR-372</i>	aaagugcugcgacuuugagcgu	495	<i>miR-372</i>
<i>miR-373*</i>	acuaaaauggggcgcuucc	496	<i>miR-373</i>
<i>miR-373</i>	gaagugcuucgauuuuggggugu	497	<i>miR-373</i>
<i>miR-374</i>	uuauaauacaaccugauaagug	498	<i>miR-374</i>

La presente invención abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer pancreático, que comprenden medir el nivel de al menos miR-106a en una muestra de ensayo de tejido pancreático del sujeto y comparar el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo con el nivel de miR-106a en una muestra de control. Como se usa en la presente memoria un “sujeto” puede ser cualquier mamífero que tenga, o se sospeche que tiene, un cáncer pancreático. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer pancreático.

También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR es miR-21, miR-191 o miR-17-5p. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-159-1 o miR-192. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. También se desvelan en la presente memoria métodos

en los que el producto génico de miR no es miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-15a, miR-16-1, miR-182, miR-181, miR-30, miR-15a, miR-16-1, miR-15b, miR-16-2, miR-195, miR-34, miR-153, miR-21, miR-217, miR-205, miR-204, miR-211, miR-143, miR-96, miR-103, miR-107, miR-129, miR-9, miR-137, miR-217, miR-186.

Los cánceres sólidos pueden ser cualquier cáncer que surja de órganos y tejidos sólidos. Dichos cánceres se asocian normalmente con la formación y/o presencia de masas tumorales y pueden ser carcinomas, sarcomas y linfomas. Los ejemplos específicos de cánceres sólidos que pueden diagnosticarse por los métodos desvelados en la presente memoria incluyen, pero sin limitación, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de estómago (gástrico), cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer bronquial, cáncer testicular, cáncer ovárico, cáncer uterino, cáncer peniano, melanoma y otros cánceres de la piel, cáncer de hígado, cáncer esofágico, cánceres de la cavidad oral y faringe (por ejemplo, cáncer de lengua, cáncer de boca), cánceres del sistema digestivo (por ejemplo, cáncer intestinal, cáncer de la vesícula biliar), cánceres de huesos y articulaciones, cánceres del sistema endocrino (por ejemplo, cáncer tiroideo), cáncer de cerebro, cáncer de ojo, cánceres del sistema urinario (por ejemplo, cáncer de riñón, cáncer de la vejiga urinaria), enfermedad de Hodgkin y linfoma no de Hodgkin. Los cánceres sólidos pueden no ser uno o más de cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático o cáncer gastrointestinal.

También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de mama o cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-210, miR-213 y una combinación de los mismos.

También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de colon, cáncer de estómago, cáncer de próstata o cáncer de páncreas y el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo es miR-218-2.

También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-125b-1, miR-125b-2, miR-145, miR-21 y combinaciones de los mismos. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-21, miR-29b-2, miR-146, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-10b, miR-145, miR-181a, miR-140, miR-213, miR-29a prec, miR-181b-1, miR-199b, miR-29b-1, miR-130a, miR-155, let-7a-2, miR-205, miR-29c, miR-224, miR-100, miR-31, miR-30c, miR-17-5p, miR-210, miR-122a, miR-16-2 y combinaciones de los mismos. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR puede no ser miR-145, miR-21, miR-155, miR-10b, miR-125b-1, miR-125b-2, let-7a-2, let-7a-3, let-7d, miR-122a, miR-191, miR-206, miR-210, let-7i, miR-009-1 (miR131-1), miR-34 (miR-170), miR-102 (miR-29b), miR-123 (miR-126), miR-140-as, miR-125a, miR-194, miR-204, miR-213, let-7f-2, miR-101, miR-128b, miR-136, miR-143, miR-149, miR-191, miR-196-1, miR-196-2, miR-202, miR-103-1, o miR-30c. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-125b-1, let-7a-2, let-7i, miR-100, let-7g, miR-31, miR-32a-1, miR-33b, miR-34a-2, miR-101-1, miR-135-1, miR-142as, miR-142s, miR-144, miR-301, miR-29c, miR-30c, miR-106a, o miR-29b-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

También se desvelan en el presente documento métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de colon y el al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-24-1, miR-29b-2, miR-20a, miR-10a, miR-32, miR-203, miR-106a, miR-17-5p, miR-30c, miR-223, miR-126*, miR-128b, miR-21, miR-24-2, miR-99b prec, miR-155, miR-213, miR-150, miR-107, miR-191, miR-221, miR-9-3 y combinaciones de los mismos. Como alternativa el cáncer sólido puede ser cáncer de colon y el producto génico de miR puede no ser miR-159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de colon y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de colon y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido

puede ser cáncer de colon y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de colon y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

También se desvelan en el presente documento métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-205, miR-200b, miR-9-1, miR-210, miR-148, miR-141, miR-132, miR-215, miR-128b, let-7g, miR-16-2, miR-129-1/2 prec, miR-126*, miR-142-as, miR-30d, miR-30a-5p, miR-7-2, miR-199a-1, miR-127, miR-34a prec, miR-34a, miR-136, miR-202, miR-196-2; miR-199a-2, let-7a-2, miR-124a-1, miR-149, miR-17-5p, miR-196-1 prec, miR-10a, miR-99b prec, miR-196-1, miR-199b, miR-191, miR-195, miR-155 y combinaciones de los mismos. Como alternativa el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-126, miR-30a-5p, miR-140, miR-214, miR-218-2, miR-145, miR-106a, miR-192, miR-203, miR-150, miR-220, miR-192, miR-224, miR-24-2, miR-212, miR-9, miR-17, miR-124a-1, miR-95, miR-198, miR-216, miR-219-1, miR-197, miR-125a, miR-26a-1, miR-146, miR-199b, let-7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125b-1 o let-7f-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-182, miR-181, miR-30, miR-15a, miR-143, miR-205, miR-96, miR-103, miR-107, miR-129, miR-137, miR-186, miR-15b, miR-16-2, miR-195, miR-34, miR-153, miR-217, miR-204, miR-211, miR-9, miR-217, let-7a-2 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser let-7c, let-7g, miR-7-3, miR-210, miR-31, miR-34a-1, miR-a-2, miR-99a, miR-100, miR-125b-2, miR-132, miR-135-1, miR-195, miR-34, miR-123, miR-203. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR 159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido puede ser cáncer pancreático y el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se puede seleccionar del grupo que consiste en miR-103-1, miR-103-2, miR-155, miR-204 y combinaciones de los mismos.

En una realización de la presente invención, el miR-106a y al menos un producto génico de miR adicional seleccionado del grupo que consiste en miR-103-2, miR-103-1, miR-24-2, miR-107, miR-100, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-24-1, miR-191, miR-23a, miR-26a-1, miR-125a, miR-130a, miR-26b, miR-145, miR-221, miR-126*, miR-16-2, miR-146, miR-214, miR-99b, miR-128b, miR-155, miR-29b-2, miR-29a, miR-25, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-92-2, miR-199a-1, miR-223, miR-29c, miR-30b, miR-129-1/2, miR-197, miR-17-5p, miR-30c, miR-7-1, miR-93-1, miR-140, miR-30a-5p, miR-132, miR-181b-1, miR-152 prec, miR-23b, miR-20a, miR-222, miR-27a, miR-92-1, miR-21, miR-129-1/2 prec, miR-150, miR-32, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos se usan para diagnosticar cáncer pancreático.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer pancreático y el producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer pancreático y el producto génico de miR puede no ser miR 159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer pancreático y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer pancreático y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer pancreático y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer pancreático y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en let-7d, miR-128a prec, miR-195, miR-203, let-7a-2 prec, miR-34a, miR-20a, miR-218-2, miR-29a, miR-25, miR-95, miR-197, miR-135-2, miR-187, miR-196-1, miR-148, miR-

191, miR-21, let-7i, miR-198, miR-199a-2, miR-30c, miR-17-5p, miR-92-2, miR-146, miR-181b-1 prec, miR-32, miR-206, miR-184 prec, miR-29a prec, miR-29b-2, miR-149, miR-181b-1, miR-196-1 prec, miR-93-1, miR-223, miR-16-1, miR-101-1, miR-124a-1, miR-26a-1, miR-214, miR-27a, miR-24-1, miR-106a, miR-199a-1 y combinaciones de los mismos.

5 Como alternativa el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR 159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

20 También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de estómago y el producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-223, miR-21, miR-218-2, miR-103-2, miR-92-2, miR-25, miR-136, miR-191, miR-221, miR-125b-2, miR-103-1, miR-214, miR-222, miR-212 prec, miR-125b-1, miR-100, miR-107, miR-92-1, miR-96, miR-192, miR-23a, miR-215, miR-7-2, miR-138-2, miR-24-1, miR-99b, miR-33b, miR-24-2 y combinaciones de los mismos. Como alternativa el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR 159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215, o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

El nivel de al menos un producto génico de miR puede medirse en una muestra biológica (por ejemplo, células, tejidos) obtenida del sujeto. Por ejemplo, puede retirarse una muestra tisular (por ejemplo, de un tumor) de un sujeto que se sospecha que tiene un cáncer sólido por técnicas de biopsia convencionales. Como alternativa, puede retirarse una muestra sanguínea del sujeto, y pueden aislarse células sanguíneas (por ejemplo, glóbulos blancos) para extracción de ADN por técnicas convencionales. La muestra de sangre o tejido se obtiene preferentemente del sujeto antes del inicio de la radioterapia, quimioterapia u otro tratamiento terapéutico. Puede obtenerse una muestra de tejido o sangre de control correspondiente de tejidos no afectados del sujeto, de un individuo humano normal o población de individuos normales, o de células cultivadas correspondientes a la mayoría de las células en la muestra del sujeto. La muestra de tejido o sangre de control se procesa después junto con la muestra del sujeto, de modo que los niveles de producto génico de miR producido a partir de un gen de miR dado en células de la muestra del sujeto puede compararse con los niveles de producto génico de miR correspondientes de células de la muestra de control. Puede usarse también un patrón de expresión de miR de referencia para la muestra biológica como un control.

Una alteración (por ejemplo, un aumento o reducción) del nivel de un producto génico de miR en la muestra obtenida del sujeto, en relación con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de la presencia de un cáncer sólido en el sujeto. El nivel del al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser mayor que el nivel del producto génico de miR correspondiente en la muestra de control (es decir, la expresión del producto génico de miR está "regulada positivamente"). Como se usa en la presente memoria, la expresión de un producto génico de miR está "regulada positivamente" cuando la cantidad de producto génico de miR en una muestra celular o tisular de un sujeto es mayor que la cantidad del mismo producto génico en una muestra celular o tisular de control. El nivel del al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser menor que el nivel del producto génico de miR correspondiente en la muestra de control (es decir, la expresión del producto génico de miR está "regulada negativamente"). Como se usa en la presente memoria, la expresión de un gen de miR está "regulada negativamente" cuando la cantidad de producto génico de miR producida de ese gen en una muestra celular o tisular de un sujeto es menor que la cantidad producida del mismo gen en una muestra celular o tisular de control. La expresión génica de miR relativa en las muestras de control y normales puede determinarse con respecto a uno o más patrones de expresión de ARN. Los patrones pueden comprender, por ejemplo, un nivel de expresión génica de miR cero, el nivel de expresión génica de miR en una línea celular

convencional, el nivel de expresión génica de miR en tejidos no afectados del sujeto, o el nivel medio de expresión génica de miR previamente obtenido para una población de controles humanos normales.

5 El nivel de un producto génico de miR en una muestra puede medirse usando cualquier técnica que sea adecuada para detectar los niveles de expresión de ARN en una muestra biológica. Se conocen bien por los expertos en la materia técnicas adecuadas (por ejemplo, análisis de transferencia de Northern, RT-PCR, hibridación *in situ*) para determinar los niveles de expresión de ARN en una muestra biológica (por ejemplo, células, tejidos). El nivel de al menos un producto génico de miR puede detectarse usando análisis de transferencia de Northern. Por ejemplo, puede purificarse ARN celular total de células por homogeneización en presencia de tampón de extracción de ácidos nucleicos, seguido de centrifugación. Los ácidos nucleicos se precipitan, y el ADN se retira por tratamiento con DNasa y precipitación. Las moléculas de ARN se separan después por electroforesis en gel en geles de agarosa de acuerdo con técnicas convencionales, y se transfieren a filtros de nitrocelulosa. Después se inmoviliza el ARN en los filtros por calentamiento. Se consigue detección y cuantificación de ARN específico usando sondas de ADN o ARN marcadas de forma apropiada complementarias del ARN en cuestión. Véase, por ejemplo, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, J. Sambrook *et al.*, eds., 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Capítulo 7.

10 Pueden producirse sondas adecuadas para hibridación de transferencia de Northern de un producto génico de miR dado a partir de las secuencias de ácido nucleico proporcionadas en la Tabla 1a y Tabla 1b e incluyen, pero sin limitación, sondas que tienen complementariedad de al menos aproximadamente 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o completa con un producto génico de miR de interés. Se describen métodos para preparación de sondas de ADN y ARN marcadas, y las condiciones para hibridación de las mismas con secuencias de nucleótidos diana en *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, J. Sambrook *et al.*, eds., 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Capítulos 10 y 11.

25 Por ejemplo, la sonda de ácido nucleico puede marcarse con, por ejemplo, un radionúclido, tal como ^3H , ^{32}P , ^{33}P , ^{14}C o ^{35}S ; un metal pesado; un ligando capaz de actuar como un miembro de par de unión específico para un ligando marcado (por ejemplo, biotina, avidina o un anticuerpo); una molécula fluorescente; una molécula quimioluminiscente; una enzima o similares.

30 Las sondas pueden marcarse a alta actividad específica por el método de traslación de muesca de Rigby *et al.* (1977), *J. Mol. Biol.* 113: 237-251 o por el método de cebadores aleatorios de Fienberg *et al.* (1983), *Anal. Biochem.* 132: 6-13. Este último es el método elegido para sintetizar sondas marcadas con ^{32}P de alta actividad específica a partir de ADN monocatenario o de moldes de ARN. Por ejemplo, reemplazando nucleótidos preexistentes con nucleótidos altamente radiactivos de acuerdo con el método de traslación de muescas, es posible preparar sondas de ácido nucleico marcadas con ^{32}P con una actividad específica bastante mayor de 10^8 cpm/microgramo. Después puede realizarse detección autorradiográfica de la hibridación exponiendo los filtros hibridados a película fotográfica. La exploración densitométrica de las películas fotográficas expuestas a los filtros hibridados proporciona una medición precisa de los niveles de transcrito génico de miR. Usando otro enfoque, los niveles de transcrito génico de miR pueden cuantificarse por sistemas de formación de imágenes computarizada, tales como el Phosphorimager Molecular Dynamics 400-B 2D disponible de Amersham Biosciences, Piscataway, NJ.

45 Cuando el marcaje con radionúclidos de sondas de ADN o ARN no es práctico, puede usarse el método de cebadores aleatorios para incorporar un análogo, por ejemplo, el análogo de dTTP 5-(N-(N-biotinil-épsilon-aminocaproil)-3-aminoalil)desoxiuridina trifosfato, en la molécula sonda. El oligonucleótido sonda biotinilado puede detectarse por reacción con proteínas de unión a biotina, tales como avidina, estreptavidina y anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos antibiotina) acoplados a colorantes fluorescentes o enzimas que producen reacciones de color.

50 Además de Northern y otras técnicas de hibridación de ARN, la determinación de los niveles de transcritos de ARN puede conseguirse usando la técnica de hibridación *in situ*. Esta técnica requiere menos células que la técnica de transferencia de Northern, e implica depositar células completas en un cubreobjetos de microscopio y explorar el contenido de ácido nucleico de la célula con una solución que contenga sondas de ácido nucleico radiactivas o marcadas de otro modo (por ejemplo, ADNc o ARN). Esta técnica es particularmente adecuada para analizar muestras de biopsia tisular de sujetos. La práctica de la técnica de hibridación *in situ* se describe en más detalle en la Patente de Estados Unidos N° 5.427.916. Pueden producirse sondas adecuadas para hibridación *in situ* de un producto génico de miR dado a partir de las secuencias de ácido nucleico proporcionadas en la Tabla 1a y Tabla 1b, e incluyen, pero sin limitación, sondas que tienen complementariedad de al menos aproximadamente el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o completa con un producto génico de miR de interés, como se ha descrito anteriormente.

60 El número relativo de transcritos génicos de miR en células también puede determinarse por transcripción inversa de transcritos génicos de miR, seguido de amplificación de los transcritos de transcripción inversa por reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). Los niveles de los transcritos génicos de miR pueden cuantificarse en comparación con un patrón interno, por ejemplo, el nivel de ARNm de un gen "constitutivo" presente en la misma muestra. Un gen "constitutivo" adecuado para su uso como un patrón interno incluye, por ejemplo, miosina y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH). Se conocen bien por los expertos en la materia métodos para realizar RT-PCR cuantitativa y semicuantitativa, y variaciones de la misma.

65

En algunos casos, puede ser deseable determinar simultáneamente el nivel de expresión de una pluralidad de productos génicos de miR diferentes en una muestra. En otros casos, puede ser deseable determinar el nivel de expresión de los transcritos de todos los genes de miR conocidos correlacionados con cáncer. La evaluación de los niveles de expresión específicos de cáncer para cientos de genes o productos génicos de miR consume tiempo y requiere una gran cantidad de ARN total (por ejemplo, al menos 20 µg para cada transferencia de Northern) y técnicas autorradiográficas que requieren isótopos radiactivos.

Para superar estas limitaciones, puede construirse una oligobiblioteca, en formato de microplaca (es decir, una microserie), que contenga un conjunto de sondas oligonucleotídicas (por ejemplo, oligodesoxinucleótidos) que son específicas para un conjunto de genes de miR. Usando dicha microserie, puede determinarse el nivel de expresión de múltiples microARN en una muestra biológica por transcripción inversa de los ARN para generar un conjunto de oligodesoxinucleótidos diana, e hibridarlos para explorar los oligonucleótidos de la microserie para generar un perfil de hibridación, o expresión. El perfil de hibridación de la muestra de ensayo puede después compararse con el de una muestra de control para determinar qué microARN tienen un nivel de expresión alterado en células de cáncer sólido. Como se usa en la presente memoria, "oligonucleótido sonda" u "oligodesoxinucleótido sonda" se refiere a un oligonucleótido que es capaz de hibridar con un oligonucleótido diana. "Oligonucleótido diana" u "oligodesoxinucleótido diana" se refiere a una molécula para detectar (por ejemplo, mediante hibridación). Por "oligonucleótido sonda específico de miR" u "oligonucleótido sonda específico para un miR" se entiende un oligonucleótido sonda que tiene una secuencia seleccionada para hibridar con un producto génico de miR específico, o con un transcrito inverso del producto génico de miR específico.

Un "perfil de expresión" o "perfil de hibridación" de una muestra particular es esencialmente una identificación del estado de la muestra; aunque dos estados pueden tener cualquier gen particular expresado de forma similar, la evaluación de varios genes permite simultáneamente la generación de un perfil de expresión génica que es único para el estado de la célula. Es decir, el tejido normal puede distinguirse del tejido canceroso (por ejemplo, tumoral), y dentro del tejido canceroso, pueden determinarse diferentes estados de pronóstico (por ejemplo, buenas o malas perspectivas de supervivencia a largo plazo). Comparando los perfiles de expresión de tejido de cáncer sólido en diferentes estados, se obtiene información con respecto a qué genes son importantes (incluyendo regulación tanto positiva como negativa de los genes) en cada uno de estos estados. La identificación de secuencias que se expresan diferencialmente en tejido de cáncer sólido, así como la expresión diferencial que da como resultado diferentes resultados de pronóstico, permiten el uso de esta información de varias maneras. Por ejemplo, puede evaluarse un régimen de tratamiento particular (por ejemplo, para determinar si un fármaco quimioterapéutico actúa para mejorar el pronóstico a largo plazo en un paciente particular). De forma similar, el diagnóstico puede realizarse o confirmarse comparando muestras de pacientes con perfiles de expresión conocidos. Además, estos perfiles de expresión génica (o genes individuales) permiten la exploración de candidatos farmacológicos que suprimen el perfil de expresión de cáncer sólido o convierten un perfil de pronóstico malo en un perfil de pronóstico mejor.

En consecuencia, la invención proporciona métodos para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer pancreático, que comprenden transcribir de forma inversa al menos ARN de miR-106a de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de miR-106a, hibridar el oligodesoxinucleótido diana con una microserie que comprende oligonucleótidos sonda específico de miARN que incluyen al menos un oligonucleótido sonda específico de ARN de miR-106a para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra de ensayo, y comparar el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con un perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control o patrón de referencia, en el que un aumento de la señal de ARN de miR-106a es indicativa de que el sujeto tiene cáncer pancreático. También se desvelan microseries que comprenden oligonucleótidos sonda específicos de miARN para una parte sustancial de todos los miARN humanos conocidos. La microserie puede comprender oligonucleótidos sonda específicos de miARN para uno o más miARN seleccionados del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

La microserie puede prepararse a partir de sondas oligonucleotídicas específicas de genes generadas de secuencias de miARN conocidas. La serie puede contener dos sondas oligonucleotídicas diferentes para cada miARN, una que contiene la secuencia activa, madura y la otra que es específica para el precursor del miARN. La serie también puede contener controles, tales como una o más secuencias de ratón que difieren de ortólogos humanos en solamente algunas bases, que pueden actuar como controles para las condiciones de rigurosidad de hibridación. También pueden imprimirse ARNt u otros ARN (por ejemplo, ARNr, ARNm) de ambas especies en la microplaca, proporcionando un control positivo interno, relativamente estable, para hibridación específica. También pueden incluirse en la microplaca uno o más controles apropiados para hibridación no específica. Para este fin, las secuencias se seleccionan basándose en la ausencia de cualquier homología con cualquier miARN conocido.

La microserie puede fabricarse usando técnicas conocidas en este campo. Por ejemplo, los oligonucleótidos sonda de una longitud apropiada, por ejemplo, 40 nucleótidos, se modifican con amina 5' en la posición C6 y se imprimen usando sistemas de microseries disponibles en el mercado, por ejemplo, el Microarrayer GeneMachine OmniGrid™ 100 y portaobjetos activados Amersham CodeLink™. El oligómero de ADNc marcado correspondiente a los ARN diana se prepara por transcripción inversa del ARN diana con cebador marcado. Después de la síntesis de primera cadena, los híbridos de ARN/ADN se desnaturalizan para degradar los moldes de ARN. Los ADNc diana marcados

preparados de este modo se hibridan después con la microplaca de microserie en condiciones de hibridación, por ejemplo, SSPE 6X/formamida 30 % a 25 °C durante 18 horas, seguido de lavado en TNT 0,75X (Tris HCl/NaCl/Tween 20) a 37 °C durante 40 minutos. En las posiciones de la serie en las que el ADN sonda inmovilizado reconoce un ADNc diana complementario en la muestra, se produce hibridación. El ADNc diana marcado marca la posición exacta en la serie donde se produce unión, permitiendo la detección y cuantificación automática. El resultado consiste en una lista de acontecimientos de hibridación, que indican la abundancia relativa de secuencias de ADNc específicas, y por lo tanto la abundancia relativa de los miR complementarios correspondientes, en la muestra del paciente. El oligómero de ADNc marcado puede ser un ADNc marcado con biotina, preparado a partir de un cebador marcado con biotina. La microserie se procesa después por dirección directa de los transcritos que contienen biotina usando, por ejemplo, conjugado de estreptavidina-Alexa 647, y se explora utilizando métodos de exploración convencionales. Las intensidades de la imagen de cada punto en la serie son proporcionales a la abundancia del miR correspondiente en la muestra del paciente.

El uso de la serie tiene varias ventajas para la detección de expresión de miARN. En primer lugar, la expresión global de varios cientos de genes puede identificarse en la misma muestra en un punto temporal. En segundo lugar, mediante el diseño cuidadoso de las sondas oligonucleotídicas, puede identificarse la expresión de moléculas tanto maduras como precursoras. En tercer lugar, en comparación con análisis de transferencia de Northern, la microplaca requiere una cantidad pequeña de ARN, y proporciona resultados reproducibles usando 2,5 µg de ARN total. El número relativamente limitado de miARN (algunos cientos por especie) permite la construcción de una microserie común para varias especies, con sondas oligonucleotídicas distintas para cada una. Dicha herramienta permitiría el análisis de expresión entre especies para cada miR conocido en diversas condiciones.

Además del uso para los ensayos de nivel de expresión cuantitativa de miR específicos, una microplaca que contiene oligonucleótidos sonda específicos de miARN correspondientes a una parte sustancial del miRNoma, preferentemente el miRNoma completo, puede emplearse para llevar a cabo la determinación de perfiles de expresión génica de miR, para análisis de patrones de expresión de miR. Las identificaciones de miR distintas pueden asociarse con marcadores de enfermedad establecidos, o directamente con una patología.

De acuerdo con los métodos de realizaciones de perfiles de expresión descritos en la presente memoria, el ARN total de una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene un cáncer (por ejemplo, un cáncer sólido) se transcribe de forma inversa cuantitativamente para proporcionar un conjunto de oligodesoxinucleótidos diana marcados complementarios del ARN en la muestra. Los oligodesoxinucleótidos diana se hibridan después con una microserie que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra. El resultado es un perfil de hibridación para la muestra que representa el patrón de expresión de miARN en la muestra. El perfil de hibridación comprende la señal de la unión de los oligodesoxinucleótidos diana de la muestra con los oligonucleótidos sonda específicos de miARN en la microserie. El perfil puede registrarse como la presencia o ausencia de unión (señal frente a señal cero). Más preferentemente, el perfil registrado incluye la intensidad de la señal de cada hibridación. El perfil se compara con el perfil de hibridación generado de una muestra de control normal, es decir, no cancerosa. Una alteración en la señal es indicativa de la presencia de, o propensión a desarrollar, cáncer en el sujeto.

Otras técnicas para medir la expresión génica de miR también están dentro de la experiencia de este campo, e incluyen diversas técnicas para medir las tasas de transcripción y degradación de ARN.

La presente divulgación también proporciona métodos para determinar el pronóstico de un sujeto con un cáncer sólido, que comprenden medir el nivel de al menos un producto génico de miR que está asociado con un pronóstico particular en un cáncer sólido (por ejemplo, un pronóstico bueno o positivo, un pronóstico malo a adverso), en una muestra de ensayo del sujeto. De acuerdo con estos métodos, una alteración del nivel de un producto génico de miR que está asociado con un pronóstico particular en la muestra de ensayo, en comparación con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer sólido con un pronóstico particular. El producto génico de miR puede asociarse con un pronóstico adverso (es decir, negativo). Los ejemplos de un pronóstico adverso incluyen, pero sin limitación, baja tasa de supervivencia y rápida progresión de enfermedad. El nivel del al menos un producto génico de miR puede medirse por ARN de transcripción inversa a partir de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar un conjunto de oligodesoxinucleótidos diana, hibridando los oligodesoxinucleótidos diana con una microserie que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra de ensayo, y comparando el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con un perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control.

Sin desear quedar ligado a ninguna teoría, se cree que las alteraciones en el nivel de uno o más productos génicos de miR en células pueden dar como resultado la desregulación de una o más dianas pretendidas para estos miR, lo que puede conducir a la formación de cánceres sólidos. Por lo tanto, la alteración del nivel del producto génico de miR (por ejemplo, reduciendo el nivel de un producto génico de miR que está regulado positivamente en células de cáncer sólido, aumentando el nivel de un producto génico de miR que está regulado negativamente en células de cáncer sólido) puede tratar exitosamente el cáncer sólido.

En consecuencia, la presente divulgación abarca métodos para inhibir la tumorigénesis en un sujeto que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado positivamente, regulado negativamente) en las células cancerosas del sujeto. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado negativamente en las células cancerosas (por ejemplo, miR-145, miR-155, miR-218-2), el método comprende administrar una cantidad eficaz del al menos un producto génico de miR aislado o una variante aislada o fragmento biológicamente activo de los mismos, de modo que se inhiba la proliferación de células cancerosas en el sujeto. El producto génico de miR aislado que se administra puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR 159-1 o miR-192. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR=182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-9 y miR-137. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-145, miR-21, miR-155, miR-10b, miR-125b-1, miR-125b-2, let7a-2, let7a-3, let-7d, miR-122a, miR-191, miR-206, miR-210, let-7i, miR-009-1 (miR131-1), miR-34 (miR-170), miR-102 (miR-29b), miR-123 (miR-126), miR-140-as, miR-125a, miR-194, miR-204, miR-213, let-7f-2, miR-101, miR-128b, miR-136, miR-143, miR-149, miR-191, miR-196-1, miR-196-2, miR-202, miR-103-1 o miR-30c. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-125b-1, let-7a-2, let-7i, miR-100, let-7g, miR-31, miR-32a-1, miR-33b, miR-34a-2, miR-101-1, miR-135-1, miR-142as, miR-142s, miR-144, miR-301, miR-29c, miR-30c, miR-106a o miR-29b-1.

Por ejemplo, cuando un producto génico de miR está regulado negativamente en una célula cancerosa en un sujeto, la administración de una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado al sujeto puede inhibir la proliferación de la célula cancerosa. El producto génico de miR aislado que se administra al sujeto puede ser idéntico al producto génico de miR natural endógeno (por ejemplo, un producto génico de miR mostrado en la Tabla 1a o Tabla 1b) que está regulado negativamente en la célula cancerosa o puede ser una variante o fragmento biológicamente activo del mismo. Como se define en la presente memoria una "variante" de un producto génico de miR se refiere a un miARN que tiene menos de 100 % de identidad con un producto génico de miR natural correspondiente y posee una o más actividades biológicas del producto génico de miR natural correspondiente. Los ejemplos de dichas actividades biológicas incluyen, pero sin limitación, inhibición de la expresión de la molécula de ARN diana (por ejemplo, inhibiendo la traducción de una molécula de ARN diana, modulando la estabilidad de una molécula de ARN diana, inhibiendo el procesamiento de una molécula de ARN diana) e inhibición de un proceso celular asociado con cáncer sólido (por ejemplo, diferenciación celular, crecimiento celular, muerte celular). Estas variantes incluyen variantes de especie y variantes que son la consecuencia de una o más mutaciones (por ejemplo, una sustitución, una delección, una inserción) en un gen de miR. La variante puede ser al menos aproximadamente 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o 99 % idéntica a un producto génico de miR natural correspondiente.

Como se define en la presente memoria, un "fragmento biológicamente activo" de un producto génico de miR se refiere a un fragmento de ARN de un producto génico de miR que posee una o más actividades biológicas de un producto génico de miR natural correspondiente. Como se ha descrito anteriormente, los ejemplos de dichas actividades biológicas incluyen, pero sin limitación, inhibición de la expresión de una molécula de ARN diana e inhibición de un proceso celular asociado con cáncer sólido. El fragmento biológicamente activo puede ser de al menos aproximadamente 5, 7, 10, 12, 15 o 17 nucleótidos de longitud. Un producto génico de miR aislado puede administrarse a un sujeto en combinación con uno o más tratamientos antineoplásicos adicionales. Los tratamientos antineoplásicos adecuados incluyen, pero sin limitación, quimioterapia, radioterapia y combinaciones de las mismas (por ejemplo, quimiorradiación).

Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado positivamente en las células cancerosas, el método comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR, denominado en la presente memoria compuesto de inhibición de la expresión génica de miR, de modo que se inhiba la proliferación de células de cáncer sólido. El al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR es específico para un producto génico de miR seleccionado del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos. Un compuesto de inhibición de la expresión génica de miR puede administrarse a un sujeto en combinación con uno o más tratamientos antineoplásicos adicionales. Los tratamientos antineoplásicos adecuados incluyen, pero sin limitación, quimioterapia, radioterapia y combinaciones de los mismos (por ejemplo, quimiorradiación).

Los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento", como se usan en la presente memoria, se refieren a aliviar síntomas asociados con una enfermedad o afección, por ejemplo, un cáncer sólido, incluyendo prevenir o retardar la aparición de los síntomas de la enfermedad, y/o reducir la gravedad o frecuencia de los síntomas de la enfermedad o afección. Se define que los términos "sujeto", "paciente" e "individuo" en la presente memoria incluyen animales, tales como mamíferos, incluyendo, pero sin limitación, primates, vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos,

conejos, cobayas, ratas, ratones u otras especies bovinas, ovinas, equinas, caninas, felinas, roedoras o murinas. Preferentemente el animal es un ser humano.

5 Como se usa en la presente memoria, una "cantidad eficaz" de un producto génico de miR aislado es una cantidad suficiente para inhibir la proliferación de una célula cancerosa en un sujeto que padece cáncer sólido. Un experto en la materia puede determinar fácilmente una cantidad eficaz de un producto génico de miR para administrar a un sujeto dado, teniendo en cuenta factores tales como la talla y peso del sujeto; el alcance de la penetración de la enfermedad; la edad, salud y sexo del sujeto; la vía de administración; y si la administración es regional o sistémica.

10 Por ejemplo, una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado puede basarse en el peso aproximado de una masa tumoral para tratar. El peso aproximado de una masa tumoral puede determinarse calculando el volumen aproximado de la masa, en la que un centímetro cúbico de volumen es aproximadamente equivalente a un gramo. Una cantidad eficaz del producto génico de miR aislado basándose en el peso de una masa tumoral puede estar en el intervalo de aproximadamente 10-500 microgramos/gramo de masa tumoral. La masa tumoral puede ser de al
15 menos aproximadamente 10 microgramos/gramo de masa tumoral, al menos aproximadamente 60 microgramos/gramo de masa tumoral o al menos aproximadamente 100 microgramos/gramo de masa tumoral.

20 Una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado también puede basarse en el peso corporal aproximado o estimado de un sujeto para tratar. Preferentemente, dichas cantidades eficaces se administran por vía parenteral o por vía entérica, como se describe en la presente memoria. Por ejemplo, una cantidad eficaz del producto génico de miR aislado que se administra a un sujeto puede variar de aproximadamente 53.000 microgramos/kilogramo de peso corporal, de aproximadamente 700-1000 microgramos/kg de peso corporal o más de aproximadamente 1000 microgramos/kg de peso corporal.

25 Un experto en la materia también puede determinar fácilmente un régimen de dosificación apropiado para la administración de un producto génico de miR aislado a un sujeto dado. Por ejemplo, puede administrarse un producto génico de miR al sujeto una vez (por ejemplo, como una única inyección o deposición). Como alternativa, puede administrarse un producto génico de miR una vez o dos veces al día a un sujeto durante un periodo de aproximadamente tres a aproximadamente veintiocho días, más particularmente de aproximadamente siete a
30 aproximadamente diez días. En un régimen de dosificación particular, se administra un producto génico de miR una vez al día durante siete días. Cuando un régimen de dosificación comprende múltiples administraciones, se entiende que la cantidad eficaz del producto génico de miR administrado al sujeto puede comprender la cantidad total de producto génico administrado durante el régimen de dosificación completo.

35 Como se usa en la presente memoria, un producto génico de miR "aislado" es uno que se sintetiza, o se altera o retira del estado natural mediante intervención humana. Por ejemplo, un producto génico de miR sintético, o un producto génico de miR parcial o completamente separado de los materiales coexistentes de su estado natural, se considera que está "aislado". Un producto génico de miR aislado puede existir en forma sustancialmente purificada, o puede existir en una célula en la que se ha suministrado el producto génico de miR. Por lo tanto, un producto
40 génico de miR que se suministra deliberadamente a, o se expresa en, una célula se considera un producto génico de miR "aislado". También se considera que un producto génico de miR producido dentro de una célula a partir de una molécula precursora de miR es una molécula "aislada". Los productos génicos de miR aislados descritos en la presente memoria pueden usarse para la fabricación de un medicamento para tratar un cáncer sólido en un sujeto (por ejemplo, un ser humano).

45 Pueden obtenerse productos génicos de miR aislados usando varias técnicas convencionales. Por ejemplo, los productos génicos de miR pueden sintetizarse químicamente o producirse recombinantemente usando métodos conocidos en este campo. Los productos génicos de miR pueden sintetizarse químicamente usando fosforamiditas ribonucleosídicas protegidas apropiadamente y un sintetizador de ADN/ARN convencional. Los proveedores
50 comerciales de moléculas de ARN sintéticas o reactivos de síntesis incluyen, por ejemplo, Proligo (Hamburgo, Alemania), Dharmacon Research (Lafayette, CO, Estados Unidos), Pierce Chemical (parte de Perbio Science, Rockford, IL, Estados Unidos), Glen Research (Sterling, VA, Estados Unidos), ChemGenes (Ashland, MA, Estados Unidos) y Cruachem (Glasgow, Reino Unido).

55 Como alternativa, los productos génicos de miR pueden expresarse a partir de plásmidos de ADN circulares o lineales recombinantes usando cualquier promotor adecuado. Los promotores adecuados para expresar ARN a partir de un plásmido incluyen, por ejemplo, las secuencias promotoras de pol III de ARN U6 o H1, o los promotores de citomegalovirus. La selección de otros promotores adecuados está dentro de la experiencia de la técnica. Los plásmidos recombinantes también pueden comprender promotores inducibles o regulables para expresión de los
60 productos génicos de miR en células cancerosas.

Los productos génicos de miR que se expresan a partir de plásmidos recombinantes pueden aislarse de sistemas de expresión de células cultivadas por técnicas convencionales. Los productos génicos de miR que se expresan a partir de plásmidos recombinantes también pueden suministrarse a, y expresarse directamente en, las células cancerosas.
65 El uso de plásmidos recombinantes para suministrar los productos génicos de miR a células cancerosas se analiza en más detalle posteriormente.

Los productos génicos de miR pueden expresarse a partir de un plásmido recombinante separado, o pueden expresarse a partir del mismo plásmido recombinante. Los productos génicos de miR pueden expresarse como moléculas precursoras de ARN a partir de un único plásmido, y las moléculas precursoras se procesan en el producto génico de miR funcional por un sistema de procesamiento adecuado, incluyendo, pero sin limitación, sistemas de procesamiento existentes dentro de una célula cancerosa. Otros sistemas de procesamiento adecuados incluyen, por ejemplo, el sistema de lisado celular de *Drosophila in vitro* (por ejemplo, como se describe en la Solicitud de Patente Publicada en Estados Unidos N 2002/0086356 de Tuschl *et al.*) y el sistema de RNAsa III de *E. coli* (por ejemplo, como se describe en la Solicitud de Patente Publicada de Estados Unidos N° 2004/0014113 de Yang *et al.*).

La selección de plásmidos adecuados para expresar los productos génicos de miR, métodos para insertar secuencias de ácido nucleico en el plásmido para expresar los productos génicos, y métodos para suministrar el plásmido recombinante a las células de interés están dentro de la experiencia de la técnica. Véase, por ejemplo, Zeng *et al.* (2002), *Molecular Cell* 9: 1327-1333; Tuschl (2002), *Nat. Biotechnol.* 20: 446-448; Brummelkamp *et al.* (2002), *Science* 296: 550-553; Miyagishi *et al.* (2002), *Nat. Biotechnol.* 20: 497-500; Paddison *et al.* (2002), *Genes Dev.* 16: 948-958; Lee *et al.* (2002), *Nat. Biotechnol.* 20: 500-505; y Paul *et al.* (2002), *Nat. Biotechnol.* 20: 505-508.

Un plásmido que expresa los productos génicos de miR puede comprender una secuencia que codifica un ARN precursor de miR bajo el control del promotor intermedio-temprano de CMV. Como se usa en la presente memoria, "bajo el control" de un promotor significa que las secuencias de ácido nucleico que codifican el producto génico de miR se localizan 3' del promotor, de modo que el promotor puede iniciar la transcripción de las secuencias codificantes del producto génico de miR.

Los productos génicos de miR también pueden expresarse a partir de vectores virales recombinantes. Se contempla que los productos génicos de miR pueden expresarse a partir de dos vectores virales recombinantes separados, o del mismo vector viral. El ARN expresado a partir de dos vectores virales recombinantes puede aislarse de sistemas de expresión de células cultivadas por técnicas convencionales, o puede expresarse directamente en células cancerosas. El uso de vectores virales recombinantes para suministrar los productos génicos de miR a células cancerosas se analiza en más detalle posteriormente.

Los vectores virales recombinantes comprenden secuencias que codifican los productos génicos de miR y cualquier promotor adecuado para expresar las secuencias de ARN. Los promotores adecuados incluyen, pero sin limitación, las secuencias promotoras de pol III de ARN U6 o H1, o los promotores de citomegalovirus. La selección de otros promotores adecuados está dentro de la experiencia de la técnica. Los vectores virales recombinantes también pueden comprender promotores inducibles o regulables para la expresión de los productos génicos de miR en una célula cancerosa.

Puede usarse cualquier vector viral capaz de aceptar las secuencias codificantes para los productos génicos de miR; por ejemplo, vectores derivados de adenovirus (AV); virus adenoasociados (AAV); retrovirus (por ejemplo, lentivirus (LV), Rhabdovirus, virus de leucemia murina); virus del herpes y similares. El tropismo de los vectores virales pueden modificarse por seudotipación de los vectores con proteínas de envoltura u otros antígenos superficiales de otros virus, o sustituyendo diferentes proteínas de cápsida viral, según sea apropiado.

Por ejemplo, los vectores lentivirales pueden seudotiparse con proteínas de superficie de virus de estomatitis vesicular (VSV), rabia, Ébola, Mokola y similares. Pueden realizarse vectores de AAV para dirigirse a células diferentes modificando por ingeniería genética los vectores para expresar diferentes serotipos de proteínas de la cápsida. Por ejemplo, un vector de AAV que expresa una cápsida de serotipo 2 en un genoma de serotipo 2 se denomina AAV 2/2. Este gen de cápsida de serotipo 2 en el vector de AAV 2/2 puede reemplazarse por un gen de cápsida de serotipo 5 para producir un vector de AAV 2/5. Las técnicas para construir vectores de AAV que expresan diferentes serotipos de proteínas de la cápsida están dentro de la experiencia de la técnica; véase, por ejemplo, Rabinowitz, J. E., *et al.* (2002), *J. Virol.* 76: 791-801.

La selección de vectores virales recombinantes, métodos para insertar secuencias de ácido nucleico para expresar ARN en el vector, métodos para suministrar el vector viral a las células de interés y recuperación de los productos de ARN expresados están dentro de la experiencia de la técnica. Véase, por ejemplo, Domburg (1995), *Gene Therapy* 2: 301-310; Eglitis (1988), *Biotechniques* 6: 608-614; Miller (1990), *Hum. Gene Therapy* 1: 5-14; y Anderson (1998), *Nature* 392: 25-30.

Son vectores virales particularmente adecuados los derivados de AV y AAV. Se describen un vector de AV adecuado para expresar los productos génicos de miR, un método para construir el vector de AV recombinante y un método para suministrar el vector a células diana, en Xia *et al.* (2002), *Nat. Biotech.* 20: 1006-1010. Se describen vectores de AAV adecuados para expresar los productos génicos de miR, métodos para construir el vector de AAV recombinante y métodos para suministrar los vectores a células diana en Samulski *et al.* (1987), *J. Virol.* 61: 3096-3101; Fisher *et al.* (1996), *J. Virol.*, 70: 520-532; Samulski *et al.* (1989), *J. Virol.* 63: 3822-3826; Patente de Estados Unidos N° 5.252.479; Patente de Estados Unidos N° 5.139.941; Solicitud de Patente Internacional N° WO 94/13788; y Solicitud de Patente Internacional N° WO 93/24641. En una realización, los productos génicos de miR se expresan

a partir de un único vector de AAV recombinante que comprende el promotor intermedio temprano de CMV.

Un vector viral de AAV recombinante puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifique un ARN precursor de miR en conexión operativa con una secuencia de terminación poliT bajo el control de un promotor de ARN U6 humano. Como se usa en la presente memoria, “en conexión operativa con una secuencia de terminación poliT” significa que las secuencias de ácido nucleico que codifican las cadenas con sentido o antisentido están inmediatamente adyacentes a la señal de terminación poliT en la dirección 5'. Durante la transcripción de las secuencias de miR del vector, las señales de terminación poliT actúan para terminar la transcripción.

Como alternativa, puede administrarse al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto que inhibe la expresión de miR. Como se usa en la presente memoria, “inhibir la expresión de miR” significa que la producción del precursor y/o la forma madura, activa del producto génico de miR después del tratamiento es menor que la cantidad producida antes del tratamiento. Un experto en la materia puede determinar fácilmente si se ha inhibido la expresión de miR en una célula cancerosa, usando, por ejemplo, las técnicas para determinar el nivel de transcrito de miR analizadas anteriormente para el método de diagnóstico. La inhibición puede producirse al nivel de la expresión génica (es decir, inhibiendo la transcripción de un gen de miR que codifica el producto génico de miR) o el nivel de procesamiento (por ejemplo, inhibiendo el procesamiento de un precursor de miR en un miR activo, maduro).

Como se usa en la presente memoria, una “cantidad eficaz” de un compuesto que inhibe la expresión de miR es una cantidad suficiente para inhibir la proliferación de una célula cancerosa en un sujeto que padece un cáncer (por ejemplo, un cáncer sólido). Un experto en la materia puede determinar fácilmente una cantidad eficaz de un compuesto de inhibición de la expresión de miR para administrar a un sujeto dado, teniendo en cuenta factores tales como la talla y el peso del sujeto; el alcance de la penetración de la enfermedad; la edad, salud y sexo del sujeto; la vía de administración; y si la administración es regional o sistémica.

Por ejemplo, una cantidad eficaz del compuesto de inhibición de la expresión puede basarse en el peso aproximado de una masa tumoral para tratar, como se describe en la presente memoria. Una cantidad eficaz de un compuesto que inhibe la expresión de miR también puede basarse en el peso corporal aproximado o estimado de un sujeto para tratar, como se describen en la presente memoria.

Un experto en la materia también puede determinar fácilmente un régimen de dosificación apropiado para administrar un compuesto que inhibe la expresión de miR a un sujeto dado.

Los compuesto adecuados para inhibir la expresión génica de miR incluyen ARN bicatenario (tal como ARN de interferencia corto o pequeño o “ARNip”), ácidos nucleicos antisentido y moléculas de ARN enzimático, tales como ribozimas. Cada uno de estos compuestos puede dirigirse a un producto génico de miR dado e interferir con la expresión (por ejemplo, inhibir la traducción, inducir la escisión o destrucción) del producto génico de miR diana.

Por ejemplo, la expresión de un gen de miR dado puede inhibirse induciendo la interferencia de ARN del gen de miR con una molécula de ARN bicatenario (“ARNbc”) aislada que tiene al menos 90 %, por ejemplo al menos 95 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de homología de secuencia con al menos una parte del producto génico de miR. La molécula de ARNbc puede ser un “ARN de interferencia corto o pequeño” o “ARNip”.

El ARNip útil en los presentes métodos comprende ARN bicatenario corto de aproximadamente 17 nucleótidos a aproximadamente 29 nucleótidos de longitud, preferentemente de aproximadamente 19 a aproximadamente 25 nucleótidos de longitud. El ARNip comprende una cadena de ARN con sentido y una cadena de ARN antisentido complementaria hibridadas entre sí por interacción de formación de pares de bases de Watson-Crick convencionales (en lo sucesivo en la presente memoria “con formación de pares de bases”). La cadena con sentido comprende una secuencia de ácido nucleico que es sustancialmente idéntica a una secuencia de ácido nucleico contenida dentro del producto génico de miR diana.

Como se usa en la presente memoria, una secuencia de ácido nucleico en un ARNip que es “sustancialmente idéntico” a una secuencia diana contenida dentro del ARNm diana es una secuencia de ácido nucleico que es idéntica a la secuencia diana, o que difiere de la secuencia diana en uno o dos nucleótidos. Las cadenas con sentido y antisentido del ARNip pueden comprender dos moléculas de ARN monocatenarias, complementarias, o pueden comprender una única molécula en la que dos partes complementarias forman pares de bases y están ligadas covalentemente por un área de “horquilla” monocatenaria.

El ARNip también puede ser ARN alterado que difiere del ARN de origen natural por la adición, delección, sustitución y/o alteración de uno o más nucleótidos. Dichas alteraciones pueden incluir la adición de material no nucleotídico, tal como en el extremo o los extremos del ARNip o en uno o más nucleótidos internos del ARNip, o modificaciones que hacen al ARNip resistente a la digestión por nucleasa, o la sustitución de uno o más nucleótidos en el ARNip con desoxirribonucleótidos.

Una o ambas cadenas del ARNip también puede comprender un saliente 3'. Como se usa en la presente memoria, un “saliente 3'” se refiere a al menos un nucleótido no emparejado que se extiende desde el extremo 3' de una

cadena de ARN bicatenaria. Por lo tanto, el ARNip puede comprender al menos un saliente 3' de 1 a aproximadamente 6 nucleótidos (que incluye ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos) de longitud, de 1 a aproximadamente 5 nucleótidos de longitud, de 1 a aproximadamente 4 nucleótidos de longitud, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 nucleótidos de longitud. El saliente 3' puede estar presente en ambas cadenas del ARNip, y es de 2 nucleótidos de longitud. Por ejemplo, cada cadena del ARNip puede comprender salientes 3' de ácido ditimidílico ("TT") o ácido diuridílico ("uu").

El ARNip puede producirse de forma química o biológica, o puede expresarse a partir de un plásmido recombinante o vector viral, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR aislados. Se describen métodos ejemplares para producir y ensayar moléculas de ARNbc o ARNip en la Solicitud de Patente Publicada de Estados Unidos N° 2002/0173478 de Gewirtz y en la Solicitud de Patente Publicada de Estados Unidos N° 2004/0018176 de Reich *et al.*

La expresión de un gen de miR dado también puede inhibirse por un ácido nucleico antisentido. Como se usa en la presente memoria, un "ácido nucleico antisentido" se refiere a una molécula de ácido nucleico que se une a ARN diana por medio de interacciones de ARN-ARN, ARN-ADN o ARN-ácido peptidonucleico, que alteran la actividad del ARN diana. Son ácidos nucleicos antisentido adecuados para su uso en los presentes métodos ácidos nucleicos monocatenarios (por ejemplo, ARN, ADN, quimeras de ARN-ADN, ácido peptidonucleico (PNA)) que generalmente comprenden una secuencia de ácido nucleico complementaria de una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. El ácido nucleico antisentido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que es 50-100 % complementaria, 75-100 % complementaria o 95-100 % complementaria de una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. Se proporcionan secuencias de ácido nucleico para los productos génicos de miR en las Tablas 1a y 1b. Sin desear quedar ligado a ninguna teoría, se cree que los ácidos nucleicos antisentido activan RNasa H u otra nucleasa celular que digiere la doble cadena de producto génico de miR/ácido nucleico antisentido.

Los ácidos nucleicos antisentido también pueden contener modificaciones de la cadena principal de ácido nucleico o de los restos de azúcar y base (o su equivalente) para potenciar la especificidad diana, resistencia a nucleasa, suministro u otras propiedades relacionadas con la eficacia de la molécula. Dichas modificaciones incluyen restos de colesterol, intercaladores bicatenarios, tales como acridina, o uno o más grupos resistentes a nucleasa.

Pueden producirse ácidos nucleicos antisentido de forma química o biológica, o pueden expresarse a partir de un plásmido o vector viral recombinante, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR aislados. Están dentro de la experiencia de la técnica métodos ejemplares para producir y ensayar; véase, por ejemplo, Stein y Cheng (1993), *Science* 261: 1004 y Patente de Estados Unidos N° 5.849.902 de Woolf *et al.*

La expresión de un gen de miR dado también puede inhibirse por un ácido nucleico enzimático. Como se usa en la presente memoria, un "ácido nucleico enzimático" se refiere a un ácido nucleico que comprende una región de unión a sustrato que tiene complementariedad con una secuencia de ácido nucleico contigua de un producto génico de miR, y que es capaz de escindir específicamente el producto génico de miR. La región de unión al sustrato de ácido nucleico enzimático puede ser, por ejemplo, 50-100 % complementaria, 75-100 % complementaria o 95-100 % complementaria de una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. Los ácidos nucleicos enzimáticos también pueden comprender modificaciones en los grupos de base, azúcar y/o fosfato. Un ácido nucleico enzimático ejemplar para su uso en los presentes métodos es una ribozima.

Los ácidos nucleicos enzimáticos pueden producirse de forma química o biológica, o pueden expresarse a partir de un plásmido o vector viral recombinante, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR aislados. Se describen métodos ejemplares para producir y ensayar moléculas de ARNbc o ARNip en Werner y Uhlenbeck (1995), *Nucl. Acids Res.* 23: 2092-96; Hammann *et al.* (1999), *Antisense and Nucleic Acid Drug Dev.* 9: 25-31; y Patente de Estados Unidos N° 4.987.071 de Cech *et al.*

La administración de al menos un producto génico de miR, o al menos un compuesto para inhibir la expresión de miR, inhibirá la proliferación de células cancerosas en un sujeto que tiene un cáncer sólido. Como se usa en la presente memoria, "inhibir la proliferación de una célula cancerosa" significa destruir la célula, o detener permanente o temporalmente o ralentizar el crecimiento de la célula. La inhibición de la proliferación de células cancerosas puede inferirse si el número de dichas células en el sujeto permanece constante o se reduce después de la administración de los productos génicos de miR o los compuestos de inhibición de la expresión del gen de miR. Una inhibición de la proliferación de células cancerosas puede también inferirse si el número absoluto de dichas células aumenta, pero la tasa de crecimiento tumoral disminuye.

El número de células cancerosas en el cuerpo de un sujeto puede determinarse por medición directa, o mediante estimación del tamaño de las masas tumorales primarias o metastásicas. Por ejemplo, el número de células cancerosas en un sujeto puede medirse por métodos inmunohistológicos, citometría de flujo, u otras técnicas diseñadas para detectar marcadores de superficie característicos de células cancerosas.

El tamaño de una masa tumoral puede determinarse por observación visual directa, o por métodos de formación de imágenes de diagnóstico, tales como rayos X, formación de imágenes por resonancia magnética, ultrasonidos y escintigrafía. Pueden emplearse métodos de formación de imágenes de diagnóstico usados para determinar el tamaño de la masa tumoral con o sin agentes de contraste, como se conoce en la técnica. El tamaño de una masa tumoral también puede determinarse por medios físicos, tales como palpación de la masa tisular o medición de la masa tisular con un instrumento de medición, tal como un calibrador.

Los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR pueden administrarse a un sujeto por cualquier medio adecuado para suministrar estos compuestos a células cancerosas del sujeto. Por ejemplo, los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión de miR pueden administrarse por métodos adecuados para transfectar células del sujeto con estos compuestos, o con ácidos nucleicos que comprenden secuencias que codifican estos compuestos. Las células se transfectan con un vector plasmídico o viral que comprende secuencias que codifican al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR.

Se conocen bien en la técnica métodos de transfección para células eucariotas e incluyen, por ejemplo, inyección directa del ácido nucleico en el núcleo o pronúcleo de una célula; electroporación; transferencia de liposomas o transferencia mediada por materiales lipófilos; suministro de ácidos nucleicos mediado por receptor, biobalística o aceleración de partículas; precipitación con fosfato cálcico y transfección mediada por vectores virales.

Por ejemplo, las células pueden transfectarse con un compuesto de transferencia liposómico, por ejemplo, DOTAP (N-[1-(2,3-dioleoiloxi)propil]-N,N,N-trimetil-amonio metilsulfato, Boehringer-Mannheim) o un equivalente, tal como LIPOFECTINA. La cantidad de ácido nucleico usada no es crítica; pueden conseguirse resultados aceptables con 0,1-100 microgramos de ácido nucleico/10⁵ células. Por ejemplo, puede usarse una relación de aproximadamente 0,5 microgramos de vector plasmídico en 3 microgramos de DOTAP por cada 10⁵ células.

También puede administrarse un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR a un sujeto por cualquier vía de administración entérica o parenteral adecuada. Las vías de administración entéricas adecuadas para los presentes métodos incluyen, por ejemplo, suministro oral, rectal o intranasal. Las vías de administración parenterales adecuadas incluyen, por ejemplo, administración intravascular (por ejemplo, inyección de embolada intravenosa, infusión intravenosa, inyección de embolada intraarterial, infusión intraarterial e instilación por catéter en la vasculatura); inyección peri e intratisular (por ejemplo, inyección peritumoral e intratumoral, inyección intrarretinal o inyección subretinal); inyección o deposición subcutánea, incluyendo infusión subcutánea (tal como por bombas osmóticas); aplicación directa al tejido de interés, por ejemplo por un catéter y otro dispositivo de colocación (por ejemplo, un gránulo retinal o un supositorio o un implante que comprenda un material poroso, no poroso o gelatinoso); e inhalación. Son vías de administración particularmente adecuadas inyección, infusión e inyección directa en el tumor.

En los presentes métodos, puede administrarse un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión de producto génico de miR al sujeto como ARN desnudo, en combinación con un reactivo de suministro, o como un ácido nucleico (por ejemplo, un plásmido recombinante o vector viral) que comprende secuencias que expresan el producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión del producto génico de miR. Los reactivos de suministro adecuados incluyen, por ejemplo, el reactivo lipófilo Mirus Transit TKO; lipofectina; lipofectamina; celfectina; policationes (por ejemplo, polilisina) y liposomas.

Se analizan en la presente memoria y/o se conocen bien en la técnica plásmidos recombinantes y vectores virales que comprenden secuencias que expresan los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR, y técnicas para suministrar dichos plásmidos y vectores a células cancerosas.

Se usan liposomas para suministrar un producto génico de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR (o ácidos nucleicos que comprenden secuencias que los codifican) a un sujeto. Los liposomas también pueden aumentar la semivida en sangre de los productos génicos o ácidos nucleicos. Pueden formarse liposomas adecuados a partir de lípidos formadores de vesículas convencionales, que generalmente incluyen fosfolípidos neutros o cargados negativamente y un esteroles, tal como colesterol. La selección de lípidos generalmente se guía por la consideración de factores, tales como el tamaño de liposoma deseado y la semivida de los liposomas en el torrente sanguíneo. Se conocen diversos métodos para preparar liposomas, por ejemplo, como se describe en Szoka *et al.* (1980), Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9: 467; y Patentes de Estados Unidos N° 4.235.871, 4.501.728, 4.837.028 y 5.019.369.

Los liposomas para su uso en los presentes métodos pueden comprender una molécula ligando que dirige el liposoma a células cancerosas. Se prefieren ligandos que se unan a receptores prevalentes en células cancerosas, tales como anticuerpos monoclonales que se unen a antígenos celulares tumorales.

Los liposomas para su uso en los presentes métodos también pueden modificarse para evitar la eliminación por el sistema de macrófagos mononucleares ("MMS") y el sistema reticuloendotelial ("RES"). Dichos liposomas modificados tienen restos de inhibición de la opsonización en la superficie o incorporados en la estructura del

liposoma. Un liposoma puede comprender tanto un resto de inhibición de la opsonización como un ligando.

Los restos inhibidores de la opsonización para su uso en la preparación de los liposomas son normalmente polímeros hidrófilos grandes que se unen a la membrana del liposoma. Como se usa en la presente memoria, un resto inhibidor de opsonización está "unido" a una membrana del liposoma cuando está química o físicamente unido a la membrana, por ejemplo, por la intercalación de un anclaje soluble en lípidos en la membrana en sí misma, o por unión directamente con grupos activos de lípidos de membrana. Estos polímeros hidrófilos inhibidores de opsonización forman una capa superficial protectora que reduce significativamente la captación de los liposomas por el MMS y RES; por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.920.016.

Los restos inhibidores de opsonización adecuados para modificar liposomas son preferentemente polímeros solubles en agua con un peso molecular medio en número de aproximadamente 500 a aproximadamente 40.000 Dalton, y más preferentemente de aproximadamente 2.000 a aproximadamente 20.000 Dalton. Dichos polímeros incluyen derivados de polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol (PPG); por ejemplo, metoxi PEG o PPG y estearato de PEG o PPG; polímeros sintéticos, tales como poliacrilamida o poli N-vinil pirrolidona; poliamidoaminas lineales, ramificadas o dendrímicas; ácidos poliacrílicos; polialcoholes, por ejemplo, polivinilalcohol y polixilitol a los que se unen químicamente grupos carboxílicos o amino, así como gangliósidos, tales como gangliósido GM1. También son adecuados copolímeros de PEG, metoxi PEG o metoxi PPG o derivados de los mismos. Además, el polímero inhibidor de opsonización puede ser un copolímero en bloque de PEG y un poliamino ácido, polisacárido, poliamidoamina, polietilenamina o polinucleótido. Los polímeros inhibidores de opsonización también pueden ser polisacáridos naturales que contienen aminoácidos o ácidos carboxílicos, por ejemplo, ácido galacturónico, ácido glucurónico, ácido manurónico, ácido hialurónico, ácido péctico, ácido neuramínico, ácido alginico, carragenina; polisacáridos u oligosacáridos aminados (lineales o ramificados); o polisacáridos u oligosacáridos carboxilados, por ejemplo, que han reaccionado con derivados de ácidos carbónicos con enlace resultante de grupos carboxílicos. Preferentemente, el resto de inhibición de la opsonización es un PEG, PPG o un derivado de los mismos. Los liposomas modificados con PEG o derivados de PEG se denominan en ocasiones "liposomas PEGilados".

El resto inhibidor de la opsonización puede estar unido a la membrana del liposoma por una cualquiera de numerosas técnicas bien conocidas. Por ejemplo, un éster de N-hidroxisuccinimida de PEG puede estar unido a un anclaje soluble en lípidos de fosfatidiletanolamina, y después unido a una membrana. De forma similar, un polímero de dextrano puede derivatizarse con un anclaje soluble en lípidos de estearilamina mediante aminación reductora usando $\text{Na}(\text{CN})\text{BH}_3$ y una mezcla de disolvente, tal como tetrahidrofurano y agua en una relación 30:12 a 60 °C.

Los liposomas modificados con restos inhibidores de opsonización permanecen en la circulación durante mucho más tiempo que los liposomas no modificados. Por esta razón, dichos liposomas se denominan en ocasiones liposomas "sigilosos". Se sabe que los liposomas sigilosos se acumulan en tejidos alimentados por microvasculatura porosa o "filtrante". Por lo tanto, el tejido caracterizado por dichos defectos de microvasculatura, por ejemplo, tumores sólidos, acumularán eficazmente estos liposomas; véase Gabizon, *et al.* (1988), Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 18: 6949-53. Además, la captación reducida por el RES reduce la toxicidad de los liposomas sigilosos evitando la acumulación significativa de los liposomas en el hígado y el bazo. Por lo tanto, los liposomas que se modifican con restos inhibidores de la opsonización son particularmente adecuados para suministrar los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR (o ácidos nucleicos que comprenden secuencias que los codifican) a células tumorales.

Los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR pueden formularse como composiciones farmacéuticas, denominadas en ocasiones "medicamentos", antes de administrarlos a un sujeto, de acuerdo con técnicas conocidas en este campo. En consecuencia, la presente divulgación abarca composiciones farmacéuticas para tratar un cáncer sólido. La composición farmacéutica puede comprender al menos un producto génico de miR aislado, o una variante aislada o fragmento biológicamente activo del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. El al menos un producto génico de miR puede corresponder a un producto génico de miR que tiene un nivel reducido de expresión en células de cáncer sólido en relación con células de control adecuadas, El producto génico de miR aislado puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 o combinaciones de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR. El al menos un compuesto de inhibición de la expresión génica de miR puede ser específico para un gen de miR cuya expresión es mayor en células de cáncer sólido que en células de control. El compuesto de inhibición de la expresión génica de miR es específico para uno o más productos génicos de miR seleccionados del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas se caracterizan como al menos estériles y sin pirógenos. Como se usa en la presente memoria, las "composiciones farmacéuticas" incluyen formulaciones para uso humano y veterinario. Los métodos para preparar las composiciones farmacéuticas están dentro de la experiencia de la técnica, por ejemplo como se describe en Remington's Pharmaceutical Science, 17ª ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1985).

Las presentes composiciones farmacéuticas comprenden al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los codifican) (por ejemplo, de 0,1 a 90 % en peso), o una sal fisiológicamente aceptable de los mismos, mezclados con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender adicionalmente uno o más agentes antineoplásicos (por ejemplo, agentes quimioterapéuticos). Las formulaciones farmacéuticas también pueden comprender al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los codifican), que están encapsulados por liposomas y un vehículos farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender un gen o producto génico de miR que no es miR-15 y/o miR-16.

Son vehículos farmacéuticamente aceptables especialmente adecuados agua, agua tamponada, solución salina normal, solución salina 0,4 %, glicina 0,3 %, ácido hialurónico y similares.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los codifican) que es resistente a la degradación por nucleasas. Un experto en la materia puede sintetizar fácilmente ácidos nucleicos que son resistentes a nucleasa, por ejemplo, incorporando uno o más ribonucleótidos que se modifican en la posición 2' en el producto génico de miR. Los ribonucleótidos modificados 2' adecuados incluyen los modificados en la posición 2' con fluoro, amino, alquilo, alcoxi y O-alilo.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender también excipientes y/o aditivos farmacéuticos convencionales. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen estabilizadores, antioxidantes, agentes de ajuste de la osmolalidad, tampones y agentes de ajuste de pH. Los aditivos adecuados incluyen, por ejemplo, tampones fisiológicamente biocompatibles (por ejemplo, clorhidrato de trometamina), adiciones de quelantes (tales como, por ejemplo, DTPA o DTPA-bisamida) o complejos de quelado de calcio (tales como, por ejemplo, DTPA de calcio, CaNaDTPA-bisamida) u, opcionalmente, adiciones de sales de calcio o sodio (por ejemplo cloruro cálcico, ascorbato cálcico, gluconato cálcico o lactato cálcico). Las composiciones farmacéuticas pueden envasarse para su uso en forma líquida, o pueden liofilizarse.

Para composiciones farmacéuticas sólidas, pueden usarse vehículos farmacéuticamente aceptables sólidos no tóxicos convencionales; por ejemplo, usos farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, sacarosa, carbonato de magnesio y similares.

Por ejemplo, una composición farmacéutica sólida para administración oral puede comprender cualquiera de los vehículos y excipientes enumerados anteriormente y 10-95 %, preferentemente 25 %-75 %, del al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los codifican). Una composición farmacéutica para administración por aerosol (de inhalación) puede comprender 0,01-20 % en peso, preferentemente 1 %-10 % en peso, del al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los codifican) encapsulado en un liposoma como se ha descrito anteriormente, y un propulsor. También puede incluirse un vehículo según se desee; por ejemplo, lecitina para suministro intranasal.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender además uno o más agentes antineoplásicos. Las composiciones comprenden al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los codifican) y al menos un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos que son adecuados para los métodos desvelados en la presente memoria incluyen, pero sin limitación, agentes alquilantes de ADN, agentes antibióticos antitumorales, agentes antimetabólicos, agentes estabilizadores de tubulina, agentes desestabilizadores de tubulina, agentes antagonistas de hormonas, inhibidores de topoisomerasa, inhibidores de proteína quinasa, inhibidores de HMG-CoA, inhibidores de CDK, inhibidores de ciclina, inhibidores de caspasa, inhibidores de metaloproteinasas, ácidos nucleicos antisentido, ADN de triple hélice, aptámeros de ácidos nucleicos y agentes virales, bacterianos y exotóxicos modificados molecularmente. Los ejemplos de agentes adecuados para las composiciones incluyen, pero sin limitación, arabinósido de citidina, metotrexato, vincristina, etopósido (VP-16), doxorubicina (adriamicina), cisplatino (CDDP), dexametasona, arglabina, ciclofosfamida, sarcolisina, metilnitrosourea, fluorouracilo, 5-fluorouracilo (5FU), vinblastina, camptotecina, actinomicina-D, mitomicina C, peróxido de hidrógeno, oxaliplatino, irinotecán, topotecán, leucovorina, carmustina, estreptoizocina, CPT-11, taxol, tamoxifeno, dacarbacina, rituximab, daunorrubicina, 1-β-D-arabinofuranosilcitosina, imatinib, fludarabina, docetaxel, FOLFOX4.

También se desvelan métodos para identificar un inhibidor de tumorogénesis, que comprenden proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR en la célula. El método comprende proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión reducidos en células cancerosas. Un aumento del nivel del producto génico de miR de la célula después de que se proporcione el agente, en relación con una célula de control adecuada (por ejemplo, no se proporciona agente), es indicativo de que el agente de ensayo es un inhibidor de tumorogénesis. Al menos un producto génico de miR asociado con los niveles de expresión reducidos en células cancerosas puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

Como alternativa, el método puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión aumentados en células cancerosas. Una reducción del nivel del producto génico de miR en la célula después de que se proporcionen el agente, en relación con una célula de control adecuada (por ejemplo, no se proporciona agente) es indicativa de que el agente de ensayo es un inhibidor de tumorigénesis. Al menos un producto génico de miR que puede estar asociado con niveles de expresión aumentados en células cancerosas se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a.

Los agentes adecuados incluyen, pero sin limitación fármacos (por ejemplo, moléculas pequeñas, péptidos) y macromoléculas biológicas (por ejemplo, proteínas, ácidos nucleicos). El agente puede producirse de forma recombinante, sintética o puede aislarse (es decir purificarse) de una fuente natural. Se conocen bien en la técnica diversos métodos para proporcionar dichos agentes a una célula (por ejemplo, transfección), y varios de dichos métodos se han descrito anteriormente en la presente memoria. También se conocen bien en la técnica métodos para detectar la expresión de al menos un producto génico de miR (por ejemplo, transferencia de Northern, hibridación *in situ*, RT-PCR, perfiles de expresión). Varios de estos métodos también se han descrito anteriormente en la presente memoria.

La invención se ilustrará ahora por los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplificación

Los siguientes Materiales y Métodos se usaron en los Ejemplos:

Muestras

Se usaron un total de 540 muestras, incluyendo 363 muestras de tumores primarios y 177 tejidos normales, en este estudio (Tabla 2). Se representaron los siguientes cánceres sólidos: carcinoma de pulmón, carcinoma de mama, carcinoma de próstata, carcinoma de estómago, carcinoma de colon y tumores endocrinos pancreáticos. Todas las muestras se obtuvieron con el consentimiento informado de cada paciente y se confirmaron histológicamente. Las muestras normales se emparejaron con muestras de individuos aquejados de carcinoma de pulmón y estómago, y de individuos normales para el resto de los tejidos. Todas las muestras de mama normales se obtuvieron agrupando 5 tejidos normales no relacionados. El ARN total se aisló de tejidos usando reactivo TRIzol™ (Invitrogen), de acuerdo con las instrucciones de fabricante.

Microseries de microARN

Se realizó análisis de microseries como se ha descrito previamente (Liu, C.-G., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 11755-11760 (2004)). Brevemente, se usaron 5 µg de ARN total para la hibridación en microplacas de microseries de miARN. Estas microplacas contienen sondas oligonucleotídicas de 40 unidades específicas de gen, aplicadas puntualmente por tecnologías de contacto y unidas covalentemente a una matriz polimérica. Las microseries se hibridaron en SSPE 6x (NaCl 0,9 M/NaH₂PO₄ 60 mM · H₂O/EDTA 8 mM, pH 7,4)/formamida 30 % a 25 °C durante 18 h, se lavaron en TNT 0,75x (Tris-HCl/NaCl/Tween 20) a 37 °C durante 40 minutos, y se procesaron usando detección directa en los transcritos marcados con biotina por conjugado de estreptavidina-Alexa647 (Molecular Probes). Los portaobjetos procesados se exploraron usando un explorador de microseries (GenePix Pro, Axon), con el láser ajustado a 635 nm, a ajustes de PMT fijos y una resolución de exploración de 10 mm. Los datos se confirmaron por transferencia de Northern como se describe (Calin, G. A., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 11755-11760 (2004); Iorio, M. V., *et al.*, Cancer Res. 65: 7065-7070 (2005)).

Tabla 2. Muestras usadas en el estudio (tumores y normales correspondientes).

Tipo de tumor	Muestras de cáncer	Muestras Normales
Carcinoma de pulmón	123	123
Carcinoma de mama	79	6*
Carcinoma de colon	46	8
Carcinoma gástrico	20	21
Tumores pancreáticos endocrinos	39	12
Cáncer de próstata	56	7
Todos los tejidos (527)	363	177

* Grupos de 5 tejidos de mama normales no relacionados por muestra (para un total de 30 individuos no relacionados).

Análisis computacional

Se analizaron imágenes de microseries usando GenePix Pro (Axon). De los valores medios de los puntos repetidos de cada miARN se restó el fondo, se normalizaron y se sometieron a análisis adicional. Se realizó normalización usando un método de normalización de mediana por microplaca, usando la mediana de la serie como una referencia. Finalmente, se seleccionaron los miARN medidos como presentes en al menos la menor de las dos clases en un conjunto de datos. Las ausencias tuvieron un umbral de 4,5 antes del análisis estadístico. Este nivel es el nivel de intensidad mínimo medio detectado en los experimentos. La nomenclatura de microARN fue de acuerdo con el Buscador del Genoma (www.genome.ucsc.edu) y la base de datos de microARN en el Centro Sanger (Griffiths-Jones, S., *Nucleic Acids Res* 32: D109-11(2004)); en caso de discrepancias los inventores siguieron la base de datos de microARN. Se identificaron microARN expresados diferencialmente usando el procedimiento de ensayo de t dentro de análisis significativo de microseries (SAM) (Tusher, V. G., *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 5116-21 (2001)). SAM calcula una puntuación para cada gen basándose en el cambio de la expresión en relación con la desviación típica de todas las mediciones. Dentro de SAM, se usó el ensayo de t. Los distintivos de microARN se determinaron aplicando el método de centroides hundidos más cercanos. Este método identifica un subgrupo de genes que caracteriza mejor cada cáncer sólido de su homólogo normal respectivo. Se calculó el error de predicción por medio de validación cruzada 10 veces, y para cada cáncer se obtuvo el distintivo de miR que daba como resultado el error mínimo de predicción. Se realizó un ensayo de nueva toma de muestras por análisis de permutación aleatoria para calcular el p valor del distintivo compartido.

Ejemplo 1: Identificación de un distintivo de expresión de microARN en cánceres sólidos humanos

Estadística

La comparación de cánceres combinados/tejido normal se realizó usando un número reducido de muestras de pulmón (80 muestras de cáncer y 40 normales), para equilibrar los diferentes tejidos numéricamente, produciendo un total de 404 muestras. Para análisis estadístico, se retuvieron 137 miR, cuyos valores de expresión estaban por encima de 256 (valor umbral) en al menos 50 % de las muestras, de las 228 que se midieron. Se usó un ensayo de T para identificar microARN expresados diferencialmente (Tabla 3). Los p valores del ensayo de T se corrigieron para múltiples procedimientos de ensayo y para controlar las tasas de error de Tipo I. Se obtuvieron p valores ajustados realizando una nueva toma de muestras con 500.000 permutaciones (Jung, S. H., *et al.* *Biostatistics* 6: 157-69 (2005)). Este análisis se realizó para evaluar los resultados usando el mismo método que Lu y colaboradores (Lu, J., *et al.*, *Nature* 435: 834-8(2005)).

Como una alternativa al ensayo de T, se usó análisis de significación de microseries (SAM) para identificar microARN expresados diferencialmente. Este procedimiento permite el control de la tasa de detección falsa (FDR). El delta se eligió para dar como resultado una FDR menor de o igual a 0,01. Después se identificaron los subconjuntos de microARN que daban como resultado la mejor clasificación tumoral, es decir, que predecían mejor las dos clases (cáncer y normal), usando el método de los centroides hundidos más cercanos, como se implementa en PAM (análisis de predicción de microseries). Se calculó el error de predicción por medio de validación cruzada 10 veces. Los microARN se seleccionaron produciendo el error de clasificación equivocada mínimo después de validación cruzada.

Resultados

Por el ensayo de T, se obtuvieron 43 miR expresados diferencialmente con un p valor ajustado por debajo de 0,05 (Tabla 3). Se sobreexpresaron 26 miR y 17 se infraexpresaron en relación con tejidos normales correspondientes cuando los seis cánceres sólidos se agruparon entre sí (mama, colon, pulmón, páncreas, próstata, estómago). Estos resultados indicaron que el espectro de miARN expresados en cánceres sólidos es muy diferente del de células normales (43 de 137 miARN, 31 %). Usando SAM, se identificaron 49 miARN expresados diferencialmente, de los cuales 34 estaban regulados positivamente (Tabla 4). Usando PAM, se identificaron 36 miARN sobreexpresados en cáncer (indicado por puntuaciones de cáncer positivas) y 21 miR regulados negativamente (indicados por puntuaciones de cáncer negativas) como expresados diferencialmente (Tabla 5). Sin embargo, estos análisis no están adaptados para identificar alteraciones en la expresión de miR que da como resultado uniformemente transformación, debido a que la expresión de miR es muy específica de tejido (He, L., *et al.* *Nature* 435: 828-833 (2005); véase también FIG. 1 y FIG. 2).

El agrupamiento de miR basado en perfiles de expresión derivados de 363 muestras de cáncer sólido y 177 normales usando 228 miR se muestra en la FIGURA 1. El árbol, que muestra una muy buena separación entre los diferentes tejidos, se construyó usando 137 miARN diferentes que se expresaron en al menos 50 % de las muestras usadas en el estudio.

Tabla 3. miR regulados diferencialmente en 6 tipos de cáncer sólido frente a tejidos normales (estadística de ensayo de T)*.

miR	ID	Media de Cáncer	Media Normal	Estadística de ensayo	p sin procesar	p Aj
miR-21	Nº 47	11,538663	9,648338	7,861136	2,00E-06	2,00E-06
miR-141	Nº 137	9,024091	7,905398	6,238014	2,00E-06	2,00E-06
miR-212	Nº 208	13,540651	14,33617	-6,57942	2,00E-06	2,00E-06
miR-128a prec	Nº 113	12,32588	13,522675	-6,76388	2,00E-06	2,00E-06
miR-138-2	Nº 133	11,739557	13,144746	-7,01204	2,00E-06	2,00E-06
miR-218-2	Nº 221	11,279787	12,539366	-7,40557	2,00E-06	2,00E-06
miR-23b	Nº 51	14,169748	15,949736	-8,37744	2,00E-06	2,00E-06
miR-195	Nº 184	10,343991	9,172985	5,763262	2,00E-06	1,00E-05
miR-212 prec	Nº 209	12,686966	13,661763	-5,83132	4,00E-06	1,00E-05
miR-29b-2	Nº 95	11,27556	9,940731	5,660854	2,00E-06	1,40E-05
miR-199a-1	Nº 191	10,032008	8,920183	5,528849	2,00E-06	3,00E-05
miR-9-3	Nº 28	11,461922	12,570412	-5,43006	2,00E-06	4,60E-05
miR-128a	Nº 114	13,024235	13,856624	-5,35102	6,00E-06	7,20E-05
let-7a-1	Nº 1	12,616569	13,455246	-5,35346	2,00E-06	7,20E-05
let-7b	Nº 5	13,42636	14,068521	-5,17701	1,00E-05	0,000146
miR-16-2	Nº 39	10,460707	9,305895	5,048375	4,00E-06	0,000224
miR-199a-2	Nº 192	9,714225	8,759237	4,862553	1,00E-05	0,000494
miR-152 prec	Nº 151	11,388676	12,357529	-4,83716	2,00E-06	0,00053
miR-16-1	Nº 38	10,443169	9,338182	4,755258	1,00E-05	0,00071
miR-30d	Nº 72	13,982017	14,775206	-4,5707	1,20E-05	0,001476
miR-34n	Nº 78	10,675566	9,63769	4,467301	2,60E-05	0,00217
miR-17-5p	Nº 41	11,567244	10,281468	4,341834	3,80E-05	0,0034
miR-128b	Nº 115	10,930395	9,947746	4,304764	3,80E-05	0,003912
miR-20a	Nº 46	11,409852	10,19284	4,304678	3,20E-05	0,003912
miR-181b-1 prec	Nº 211	9,577504	8,804294	4,285968	4,80E-05	0,004126
miR-132	Nº 121	9,599947	8,775966	4,284737	5,60E-05	0,004126
miR-200b	Nº 195	9,475221	8,527243	4,221511	4,00E-05	0,0052
let-7a-3	Nº 4	10,436089	9,511546	4,08952	0,000104	0,008242
miR-138-1	Nº 132	8,299613	9,200253	-4,05204	5,60E-05	0,00931
miR-29c	Nº 65	11,291005	10,326912	4,019385	0,000144	0,010312
miR-29a	Nº 62	11,381359	10,461075	4,013697	0,00015	0,010398
miR-96	Nº 86	11,37218	12,136636	-3,94825	0,000138	0,012962
miR-191	Nº 177	13,498207	12,729872	3,817228	0,000158	0,02015
miR-27a	Nº 59	10,399338	9,548582	3,715048	0,000344	0,028096
let-7g	Nº 15	10,819688	10,01157	3,653239	0,000426	0,033874
miR-9-1	Nº 24	10,102819	9,212988	3,651886	0,000388	0,033874
miR-125a	Nº 107	10,960998	10,005312	3,651356	0,000452	0,033874
miR-95	Nº 84	9,435733	8,751331	3,59406	0,000478	0,039594
miR-155	Nº 157	12,505359	13,231221	-3,58369	0,000614	0,040394
miR-199b	Nº 194	9,755066	9,082751	3,55934	0,000588	0,04314
miR-24-2	Nº 54	12,611696	11,612557	3,518774	0,00087	0,048278
let-7e	Nº 11	12,497795	13,055093	-3,51589	0,00054	0,048354
miR-92-1	Nº 81	16,081074	16,592426	-3,50446	0,000928	0,49828

* - Cuarenta y tres miR tienen un p valor ajustado menor de 0,05. Veintiséis miR están sobreexpresados y 17 regulados negativamente en carcinomas de mama, colon, pulmón, páncreas, próstata, estómago.

Tabla 4. miR regulados diferencialmente en 6 tipos de cáncer sólido frente a tejidos normales (SAM, análisis de significación de microseries)*.

miR	ID	Valor d.	devtip	Valor p	Valor q	Factor de R
miR-21	Nº 47	3,156	0,24	0	0	2,593
miR-23b	Nº 51	-3,117	0,212	0	0	0,443
miR-138-2	Nº 133	-2,514	0,2	0	0	0,402
miR-218-2	Nº 221	-2,383	0,17	0	0	0,384
miR-29b-2	Nº 95	2,246	0,236	0	0	1,868
miR-128a	Nº 113	-2,235	0,177	0	0	0,368
prec						
miR-195	Nº 184	2,085	0,203	0	0	1,695
miR-141	Nº 137	2,08	0,179	0	0	2,459
miR-199a-1	Nº 191	1,987	0,201	0	0	1,945
miR-9-3	Nº 28	-1,97	0,204	0	0	0,433
miR-16-2	Nº 39	1,966	0,229	0	0	1,788
miR-17-5p	Nº 41	1,964	0,296	0	0	0,725
miR-20a	Nº 46	1,898	0,283	0	0	0,969
miR-16-1	Nº 38	1,87	0,232	0	0	1,447
miR-212	Nº 209	-1,854	0,167	0	0	0,509
prec						
miR-34a	Nº 78	1,756	0,232	0	0	1,219
miR-152	Nº 151	-1734	0,2	0	0	0,46
prec						
miR-199a-2	Nº 192	1,721	0,196	0	0	1,838
miR-128b	Nº 115	1,674	0,238	0	0	1,266
miR-212	Nº 208	1,659	0,121	0	0	0,627
let-7a-1	Nº 1	-1,628	0,157	0	0	0,461
miR-200b	Nº 195	1,626	0,225	0	0	1,432
miR-128a	Nº 114	-1,619	0,156	0	0	0,511
miR-29c	Nº 65	1,611	0,24	0	0	1,225
let-7a-3	Nº 4	1,581	0,226	0	0	1,109
miR-29a	Nº 62	1,565	0,229	0	0	1,706
miR-24-2	Nº 54	1,555	0,284	0	0	0,831
miR-138-1	Nº 132	1,551	0,222	0	0	0,432
miR-125a	Nº 107	1,541	0,262	0	0	1,164
miR-106a	Nº 99	1,514	0,275	0	0	0,952
miR-132	Nº 121	1,496	0,192	0	0	2,158
miR-30d	Nº 72	-1,491	0,174	0	0	0,424
miR-9-1	Nº 24	1,478	0,244	0	0	0,763
miR-27a	Nº 59	1,448	0,229	0	0	1,174
miR-181b-1	Nº 211	1,435	0,18	0	0	1,525
prec						
let-7g	Nº 15	1,394	0,221	0	0	1,072
miR-96	Nº 86	-1,384	0,194	0	0	0,519
miR-191	Nº 177	1,372	0,201	0	0	1,165
miR-93-1	Nº 83	1,363	0,266	0	0	0,775
miR-136	Nº 130	-1,355	0,267	0	0	0,364
miR-205	Nº 201	1,343	0,309	0	0	1,281
miR-185	Nº 170	1,287	0,222	0,001	0,001	0,609
miR-125b-1	Nº 109	1,262	0,283	0,001	0,001	1,215
miR-10a	Nº 30	1,252	0,227	0,001	0,001	1,643
miR-95	Nº 84	1,247	0,19	0,001	0,001	1,509
miR-199b	Nº 194	1,228	0,189	0,001	0,001	1,246

miR-10b	Nº 32	1,219	0,232	0,002	0,001	1,342
let-7i	Nº 10	1,216	0,203	0,002	0,001	1,026
miR-210	Nº 205	1,213	0,237	0,002	0,001	1,088

* -Treinta y cinco miR están sobreexpresados y 14 están regulados negativamente en carcinomas de mama, colon, pulmón, páncreas, próstata, estómago (Delta = 0,9, FDR=0,001).

Tabla 5. MicroARN seleccionados por PAM (análisis de predicción de microserie) en 6 tipos de cáncer sólido frente a tejidos normales

miR	ID	Puntuación de cáncer sólido	Puntuación de tejidos normales
miR-21	Nº 47	0,0801	-0,2643
miR-138-2	Nº 133	-0,055	0,1815
miR-218-2	Nº 221	-0,0535	0,1765
miR-23b	Nº 51	-0,0516	0,17
miR-128a prec	Nº 113	-0,0498	0,1642
miR-29b-2	Nº 95	0,0457	-0,1508
miR-195	Nº 184	0,0404	-0,1333
miR-17-5p	Nº 41	0,0383	-0,1263
miR-9-3	Nº 28	-0,0357	0,1176
miR-212 prec	Nº 209	-0,0342	0,1129
miR-20a	Nº 46	0,0322	-0,1061
miR-141	Nº 137	0,0322	-0,1061
miR-199-1	Nº 191	0,0319	-0,1053
miR-16-2	Nº 39	0,0315	-0,1037
miR-152 prec	Nº 151	-0,0283	0,0933
miR-16-1	Nº 38	0,0277	-0,0913
miR-34a	Nº 78	0,0269	-0,0886
miR-212	Nº 208	-0,0265	0,0875
let-7a-1	Nº 1	-0,0264	0,0872
miR-128a	Nº 114	-0,0259	0,0855
miR-128b	Nº 115	0,0254	-0,0839
miR-24-2	Nº 54	0,0244	-0,0803
miR-29c	Nº 65	0,0224	-0,0738
miR-199a-2	Nº 192	0,0223	-0,0736
let-7a-3	Nº 4	0,0221	-0,073
miR-191	Nº 177	0,0188	-0,062
miR-125a	Nº 107	0,0186	-0,0613
miR-30d	Nº 72	-0,0185	0,061
miR-29a	Nº 62	0,0184	-0,0608
miR-106a	Nº 99	0,0177	-0,0584
miR-93-1	Nº 83	0,0163	-0,0537
miR-200b	Nº 195	0,0159	-0,0524
let-7g	Nº 15	0,0158	-0,0521
miR-27a	Nº 59	0,0157	-0,0518
miR-96	Nº 86	-0,0156	0,0514
let-7b	Nº 5	-0,0152	0,0501
miR-138-1	Nº 132	-0,0151	0,0499
miR-9-1	Nº 24	0,0136	-0,0448
miR-181b-1 prec	Nº 211	0,0134	-0,0442
miR-155	Nº 157	-0,0128	0,0423
miR-132	Nº 121	0,0127	-0,0418

miR-136	Nº 130	-0,0112	0,037
let-7i	Nº 10	0,0103	-0,034
miR-210	Nº 205	0,0074	-0,0245
miR-205	Nº 201	0,0073	-0,024
*. miR-185	Nº 170	0,0071	-0,0234
miR-24-1	Nº 52	0,007	-0,023
miR-199b	Nº 194	0,0064	-0,021
miR-125b-1	Nº 109	0,006	-0,0199
miR-206 prec	Nº 203	-0,005	0,0166
miR-10a	Nº 30	0,0045	-0,015
miR-95	Nº 84	0,0045	-0,0149
let-7c	Nº 11	-0,0039	0,013
miR-124a-3	Nº 106	-0,0028	0,0091
miR-10b	Nº 32	0,002	-0,0066
miR-185 prec.	Nº 171	-0,0014	0,0047
miR-92-1	Nº 81	-2,00E-04	5,00E-04

* - T=1.5 y error de clasificación equivocada = 0,176. Treinta y seis miR sobreexpresados en cáncer están indicados por puntuaciones de cáncer positivas; 21 miR regulados negativamente están indicados por puntuaciones de cáncer negativas.

Ejemplo 2: Identificación de distintivos de expresión de microARN asociados con diversos cánceres sólidos humanos.

5 **Resultados**

Para identificar microARN que son pronóstico de estado de cáncer asociado con tumores sólidos, sin incurrir en una desviación debido a la especificidad de tejido, se usó un enfoque alternativo. En primer lugar, se obtuvieron seis distintivos específicos de tejido, uno para cada histotipo de cáncer, realizando ensayos de PAM independientes (resumidos en las Tablas 6 y 7). Se muestran distintivos específicos para cada cáncer en las Tablas 8-13: por ejemplo, mama-Tabla 8; colon-Tabla 9; pulmón-Tabla 10; páncreas-Tabla 11; próstata-Tabla 12; estómago-Tabla 13. Usando estos datos, se identificaron microARN desregulados que se compartían entre los distintivos de miARN de diferentes histotipos (Tabla 14). Para calcular los p valores para este análisis comparativo, se realizó un ensayo de nueva toma de muestras con 1.000.000 de permutaciones aleatorias sobre la identidad del miARN. El p valor se definió como la frecuencia relativa de puntuaciones de simulación que sobrepasaban la puntuación real. Se identificaron 21 microARN regulados erróneamente que eran comunes de al menos 3 tipos de cánceres sólidos (p valor = $2,5 \times 10^{-3}$) (Tabla 14).

Tabla 6. MicroARN usados para clasificar cánceres humanos y tejidos normales*.

Cáncer	miR regulados positivamente	miR regulados negativamente	Error de clasificación equivocada después de validación cruzada 10 veces
Mama	15	12	0,08
Colon	21	1	0,09
Pulmón	35	3	0,31
Páncreas	55	2	0,02
Próstata	39	6	0,11
Estómago	22	6	0,19

* - Se realizó normalización de la mediana y se usó el método de los centroides hundidos más cercanos para seleccionar miARN predictivos.

20

Tabla 7. microARN desregulados en cánceres comunes sólidos*.

Cáncer	Regulados positivamente por PAM	Regulados positivamente por SAM	Regulados negativamente por PAM	Regulados negativamente por SAM
Mama	15	3 (FDR=0,33)	12	47
Colon	21	42 (FDR<=0,06)	1	5
Pulmón	35	38 (FDR<=0,01)	3	3
Páncreas	55	50 (FDR<=0,01)	2	8
Estómago	22	22 (FDR=0,06)	6	4

Próstata	39	49 (FDR=0,06)	6	3
----------	----	---------------	---	---

* - El análisis de predicción de microseries (PAM) identifica los genes que caracterizan mejor cánceres y tejidos normales, mientras que el análisis de significación de microseries (SAM) identifica los que tienen expresión diferencial en las dos clases. Las tasas de detección falsa (FDR) calculadas en SAM se indican entre paréntesis.

Tabla 8. MicroARN seleccionados por análisis de predicción de microserie (PAM) en cáncer de mama (cáncer frente a tejidos normales)*.

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-21 (Nº 47)	0,0331	-0,4364
miR-29b-2 (Nº 95)	0,0263	-0,3467
miR-146 (Nº 144)	0,0182	-0,2391
miR-125b-2 (Nº 111)	-0,0174	0,2286
miR-125b-1 (Nº 109)	-0,0169	0,222
miR-10b (Nº 32)	-0,0164	0,2166
miR-145 (Nº 143)	-0,0158	0,2076
miR-181a (Nº 158)	0,0153	-0,201
miR-140 (Nº 136)	-0,0122	0,1613
miR-213 (Nº 160)	0,0116	-0,1527
miR-29a prec (Nº 63)	0,0109	-0,1441
miR-181b-1 (Nº 210)	0,0098	-0,1284
miR-199b (Nº 194)	0,0089	-0,1172
miR-29b-1 (Nº 64)	0,0084	-0,1111
miR-130a (Nº 120)	-0,0076	0,1001
miR-155 (Nº 157)	0,0072	-0,0951
let-7a-2 (Nº 3)	-0,0042	0,0554
miR-205 (Nº 201)	-0,004	0,0533
miR-29c (Nº 65)	0,0032	-0,0423
miR-224 (Nº 228)	-0,003	0,0399
miR-100 (Nº 91)	-0,0021	0,0283
miR-31 (Nº 73)	0,0017	-0,022
miR-30c (Nº 70)	-7,00E-04	0,009
miR-17-5p (Nº 41)	7,00E-04	-0,0089
miR-210 (Nº 205)	4,00E-04	-0,0057
miR-122a (Nº 101)	4,00E-04	-0,005
miR-16-2 (Nº 39)	-1,00E-04	0,0013

* 27 miR seleccionados, error de clasificación equivocada después de validación cruzada de 0,008. Diecisiete miR sobreexpresados en cáncer se indican por puntuaciones de cáncer positivas; 12 miR regulados negativamente se indican por puntuaciones de cáncer negativas.

5 Tabla 9. MicroARN seleccionados por análisis de predicción de microserie (PAM) en colon (cáncer frente a tejidos normales)*.

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-24-1 (Nº 52)	0,0972	-0,5589
miR-29b-2 (Nº 95)	0,0669	-0,3845
miR-20a (Nº 46)	0,0596	-0,3424
miR-10a (Nº 30)	0,0511	-0,2938
miR-32 (Nº 75)	0,0401	-0,2306
miR-203 (Nº 197)	0,0391	-0,2251
miR-106a (Nº 99)	0,0364	-0,2094
miR-17-5p (Nº 41)	0,0349	-0,2005
miR-30c (Nº 70)	0,0328	-0,1888
miR-223 (Nº 227)	0,0302	-0,1736

miR-126* (Nº 102)	0,0199	-0,1144
miR-128b (Nº 115)	0,0177	-0,102
miR-21 (Nº 47)	0,0162	-0,0929
miR-24-2 (Nº 54)	0,0145	-0,0835
miR-99b prec (Nº 88)	0,0125	-0,0721
miR-155 (Nº 157)	0,0092	-0,0528
miR-213 (Nº 160)	0,0091	-0,0522
miR-150 (Nº 148)	0,0042	-0,0243
miR-107 (Nº 100)	0,003	-0,0173
miR-191 (Nº 177)	0,0028	-0,0159
miR-221 (Nº 224)	0,002	-0,0116
miR-9-3 (Nº 28)	-0,0014	0,0083

* 22 miR seleccionados, error de clasificación equivocada después de validación cruzada de 0,09. Veintiún miR sobreexpresados en cáncer se indican por puntuaciones de cáncer positivas; 1 miR regulado negativamente se indica por una puntuación de cáncer negativa

Tabla 10. MicroARN seleccionados por análisis de predicción de microserie (PAM) en cáncer de pulmón (cáncer frente a tejidos normales)*.

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-21 (Nº 47)	0,175	-0,175
miR-205 (Nº 201)	0,1317	-0,1317
miR-200b (Nº 195)	0,1127	-0,1127
miR-9-1 (Nº 24)	0,1014	-0,1014
miR-210 (Nº 205)	0,0994	-0,0994
miR-148 (Nº 146)	0,0737	-0,0737
miR-141 (Nº 137)	0,0631	-0,0631
miR-132 (Nº 121)	0,0586	-0,0586
miR-128b (Nº 115)	0,0559	-0,0559
let-7g (Nº 15)	0,0557	-0,0557
miR-16-2 (Nº 39)	0,0547	-0,0547
miR-129-1/2 prec (Nº 118)	0,0515	-0,0515
miR-126* (Nº 102)	-0,0406	0,0406
miR-142-as (Nº 139)	0,0366	-0,0366
miR-30d (Nº 72)	-0,0313	0,0313
miR-30a-5p (Nº 66)	-0,0297	0,0297
miR-7-2 (Nº 21)	0,0273	-0,0273
miR-199a-1 (Nº 191)	0,0256	-0,0256
miR-127 (Nº 112)	0,0254	-0,0254
miR-34a prec (Nº 79)	0,0214	-0,0214
miR-34a (Nº 78)	0,0188	-0,0188
miR-136 (Nº 130)	0,0174	-0,0174
miR-202 (Nº 196)	0,0165	-0,0165
miR-196-2 (Nº 188)	0,0134	-0,0134
miR-199a-2 (Nº 192)	0,0126	-0,0126
let-7a-2 (Nº 3)	0,0109	-0,0109
miR-124a-1 (Nº 104)	0,0081	-0,0081
miR-149 (Nº 147)	0,0079	-0,0079
miR-17-5p (Nº 41)	0,0061	-0,0061
miR-196-1 prec (Nº 186)	0,0053	-0,0053
miR-10a (Nº 30)	0,0049	-0,0049
miR-99b prec (Nº 88)	0,0045	-0,0045
miR-196-1 (Nº 185)	0,0044	-0,0044
miR-199b (Nº 194)	0,0039	-0,0039
miR-191 (Nº 177)	0,0032	-0,0032

miR-195 (Nº 184)	7,00E-04	-7,00E-04
miR-155 (Nº 157)	7,00E-04	-7,00E-04

* 38 miR seleccionados, error de clasificación equivocada después de validación cruzada de 0,31. Treinta y cinco miR sobreexpresados en cáncer se indican por puntuaciones de cáncer positivas; 3 miR regulados negativamente se indican por una puntuaciones de cáncer negativas.

Tabla 11. MicroARN seleccionados por análisis de predicción de microserie (PAM) en cáncer pancreático (cáncer frente a tejidos normales)*.

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-103-2 (Nº 96)	0,4746	-1,582
miR-103-1 (Nº 97)	0,4089	-1,3631
miR-24-2 (Nº 54)	0,4059	-1,3529
miR-107 (Nº 100)	0,3701	-1,2336
miR-100 (Nº 91)	0,3546	-1,182
miR-125b-2 (Nº 111)	0,3147	-1,0489
miR-125b-1 (Nº 109)	0,3071	-1,0237
miR-24-1 (Nº 52)	0,2846	-0,9488
miR-191 (Nº 177)	0,2661	-0,887
miR-23a (Nº 50)	0,2586	-0,8619
miR-26a-1 (Nº 56)	0,2081	-0,6937
miR-125a (Nº 107)	0,1932	-0,644
miR-130a (Nº 120)	0,1891	-0,6303
miR-26b (Nº 58)	0,1861	-0,6203
miR-145 (Nº 143)	0,1847	-0,6158
miR-221 (Nº 224)	0,177	-0,59
miR-126* (Nº 102)	0,1732	-0,5772
miR-16-2 (Nº 39)	0,1698	-0,5659
miR-146 (Nº 144)	0,1656	-0,552
miR-214 (Nº 212)	0,1642	-0,5472
miR-99b (Nº 89)	0,1636	-0,5454
miR-128b (Nº 115)	0,1536	-0,512
miR-155 (Nº 157)	-0,1529	0,5098
miR-29b-2 (Nº 95)	0,1487	-0,4956
miR-29a (Nº 62)	0,1454	-0,4848
miR-25 (Nº 55)	0,1432	-0,4775
miR-16-1 (Nº 38)	0,1424	-0,4746
miR-99a (Nº 90)	0,1374	-0,4581
miR-224 (Nº 228)	0,1365	-0,4549
miR-30d (Nº 72)	0,1301	-0,4336
miR-92-2 (Nº 82)	0,116	-0,3865
miR-199a-1 (Nº 191)	0,1158	-0,3861
miR-223 (Nº 227)	0,1141	-0,3803
miR-29c (Nº 65)	0,113	-0,3768
miR-30b (Nº 68)	0,1008	-0,3361
miR-129-1/2 (Nº 117)	0,1001	-0,3337
miR-197 (Nº 189)	0,0975	-0,325
miR-17-5p (Nº 41)	0,0955	-0,3185
miR-30c (Nº 70)	0,0948	-0,316
miR-7-1 (Nº 19)	0,0933	-0,311
miRs-93-1 (Nº 83)	0,0918	-0,3061
miR-140 (Nº 136)	0,0904	-0,3015
miR-30a-5p (Nº 66)	0,077	-0,2568
miRs-132 (Nº 121)	0,0654	-0,2179
miR-181b-1 (Nº 210)	0,0576	-0,1918

miR-152 prec (Nº 151)	-0,0477	0,1591
miR-23b (Nº 51)	0,0469	-0,1562
miR-20a (Nº 46)	0,0452	-0,1507
miRs-222 (Nº 225)	0,0416	-0,1385
miR-21a (Nº 59)	0,0405	-0,1351
miRs-92-1 (Nº 81)	0,0332	-0,1106
miRs-21 (Nº 47)	0,0288	-0,0959
miR-129-112 prec (Nº 118)	0,0282	-0,0939
miR-150 (Nº 148)	0,0173	-0,0578
miR-32 (Nº 75)	0,0167	-0,0558
miR-106a (Nº 99)	0,0142	-0,0473
miR-29b-1 (Nº 64)	0,0084	-0,028

* 57 miR seleccionados, error de clasificación equivocada después de validación cruzada de 0,02. Cincuenta y siete miR se sobreexpresan y 2 se regulan negativamente en cáncer (indicado por puntuaciones positivas y negativas, respectivamente).

Tabla 12. MicroARN seleccionados por análisis de predicción de microserie (PAM) en cáncer de próstata (cáncer frente a tejidos normales)*.

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
let-7d (Nº 8)	0,0528	-0,4227
miR-128a prec (Nº 113)	-0,0412	0,3298
miR-195 (Nº 184)	0,04	-0,3199
miR-203 (Nº 197)	0,0356	-0,2851
let-7a-2 prec (Nº 2)	-0,0313	0,2504
miR-34a (Nº 78)	0,0303	-0,2428
miR-20a (Nº 46)	0,029	-0,2319
miR-218-2 (Nº 221)	-0,0252	0,2018
miR-29a (Nº 62)	0,0247	-0,1978
miR-25 (Nº 55)	0,0233	-0,1861
miR-95 (Nº 84)	0,0233	-0,1861
miR-197 (Nº 189)	0,0198	-0,1587
miR-135-2 (Nº 128)	0,0198	-0,1582
miR-187 (Nº 173)	0,0192	-0,1535
miR-196-1 (Nº 185)	0,0176	-0,1411
miR-148 (Nº 146)	0,0175	-0,1401
miR-191 (Nº 177)	0,017	-0,136
miR-21 (Nº 47)	0,0169	-0,1351
let-7i (Nº 10)	0,0163	-0,1303
miR-198 (Nº 190)	0,0145	-0,1161
miR-199a-2 (Nº 192)	0,0136	-0,1088
miR-30c (Nº 70)	0,0133	-0,1062
miR-11-5p (Nº 41)	0,0132	-0,1053
miR-92-2 (Nº 82)	0,012	-0,0961
miR-146 (Nº 144)	0,0113	-0,0908
miR-181b-1 prec (Nº 211)	0,011	-0,0878
miR-32 (Nº 75)	0,0109	-0,0873
miR-206 (Nº 202)	0,0104	-0,083
miR-184 prec (Nº 169)	0,0096	-0,0764
miR-29a prec (Nº 63)	-0,0095	0,076
miR-29b-2 (Nº 95)	0,0092	-0,0739
miR-149 (Nº 147)	-0,0084	0,0676
miR-181b-1 (Nº 210)	0,0049	-0,0392
miR-196-1 prec (Nº 186)	0,0042	-0,0335

miR-93-1 (N° 83)	0,0039	-0,0312
miR-223 (N° 227)	0,0038	-0,0308
miR-16-1 (N° 38)	0,0028	-0,0226
miR-101-1 prec (N° 92)	0,0015	-0,0123
miR-124a-1 (N° 104)	0,0015	-0,0119
miR-26a-1 (N° 56)	0,0015	-0,0119
miR-214 (N° 212)	0,0013	-0,0105
miR-27a (N° 59)	0,0011	-0,0091
miR-24-1 (N° 53)	-8,00E-04	0,0067
miR-106a (N° 99)	7,00E-04	-0,0057
miR-199a-1 (N° 191)	4,00E-04	-0,0029

* - T=1, 45 miR seleccionados, error de clasificación equivocada después de validación cruzada de 0,11. Treinta y nueve miR sobreexpresados en cáncer se indican por puntuaciones de cáncer positivas; 6 miR regulados negativamente se indican por puntuaciones de cáncer negativas.

Tabla 13. MicroARN seleccionados por análisis de predicción de microserie (PAM) en cáncer de estómago (cáncer frente a tejidos normales)*.

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-223 (N° 227)	0,1896	-0,1806
miR-21 (N° 47)	0,1872	-0,1783
miR-218-2 (N° 221)	-0,1552	0,1478
miR-103-2 (N° 96)	0,1206	-0,1148
miR-92-2 (N° 82)	0,1142	-0,1088
miR-25 (N° 55)	0,1097	-0,1045
miR-136 (N° 130)	-0,1097	0,1045
miR-191 (N° 177)	0,0946	-0,0901
miR-221 (N° 224)	0,0919	-0,0876
miR-125b-2 (N° 111)	0,0913	-0,0869
miR-103-1 (N° 97)	0,0837	-0,0797
miR-214 (N° 212)	0,0749	-0,0713
miR-222 (N° 225)	0,0749	-0,0713
miR-212 prec (N° 209)	-0,054	0,0514
miR-125b-1 (N° 109)	0,0528	-0,0503
miR-100 (N° 91)	0,0526	-0,0501
miR-107 (N° 100)	0,0388	-0,0369
miR-92-1 (N° 81)	0,0369	-0,0351
miR-96 (N° 86)	-0,0306	0,0291
miR-192 (N° 178)	0,0236	-0,0224
miR-23a (N° 50)	0,022	-0,021
miR-215 (N° 213)	0,0204	-0,0194
miR-7-2 (N° 21)	0,0189	-0,018
miR-138-2 (N° 133)	-0,0185	0,0176
miR-24-1 (N° 52)	0,0151	-0,0144
miR-99b (N° 89)	0,0098	-0,0093
miR-33b (N° 76)	-0,0049	0,0046
miR-24-2 (N° 54)	0,0041	-0,0039

* - T=1, 28 miR seleccionados, error de clasificación equivocada después de validación cruzada de 0,19. Veintidós miR sobreexpresados en cáncer se indican por puntuaciones de cáncer positivas; 6 miR regulados negativamente se indican por puntuaciones de cáncer negativas.

Tabla 14. Los microARN compartidos por los distintivos de los 6 cánceres sólidos*.

miR	N	Tipo de Tumor
miR-21	6	Mama Colon Pulmón Páncreas Próstata Estómago
miR-17-5p	5	Mama Colon Pulmón Páncreas Próstata
miR-191	5	Colon Pulmón Páncreas Próstata Estómago
miR-29b-2	4	Mama Colon Páncreas Próstata
miR-223	4	Colon Páncreas Próstata Estómago
miR-128b	3	Colon Pulmón Páncreas
miR-199a-1	3	Pulmón Páncreas Próstata
miR-24-1	3	Colon Páncreas Estómago
miR-24-2	3	Colon Páncreas Estómago
miR-146	3	Mama Páncreas Próstata
miR-155	3	Mama Colon Pulmón
miR-181b-1	3	Mama Páncreas Próstata
miR-20a	3	Colon Páncreas Próstata
miR-107	3	Colon Páncreas Estómago
miR-32	3	Colon Páncreas Próstata
miR-92-2	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-214	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-30c	3	Colon Páncreas Próstata
miR-25	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-221	3	Colon Páncreas Estómago
miR-106a	3	Colon Páncreas Próstata
* - La lista incluye 21 microARN regulados positivamente habitualmente en 3 o más (N) tipos de cánceres sólidos (p valor = $2,5 \times 10^{-3}$).		

5 Para maximizar la concisión, se calcularon los niveles de expresión absolutos medios de los miR desregulados para los 6 pares de cáncer/normal. Usando el nivel de expresión de los miR en el subconjunto exhaustivo, los diferentes tejidos se clasificaron correctamente independientemente de su estado de enfermedad (FIGURA 3).

10 La FIGURA 4 muestra la expresión diferencial de los microARN comunes entre los diferentes tejidos tumorales, en relación con los tejidos normales. El árbol presenta los diferentes tipos de cáncer según el factor de cambio en el subconjunto de miARN. Los tejidos de próstata, colon, estómago y pancreático son más similares entre ellos, mientras que los tejidos de pulmón y de mama se representaron por un distintivo bastante diferente (FIGURA 4). Este árbol claramente muestra qué miARN están asociados con un histotipo de cáncer particular.

15 Sorprendentemente, miR-21, miR-191 y miR-17-5p están significativamente sobreexpresados en todos, o en 5 de 6, de los tipos tumorales que se consideraron. Se indicó que miR-21 estaba sobreexpresado en glioblastoma y que tenía propiedades antiapoptóticas (Chan, J. A., *et al.*, Cancer Res. 65: 6029-6033 (2005)). El cáncer de pulmón comparte una parte de su distintivo con el cáncer de mama y una parte con los otros tumores sólidos, incluyendo miR-17/20/92, los tres de los cuales son miembros del grupo de microARN que coopera activamente con c-Myc para acelerar la linfomagénesis (He, L., *et al.*, Nature 435: 828-833 (2005)). La identificación de estos microARN como sobreexpresados es una excelente confirmación del enfoque de los inventores. Un segundo grupo de miARN que
20 está activado incluye miR-210 y miR-213, junto con miR-155, que ya se había indicado que estaba amplificado en linfomas de células grandes (Eis, P. S., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 3627-3632 (2005)), niños con linfoma de Burkitt (Metzler, M., *et al.*, Genes Chromosomes Cancer 39: 167-169 (2004)) y diversos linfomas de linfocitos B (Kluiver, J., *et al.*, J. Pathol., publicado digitalmente en línea, 22 de julio de 2005). Estos microARN son los únicos regulados positivamente en cáncer de mama y pulmón. miR-218-2 está uniformemente regulado negativamente en
25 cánceres de colon, estómago, próstata y páncreas, pero no en carcinomas de pulmón y mama.

Varias observaciones refuerzan estos resultados. En primer lugar, en el presente estudio, los niveles de expresión tanto del pre-miARN precursor como del miARN maduro se determinaron para la mayoría de los genes. Debe observarse que con la excepción de miR-212 y miR-128a, en todos los otros casos, la región expresada de forma anómala era la correspondiente al producto génico activo. En segundo lugar, como se muestra en la FIGURA 3, la variación de expresión de los miARN en el subconjunto exhaustivo era con frecuencia unívoca (concretamente regulación positiva o negativa) entre los diferentes tipos de cánceres, lo que sugiere un mecanismo común en la tumorigénesis humana. En tercer lugar, los datos de microseries se validaron por hibridación de solución para 12 muestras de mama (miR-125b, miR-145 y miR-21; Iorio, M. V., *et al.*, Cancer Res. 65: 7065-7070 (2005)) y 17 muestras normales y pancreáticas endocrinas (miR-103, miR-155 y miR-204; datos no mostrados), lo que confirma fuertemente la precisión de los datos de microseries.

Ejemplo 3: Identificación de dianas predichas para microARN que están desregulados en tumores sólidos.

Materiales y métodos:

Predicciones de diana de oncogén y supresor de tumores

Se usaron las predicciones de TargetScan más recientes (Abril de 2005) para identificar dianas de microARN potenciales. Estas incluyen esencialmente las dianas de UTR 3' indicadas por Lewis *et al.* (Lewis, B. P., *et al.*, Cell 120: 15-20 (2005)), con algunos cambios que surgen de las definiciones de límite génico actualizadas del mapeo del Buscador de Genoma de UCSC de Abril de 2005 de los ARNm RefSeq para el ensamblaje de genoma humano hg17. Entre las dianas potenciales, se especificaron genes de cáncer conocidos (supresores de tumores y oncogenes) de acuerdo con su identificación en el Censo Génico del Cáncer, al que puede accederse en el sitio de Internet www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/, o como se indica por OMIM en www.ncbi.nlm.nih.gov.

Ensayos in vitro de diana

Para experimentos de indicador de luciferasa, se amplificaron segmentos UTR 3' de Rb1, TGFBR2 y Plag1 que se predice que interactuarán con microARN asociados con cáncer específico por PCR a partir de ADN genómico humano y se insertaron en el vector de control pGL3 (Promega) usando el sitio XbaI inmediatamente cadena abajo del codón de terminación de la luciferasa. La línea celular megacariocítica humana, MEG-01, se cultivó en FBS 10 % en medio RPMI 1640, complementado con aminoácido no esencial 1x y 1 mmol de piruvato sódico a 37 °C en una atmósfera humidificada de CO₂ 5 %. Las células se cotransfectaron en placas de 12 pocillos usando siPORT neoFX (Ambion, Austin, TX), de acuerdo con el protocolo del fabricante, con 0,4 µg del vector indicador de luciferasa de luciérnaga y 0,08 µg del vector de control que contiene luciferasa de Renilla, pRL-TK (Promega). Para cada pocillo, se usaron oligonucleótidos de microARN (Dharmacon Research, Lafayette, CO) y oligonucleótidos antisentido o mezclados (Ambion) a una concentración de 10 nM. Las actividades de luciferasa de luciérnaga y Renilla se midieron consecutivas a las 24 horas después de la transfección usando ensayos de luciferasa dobles (Promega).

Transferencia de Western para RB1

Los niveles de proteína RB1 se cuantificaron usando un anticuerpo anti-RB1 monoclonal de ratón (Santa Cruz, CA) usando procedimientos convencionales para transferencia de Western. La normalización se realizó con anticuerpo anti Actina monoclonal de ratón (Sigma).

Resultados

Es necesario entender la importancia funcional de la desregulación del microARN en cáncer. En tumores sólidos, parece que el acontecimiento de microARN más habitual es la ganancia de expresión, mientras que la pérdida de expresión en cáncer es un acontecimiento más limitado, y más específico de tejido. Los inventores usaron un enfoque consecuente de tres etapas en el siguiente orden: en primer lugar, predicción informática de dianas, después ensayo de luciferasa para la primera validación de dianas relevantes para cáncer y, finalmente, correlación de tumor *ex vivo* entre la expresión del miARN (por microserie) y expresión de proteína diana (por transferencia de Western) para un par de interacción miARN:ARNm específico. Las dianas relevantes para miARN de cáncer podrían ser genes de cáncer recesivos (por ejemplo, supresores de tumores) o dominantes (por ejemplo, oncogenes). Para ensayar la hipótesis de que los microARN que se desregulan en tumores sólidos se dirigen a oncogenes o supresores de tumores conocidos, las dianas predichas para estos miARN se determinaron usando Target-Scan, una base de datos de dianas de microARN de UTR 3' conservadas (Lewis, B. P., *et al.*, Cell 120: 15-20 (2005)). TargetScan contenía 5.121 predicciones para 18 miARN que están desregulados en tumores sólidos, en las 22.402 predicciones totales (26,5 %). Se predijeron ciento quince de 263 (44 %) genes de cáncer bien conocidos como dianas para estos 18 miARN (Tabla 15). Debido a que un alto porcentaje de genes de cáncer son dianas de miR que están desregulados en tumores sólidos, es poco probable que estas predicciones se deban a la casualidad ($P < 0,0001$ en ensayo exacto de Fisher).

Las predicciones informáticas para tres genes de cáncer diferentes, Retinoblastoma (Rb), receptor de TGF-beta-2 (TGFBR2) y gen de adenoma pleiomórfico 1 (PLAG1), se confirmaron experimentalmente por ensayos *in vitro*.

Usando un ensayo de indicador de luciferasa, tres microARN ensayados (miR-106a, miR-20a y miR-26a-1) provocaron una reducción significativa de la traducción de proteínas en relación con los oligoARN de control mezclados en células MEG-01 transfectadas (FIGURA 6). Se descubrió, por ejemplo, que las UTR 3' de retinoblastoma interactuaban funcionalmente con miR-106a. La importancia biológica de esta interacción miARN:ARNm se refuerza por informes previos que muestran que el gen de Rb1 se transcribe de forma normal en cánceres de colon, mientras que diversas fracciones de células no expresan proteína Rb1 (Ali, A.A., *et al.*, FASEB J. 7: 931-937 (1993)). Este hallazgo sugiere la existencia de un mecanismo postranscripcional para regular Rb1 que podría explicarse por sobreexpresión de miR-106a conjunta en carcinoma de colon (FIGURA 4). Además, mir-20a está regulado negativamente en cáncer de mama (FIGURA 4) y la proteína TFGBR2 se expresa en el epitelio de células de cáncer de mama (Buck, M. B., *et al.*, Clin. Cancer Res. 10: 491-498 (2004)). Por el contrario, la sobreexpresión de mir-20a en cáncer de colon puede representar un mecanismo nuevo para regular negativamente TFGBR2, además de inactivación mutacional (Biswas, S., *et al.*, Cancer Res. 64: 687-692 (2004)).

Finalmente, se ensayó un conjunto de muestras de paciente para verificar si la expresión de la proteína RB1 se correlacionaba con la expresión de *miR-106a* (FIGURA 5 y FIGURA 6B). Como se esperaba, en muestras de tumor gástrico, de próstata y de pulmón RB1 estaba regulado negativamente (con respecto al normal emparejado) y se descubrió que *miR-106a* estaba sobreexpresado, mientras que en muestras de tumor de mama, donde *miR-106a* está ligeramente regulado negativamente (FIGURA 5 y FIGURA 6B), RB1 se expresa a niveles ligeramente mayores que en el control normal emparejado.

Estas pruebas experimentales refuerzan la hipótesis de que genes clave del cáncer están regulados por expresión aberrante en miR en cánceres sólidos. Estos datos añaden nuevos ejemplos a la lista de microARN con importantes dianas de genes de cáncer, como se ha mostrado previamente por Johnsson *et al.* (Johnson, S. M., *et al.*, Cell 120: 635-647 (2005)) para la interacción let-7:Ras, O'Donnell *et al.* (O'Donnell, K. A., *et al.*, Nature 435: 839-843 (2005)) para la interacción miR-17-5p:cMyc, y Cimmino *et al.* (Cimmino, A., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 13944-13949 (2005)) para la interacción mir-16:Bcl2. Notablemente, miR-17-5p y miR-16 son miembros del distintivo de cáncer sólido de miARN descrito en la presente memoria.

Tabla 15. Oncogenes y genes supresores de tumores predichos por TargetScanS como dianas de microARN del subconjunto de cáncer exhaustivo.*

Gen de miARN	Nombre del gen	Descripción del gen
miR-26a, miR-146	ABL2	homólogo de oncogén viral de leucemia murina de Abelson v-abl 2 (arg, gen relacionado con Abelson)
miR-107	AF5q31	gen fusionado con ALL1 de 5q31
miR-20, miR-125b	AKT3	homólogo de oncogén viral de timoma murino v-akt 3
miR-26a, miR-155 miR-125b	APC	poliposis adenomatosa de colon
miR-26a, miR-218	ARHGEF12	factor de intercambio de nucleótidos de guanina de RHO (GEF) 12 (LARG)
miR-107, miR-221	ARNT	translocador nuclear de receptores de hidrocarburos de arilo
miR-192	ATF1	factor de transcripción activador 1
miR-26a	ATM	ataxia telangiectasia mutada (incluye grupos de complementación A, C y D)
miR-24	AXL	tirosina quinasa receptora de AXL
miR-26a, miR-107, miR-146,	BCL11A	CLL de linfocitos B/linfoma 11A
miR-155 miR-138, miR-92	BCL11B	CLL de linfocitos B/linfoma 11B (CTIP2)
miR-20	BCL2	CLL de linfocitos B/linfoma 2
miR-21	BCL2	CLL de linfocitos B/linfoma 2
miR-26a, miR-26a miR-20,	BCL6	CLL de linfocitos B/linfoma 6 (proteína de dedo de cinc 51)
miR-92	BCL9	CLL de linfocitos B/linfoma 9
miR-26a, miR-223 miR-221,	CBFB	subunidad beta del factor de unión al núcleo
miR-125b		
miR-218	CCDC6	Dominio superenrollado que contiene 6 ciclinas D1 (PRAD1:adenomatosis paratiroidea 1)
miR-20	CCND1	
miR-26a, miR-20	CCND2	ciclina D2
miR-26a, miR-107, miR-92	CDK6	quinasa dependiente de ciclina 6
miR-20	CDKN1A	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A (p21, Cip1)
miR-221, miR-92	CDKN1C	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1C (p57, Kip2)
miR-24	CDX2	factor de transcripción de caja homeótica de tipo caudal 2
miR-92	CEBPA	CCAAT/proteína de unión potenciadora (C/EBP), alfa
miR-26a	CLTC	clatrina, polipéptido pesado (Hc)
miR-218	COL1A1	colágeno, tipo I, alfa 1
miR-26a	CREBBP	proteína de unión a CREB (CBP)

miR-20	CRK	homólogo del oncogén CT10 del virus del sarcoma aviar v-crk
miR-20	CSF1	factor estimulante de colonias 1(macrófagos)
miR-221, miR-192	DDX6	polipéptido 6 de la caja DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) (helicasa de ARN, 54 kD)
miR-138	DEK	oncogén DEK (unión a ADN)
miR-20	E2F1	factor de transcripción de E2F 1
miR-20	ELK3	ELK3, proteína de dominio ETS (proteína accesoria de SRF 2)
miR-24	ELL	gen de ELL (gen de leucemia rica en lisina 11-19)
miR-26a, miR-138	ERBB4	tipo homólogo de oncogén viral de leucemia eritroblástica aviar v-erb-a 4
miR-221, miR-155, miR-125b	ETS1	homólogo 1 del oncogén E26 de virus de eritroblastosis aviar v-ets
miR-20	ETV1	gen variante de ets 1
miR-125b	ETV6	gen variante de ets 6 (oncogén TEL)
miR-223	FAT	homólogo de supresor de tumores FAT (<i>Drosophila</i>)
miR-223, miR-125b, miR-218	FGFR2	receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 2
miR-92	FLI1	integración de virus de leucemia de Friend 1
miR-24, miR-20	FLT1	tirosina quinasa 1 relacionada con fins (factor de crecimiento endotelial vascular/receptor de factor de permeabilidad vascular)
miR-221	FOS	homólogo del oncogén viral de osteosarcoma murino v-fos FBJ
miR-92	FOXG1B	G1B de caja forkhead
miR-223	FOXO3A	O3A de caja forkhead box
miR-125b	GOLGA5	autoantígeno de golgi, subfamilia a de golgina, 5 (PTC5)
miR-138	GPHN	gefirina (GPH)
miR-107, miR-223, miR-20, miR-218	HLF	factor de leucemia hepática
miR-26a, miR-107	HMGA1	gancho AT de grupo de alta movilidad 1
miR-20	HOXA13	A13 de caja homeótica
miR-92	HOXA9	A9 de caja homeótica
miR-125b	IRF4	factor regulador de interferón 4
miR-146, miR-20, miR-138	JAZF1	yuxtapuesto con otro gen de dedo de cinc 1
miR-92	JUN	homólogo del oncogén 17 del virus de sarcoma aviar v-jun
miR-155	KRAS	homólogo del oncogén viral de sarcoma de rata de Kirsten 2 v-Ki-ras 2
miR-218	LASP1	proteína LIM y SH3 1
miR-218	LHFP	compañero de fusión de HMGIC de lipoma
miR-125b, miR-218	LIFR	receptor de factor inhibidor de leucemia
miR-223	LMO2	dominio de LIM solamente 2 (tipo rombotina 1) (RBTN2)
miR-223, miR-155, miR-125b, miR-92	MAF	homólogo del oncogén de fibrosarcoma musculoponeurótico (aviar v-maf)
miR-92	MAP2K4	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 4
miR-146, miR-20	MAP3K8	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 8
miR-125b	MAX	proteína MAX
miR-218	MCC	mutada en cánceres colorrectales
miR-24	MEN1	neoplasia endocrina múltiple I
miR-138	MLLT6	leucemia mieloidel/linfoides o de linaje mixto (homólogo de trithorax, <i>Drosophila</i>) translocado a 6 (AF17)
miR-192	MSN	moesina
miR-24	MYB	homólogo del oncogén viral de mieloblastosis aviar v-myb
miR-107, miR-223, miR-146, miR-221, miR-155, miR-218	MYBL1	tipo homólogo de oncogén viral de mieloblastosis aviar v-myb 1
miR-107, miR-20	MYCN	derivado de neuroblastoma de oncogén relacionado con virus de mielocistomatosis aviar v-myc
miR-107, miR-92	MYH9	miosina, polipéptido pesado 9, no muscular
miR-24	MYST4	histona acetiltransferasa MYST (leucemia monocítica) 4 (MORF)
miR-20	NBL1	neuroblastoma, supresión de tumorogenicidad 1
miR-125b	NIN	nineína (proteína que interacciona con GSK3B)
miR-26a, miR-107	NKTR	secuencia de reconocimiento de tumor de citolítica natural

miR-92	NOTCH1	homólogo de Notch 1, asociado a translocación (<i>Drosophila</i>) (TAN1)
miR-24	NTRK3	tirosina quinasa neurotrófica, receptor, tipo 3
miR-125b	PCSK7	subtilisina de proproteína convertasa/quexina tipo 7
miR-24, miR-146	PER1	homólogo de periodo 1 (<i>Drosophila</i>)
miR-146, miR-125b, miR-138, miR-155	PHOX2B PICALM	homeocaja de tipo emparejado 2b proteína de ensamblaje de clatrina de unión a fosfatidilinositol (CALM)
miR-24, miR-26a	PIM1	oncogén pim-1
miR-24, miR-26a, miR-21, miR-107, miR-20, miR-155	PLAG1	gen de adenoma pleiomórfico 1
miR-218	RAB8A	RAB8A, miembro de la familia de oncogén RAS
miR-24, miR-221	RALA	homólogo A del oncogén viral de leucemia de simio v-ral (relacionado con ras)
miR-138	RARA	receptor de ácido retinoico, alfa
miR-20, miR-192	RB1	retinoblastoma 1 (incluyendo osteosarcoma)
miR-20,	RBL1	tipo retinoblastoma 1 (p107)
miR-20,	RBL2	tipo retinoblastoma 2 (p130)
miR-155, miR-138	REL	homólogo de oncogén viral de reticuloendoteliosis aviar v-rel
miR-20, miR-138	RHOC	familia del gen homólogo de ras, miembro C
miR-20, miR-192	RUNX1	factor de transcripción relacionado con runt 1 (AML1)
miR-107, miR-223	SEPT6	septina 6
miR-146, miR-20, miR-125b	SET	translocación de SET
miR-21, miR-20, miR-155, miR-218	SKI	homólogo de oncogén viral de sarcoma aviar v-ski
miR-26a, miR-146	SMAD4	SMAD, homólogo 4 de madres contra DPP (<i>Drosophila</i>)
miR-155	SPI1	oncogén de integración proviral de virus formador de focos de bazo (SFFV) spi1
miR-125b	SS18	translocación de sarcoma sinovial, cromosoma 18
miR-107, miR-155	SUFU	supresor de homólogo fusionado (<i>Drosophila</i>)
miR-92	TAF15	ARN polimerasa II TAF15, factor asociado a proteína de unión a caja TATA (TBP), 68 kDa
miR-26a, miR-221, miR-138	TCF12	factor de transcripción 12 (HTF4, factores de transcripción de hélice-bucle-hélice 4)
miR-21, miR-20	TGFBR2	factor de crecimiento transformante, receptor beta II (70-80 kD)
miR-24, miR-26a, miR-92	TOP1	topoisomerasa (ADN) I
miR-138	TPM4	tropomiosina 4
miR-120	TRIP11	factor de interacción con el receptor de hormona tiroidea 11
miR-92	TSC1	esclerosis tuberosa 1
miR-20	TSG101	gen de susceptibilidad tumoral 101
miR-20	TUSC2	candidato supresor de tumores 2
miR-24	VAV1	oncogén vav 1
miR-125b	VAV2	oncogén vav 2
miR-107	WHSC1	candidato de síndrome de Wolf-Hirschhorn 1 (MMSET)
miR-138	WHSC1L1	tipo candidato 1 de síndrome de Wolf-Hirschhorn 1 (NSD3)
miR-26a	WNT5A	familia del sitio de integración de MNDTV de tipo wingless, miembro 5A
miR-26a, miR-20, miR-125b	YES1	homólogo del oncogén viral de sarcoma de Yamaguchi 1 v-yes-1
miR-107, miR-221	ZNF198	proteína de dedo de cinc 198
miR-218	ZNFN1A1	proteína de dedo de cinc, subfamilia 1A, 1 (Ikaros)

* - Los genes de cáncer conocidos (por ejemplo, supresores de tumores, oncogenes) comprenden los identificados en el Censo de Genes de Cáncer en www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census o presentados por OMIM en www.ncbi.nlm.nih.gov.

Aunque la presente invención se ha mostrado particularmente y se ha descrito con referencia a realizaciones preferidas de la misma, se entenderá por los expertos en la materia que pueden realizarse diversos cambios en la forma y detalles de la misma sin alejarse de la invención abarcada por las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> CROCE, CARLO M.
CALIN, GEORGE A.
VOLINIA, STEFANO

<120> MÉTODOS BASADOS EN MICRO ARN Y COMPOSICIONES PARA EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE CÁNCERES SÓLIDOS

10 <130> 1-28349

<140> 12/160.061
<141> 03-01-2008

15 <150> PCT/US07/000159
<151> 03-01-2007

20 <150> 60/756.585
<151> 05-01-2006

<160> 498

<170> PatentIn versión 3.5

25 <210> 1
<211> 90
<212> ARN
<213> Homo sapiens

30 <400> 1

cacuguggga ugagguagua gguuguauag uuuuaggguc acaccaccca cugggagaua 60

acuauacaau cuacugucuu uccuaacgug 90

35 <210> 2
<211> 72
<212> ARN
<213> Homo sapiens

40 <400> 2

agguugaggu aguagguugu auaguuuaga auuacauca gggagauaac uguacagccu 60

ccuagcuuuc cu 72

45 <210> 3
<211> 74
<212> ARN
<213> Homo sapiens

<400> 3

gggugaggua guagguugua uaguuuuggg cucugcccug cuaugggaua acuauacaau 60

50 **cuacugucuu uccu 74**

55 <210> 4
<211> 107
<212> ARN
<213> Homo sapiens

<400> 4

ES 2 465 600 T3

	gugacugcau gcucccaggu ugagguagua gguuguaug uuuagaaua cacaagggag	60
	auaacuguac agccuccuag cuuuccuugg gucuugcacu aaacaac	107
5	<210> 5 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 5	
	ggcgggguga gguaguaggu ugugugguuu cagggcagug auguugcccc ucggaagaua	60
10	acuauacaac cuacugccuu cccug	85
15	<210> 6 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 6	
	gcauccgggu ugagguagua gguuguaugg uuuagaguua caccugggga guuaacugua	60
20	caaccuucua gcuuuccuug gagg	84
25	<210> 7 <211> 87 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 7	
	ccuaggaaga gguaguaggu ugcauaguuu uagggcaggg auuuugccca caaggaggua	60
30	acuauacgac cugcugccuu ucuuagg	87
35	<210> 8 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 8	
	cuaggaagag guaguaguuu gcauaguuu agggcaaaga uuuugccac aaguaguug	60
40	cuauacgacc ugcagccuu uguag	85
45	<210> 9 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 9	
	cuggcugagg uaguaguug ugcuugguu cggguuguga cauugcccg uguggagaua	60
50	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
	<210> 10 <211> 79 <212> ARN	

ES 2 465 600 T3

	<213> Homo sapiens		
	<400> 10		
	ccccgggcuga gguaggaggu uguauaguug agggaggacac ccaaggagau cacuauacgg	60	
5	ccuccuagcu uccccagg	79	
	<210> 11		
	<211> 87		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 11		
	ucagagugag guaguagauu guauaguugu gggguaguga uuuuaccug uucaggagau	60	
15	aacuauacaa ucuauugccu ucccuga	87	
	<210> 12		
	<211> 89		
20	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 12		
	cugugggaug agguaguaga uuguauaguu guggguagu ganuuuacc uguucaggag	60	
	auaacuauac aaucuauugc cucccuga	89	
25	<210> 13		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 13		
	cugugggaug agguaguaga uuguauaguu uuagggucau accccaucuu ggagauaacu	60	
	auacagucua cugucuucc cacgg	85	
35	<210> 14		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 14		
	uugccugauu ccaggcugag guaguaguuu guacaguug agggucuaug auaccacccg	60	
	guacaggaga uaacuguaca ggccacugcc uugccaggaa cagcgcgc	108	
45	<210> 15		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 15		

	cuggcugagg uaguaguug ugcuguuggu cggguuguga caugccccgc uguggagaua	60
	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
5	<210> 16 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 16	
	accuacucag aguacauacu ucuuuuugua cccauaugaa cauacaaugc uauggaaugu	60
10	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85
15	<210> 17 <211> 108 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 17	
	cagcuaacaa cuuaguaa ccuacucaga guacauacuu cuuuuanguac ccuauugaac	60
20	auacaaugcu auggaaugua aagaaguang uauuuuuggu aggcaua	108
25	<210> 18 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 18	
	gccugcuugg gaaacauacu ucuuuauaug cccauaugga ccugcuaagc uauggaaugu	60
30	aaagaaguau guaucucagg ccggg	85
35	<210> 19 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 19	
	ugggaaacau acuucuuuau augcccauau ggaccugcua agcuauaggaa uguaaagaag	60
40	uauguaucuc a	71
45	<210> 20 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 20	
	accuacucag aguacauacu ucuuuuugua cccauaugaa cauacaaugc uauggaaugu	60
50	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85
	<210> 21 <211> 108 <212> ARN	

ES 2 465 600 T3

	<213> Homo sapiens		
	<400> 21		
	uggauguugg ccuaguucug uguggaagac uagugauuuu guuguuuuu gauaacuaaa	60	
5	ucgacaacaa aucacagucu gccauauggc acaggccaug ccucuaca	108	
	<210> 22		
	<211> 110		
	<212> ARN		
10	<213> Homo sapiens		
	<400> 22		
	uggauguug gccuaguucu guguggaaga cuagugauuu uguuguuuu agauaacuaa	60	
15	aucgacaaca aaucacaguc ugccaauugg cacaggccaug gccucuacag	110	
	<210> 23		
	<211> 110		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 23		
	cuggauacag aguggaccgg cuggccccaug cuggaagacu agugauuuug uguugucuu	60	
	acugcgcuca acaacaaauc ccagucuaac uaauggugcc agccaucgca	110	
25	<210> 24		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 24		
	agauuagagu ggcugugguc uagugcugug uggaagacua gugauuuugu uguucugaug	60	
	uacuacgaca acaagucaca gccggccuca uagcgcagac ucccuucgac	110	
35	<210> 25		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 25		
	cgggguuggu uguuauuuu gguuauucag cuguaugagu gguguggagu cuucaaaaag	60	
	cuagauaacc gaaaguaaaa auaaccca	89	
45	<210> 26		
	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 26		
	ggaagcgagu uguuauuuu gguuauucag cuguaugagu guauuggucu ucauaaagcu	60	
50	agauaaccga aaguaaaaac uccuua	87	

ES 2 465 600 T3

	<210> 27		
	<211> 90		
	<212> ARN		
5	<213> Homo sapiens		
	<400> 27		
	ggaggcccgu uucucucuuu gguuaucuag cuguangagu gccacagagc cgucauaaag	60	
	cuagauaacc gaaaguagaa augauucuca	90	
10	<210> 28		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
15	<400> 28		
	gaucugucug ucuucuguan auaccugua gaucogaauu uguguaagga auuuuguggu	60	
	cacaaaucg uaucuagggg aauauguagu ugacauaaac acuccgcucu	110	
20	<210> 29		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
25	<400> 29		
	ccagagguug uaacguuguc uauauauacc cuguagaacc gaauuugugu gguauccgua	60	
	uagucacaga uucgauucua ggggaauuaa uggucgaugc aaaaacuca	110	
30	<210> 30		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
35	<400> 30		
	gcgcgaaugu guguuuuaaa aaaauaaac cuuggaguaa aguagcagca cauaugguu	60	
	uguggauuuu gaaaaggugc aggccauuuu gugcugccuc aaaaauac	108	
40	<210> 31		
	<211> 83		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 31		
	ccuuggagua aaguagcagc acuaauggu uuguggauuu ugaaaaggug caggccauau	60	
45	ugugcugccu caaaaauaca agg	83	
50	<210> 32		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 32		

	cuguagcagc	acaucauggu uuacaugcua cagucaagau gcgaaucauu auuugcugcu	60
	cuag		64
5	<210> 33 <211> 98 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 33		
	uugaggccuu aaaguacugu agcagcacau caugguuuac augcuacagu caagaugcga		60
10	aucuuuuuu gcugcucuag aaauuuagg aaauucau		98
15	<210> 34 <211> 89 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 34		
	gucagcagug ccuuagcagc acguaaaau uggcguaaag auucuaaaa uaucuccagu		60
20	auuaacugug cugcugaagu aagguugac		89
25	<210> 35 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 35		
	guuccacucu agcagcacgu aaauauuggc guagugaaau auauuuuuu caccauuuu		60
30	acugugcugc uuuaguguga c		81
35	<210> 36 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 36		
	gcagugccuu agcagcacgu aaauauuggc guuaagauuc uaaaauuuuc uccaguauuu		60
40	acugugcugc ugaaguaagg u		81
45	<210> 37 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 37		
	gucagaauaa ugucaaagug cuuacagugc agguagugau augugcaucu acugcaguga		60
50	aggcacuugu agcauuuagg ugac		84
	<210> 38 <211> 71 <212> ARN		

ES 2 465 600 T3

	<213> Homo sapiens		
	<400> 38		
	uguucuaagg ugcaucuagu gcagauagug aguagauua gcaucuacug ccuaagugc	60	
5	uccuucuggc a	71	
	<210> 39		
	<211> 81		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 39		
	uuuuuguucu aaggugcauc uagugcagau agugaaguag auuagcaucu acugccuaa	60	
15	gugcuccuuc uggcauaaga a	81	
	<210> 40		
	<211> 82		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 40		
	gcaguccucu guuaguuug cauaguugca cuacaagaag aauguaguug ugcaaaucua	60	
	ugcaaaacug augguggccu gc	82	
25	<210> 41		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 41		
	caguccucug uuaguuuugc auaguugcac uacaagaaga auguaguugu gcaaaucua	60	
	gcaaaacuga ugguggccug	80	
35	<210> 42		
	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 42		
	cacuguucua ugguuaguuu ugcagguuug cauccagcug ugugauuuu ucugugcaa	60	
	auccaugcaa aacugacugu gguagug	87	
45	<210> 43		
	<211> 96		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 43		
	acaauugcuac uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcguauuuu guauaugugg	60	
50	cugugcaau ccaugcaaaa cugauuguga uaaugu	96	

ES 2 465 600 T3

	<210> 44		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 44		
	uucuaugguu aguuuugcag guuugcaucc agcuguguga uauucugcug ugcaaaucca	60	
	ugcaaaaacug acugugguag	80	
10	<210> 45		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
15	<400> 45		
	uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcguauauau guauaugugg cugugcaaa	60	
	ccaugcaaaa cugauuguga u	81	
20	<210> 46		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
25	<400> 46		
	guagcacuaa agugcuuaua gugcagguag uguuuaguua ucuacugcau uaugagcacu	60	
	uaaaguacug c	71	
30	<210> 47		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 47		
	ugucggguag cuuauacagac ugauguugac uguugaauca cauggcaaca ccagucgauc	60	
35	ggcugucuga ca	72	
40	<210> 48		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 48		
	accuugucgg guagcuuauc agacugaugu ugacuguuga aucucauggc aacaccaguc	60	
	gaugggcugu cugacauuuu g	81	
45	<210> 49		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
50	<400> 49		

ES 2 465 600 T3

	ggcugagccg caguaguucu ucaguggcaa gcuuuauguc cugacccagc uaaagcugcc	60
	aguugaagaa cuguugcccu cugcc	85
5	<210> 50 <211> 73 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 50	
	ggccggcugg gguuccuggg gaugggauuu gcuuccuguc acaaaucaca uugccagggg	60
10	uuuccaaccg acc	73
15	<210> 51 <211> 97 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 51	
	cucaggugcu cuggcugcuu ggguuccugg caugcugauu ugugacuuaa gauuzaaac	60
20	acaaugccag ggauuaccac gcaaccacga ccuuggc	97
25	<210> 52 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 52	
	ccacggccgg cuggggguucc uggggauggg auuugcuucc ugucacaaau cacauugcca	60
	gggauuucca accgaccug a	81
30	<210> 53 <211> 68 <212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 53	
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuaca cacuggcuca guucagcagg	60
	aacaggag	68
40	<210> 54 <211> 73 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 54	
	cucugccucc cgugccuacu gagcugaaac acaguugguu uguguacacu ggcucaguuc	60
	agcaggaaaca ggg	73
	<210> 55	

ES 2 465 600 T3

	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 55		
	cccuggggcuc ugccucccggu gccuacugag cugaaacaca guugguuugu guacacuggc	60	
	ucaguucagc aggaacaggg g	81	
	<210> 56		
	<211> 71		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 56		
	cccuccggug ccuacugagc ugauaucagu ucucauuua cacacuggcu caguucagca	60	
15	ggaacagcau c	71	
	<210> 57		
	<211> 84		
20	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 57		
	ggccaguguu gagaggcga gacuuggga auugcuggac gcugcccugg gcauugcacu	60	
25	ugucucgguc ugacagugcc ggcc	84	
	<210> 58		
	<211> 86		
	<212> ARN		
30	<213> Homo sapiens		
	<400> 58		
	aggccguggc cucguucaag uauccagga uaggcugugc aggucccau ggccuauuu	60	
	gguaacuugc acggggacgc gggccu	86	
35	<210> 59		
	<211> 77		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 59		
	guggccucgu ucaaguaauc caggauaggc ugugcagguc ccaaugggcc uauucuuggu	60	
	uacuugcacg gggacgc	77	
	<210> 60		
45	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 60		
50			

	ggcugugggcu ggauucaagu aauccaggau aggcuguuuc caucugugag gccuauucuu	60
	gauuacuugu uucuggaggc agcu	84
5	<210> 61 <211> 77 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 61	
	ccgggaccca guucaaguaa uucaggauag guugugugcu guccagccug uucuccauua	60
10	cuuggcucgg ggaccgg	77
15	<210> 62 <211> 78 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 62	
	cugaggagca gggcuuagcu gcuugugagc aggguccaca ccaagucgug uucacagugg	60
20	cuaaguuccg cccccag	78
25	<210> 63 <211> 73 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 63	
	aggugcagag cuuagcugau uggugaacag ugauugguuu ccgcuuuguu cacaguggcu	60
30	aaguucugca ccu	73
35	<210> 64 <211> 97 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 64	
	accucucuaa caaggugcag agcuuagcug auuggugaac agugauuggu uuccgcuuug	60
	uucacagugg cuaaguucug caccugaaga gaaggug	97
40	<210> 65 <211> 80 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 65	
45	ccugaggagc agggcuuagc ugcuuugugag caggguccac accaagucgu guucacagug	60
	gcuaaguucc gccccccagg	80
	<210> 66 <211> 86	

ES 2 465 600 T3

	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 66		
5		gguccuugcc cucaaggagc ucacagucua uugaguuacc uuucugacuu ucccacuaga	60
		uugugagcuc cuggagggca ggcacu	86
	<210> 67		
	<211> 108		
	<212> ARN		
10	<213> Homo sapiens		
	<400> 67		
		ccuucuguga ccccuagag gaugacugau uucuuuuggu guucagaguc aauauuuuu	60
		ucuagcacca ucugaaaucg guuauaauga uuggggaaga gcaccaug	108
15			
	<210> 68		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
20			
	<400> 68		
		augacugauu uucuuuugug uucagaguca auauuuuuu cuagcaccou cugaaaucgg	60
		uuau	64
25			
	<210> 69		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30			
	<400> 69		
		cuucaggaag cugguuucou auggugguuu agauuuuuu agugauuguc uagcaccou	60
		ugaaaucagu guucuuuggg g	81
35			
	<210> 70		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 70		
40			
		cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaccou	60
		uugaaaucag uguuuuagga g	81
45			
	<210> 71		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 71		
		accacuggcc caucucuuc acaggcugac cgauuuucc ugguguucag agucuguuuu	60
50			
		ugucuagcac cauugaaau cgguuauugau guagggggaa aagcagcagc	110

ES 2 465 600 T3

	<210> 72		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 72		
	gcgacuguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gaugggcuuu cagucggaug	60	
	uuugcagcug c	71	
10	<210> 73		
	<211> 60		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
15	<400> 73		
	auguaaaca ccaacacuca gcguaaauac auggauuggc uggaggugg auguuacgu	60	
	<210> 74		
	<211> 88		
20	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 74		
	accaaguuc aguucaugua aacauccuac acucagcugu aaucaugga uggcuggga	60	
	gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88	
25			
	<210> 75		
	<211> 72		
	<212> ARN		
30	<213> Homo sapiens		
	<400> 75		
	agauacugua aacauccuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug	60	
	uuuacucuuu cu	72	
35			
	<210> 76		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 76		
	guuguuguaa acauccccga cuggaagcug uaagacacag cuaagcuuuc agucagaugu	60	
	uugcugcuac	70	
45			
	<210> 77		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
50	<400> 77		
	cuguaaaca ccaugacugg aagcuguaag guguucagag gagcuuucag ucggauguuu	60	
	acag	64	

ES 2 465 600 T3

	<210> 78		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 78		
	ggagaggagg caagaucug gcauagcugu ugaacuggga accugcuug ccaacauuu	60	
	gccaucuuuc c	71	
10	<210> 79		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
15	<400> 79		
	ggagauauug cacauuacua aguugcaugu ugucacggcc ucaaugcaau uuagugugug	60	
	ugauuuuuuc	70	
20	<210> 80		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
25	<400> 80		
	ggggggccgag agagggcgggc ggccccgcgg ugcauugcug uugcauugca cgugugugag	60	
	gcgggugcag ugccucggca gugcagccc gagccggccc cuggcaccac	110	
30	<210> 81		
	<211> 88		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 81		
	accaaguuuu aguucaugua aacauccuac acucagcugu aauacaugga uuggcuggga	60	
35	gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88	
40	<210> 82		
	<211> 69		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 82		
	cuguggugca uuguaguugc auugcauguu cuggugguac ccaugcaaug uuuccacagu	60	
45	gcaucacag	69	
50	<210> 83		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 83		

	ggccagcugu gaguguuucu uggcagugu cuuagcuggu uguugugagc aauaguaagg	60
	aagcaaucag caaguauacu gcccuagaag ugcugcacgu uguggggcc	110
5	<210> 84 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 84	
	gugcucgguu uguaggcagu gucauuagcu gauuguacug uggugguuac aaucacuaac	60
10	uccacugcca ucaaaacaag gcac	84
15	<210> 85 <211> 77 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 85	
	agucuaguuu cuaggcagug uaguuaugcug auugcuaaua guaccaauca cuaaccacac	60
20	ggccagguaa aaagauu	77
25	<210> 86 <211> 82 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 86	
	ucagaauaau gucaaagugc uuacagugca gguagugaua ugugcaucua cugcagugaa	60
30	ggcacuugua gcauuauugu ga	82
35	<210> 87 <211> 78 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 87	
	cuuucuacac agguugggau cggugcaau gcuguguuuc uguauuguuu ugcacuuguc	60
40	ccggccuguu gaguuugg	78
45	<210> 88 <211> 75 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 88	
	ucauuccugg guggggauuu guugcauuac uuguguucua uauaaaguuu ugcacuuguc	60
	ccggccugug gaaga	75
	<210> 89 <211> 80	

ES 2 465 600 T3

	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 89		
5		cuggggggcuc caaagugcug uucgugcagg uagugugauu acccaaccua cugcugagcu	60
		agcacuuccc gagcccccg	80
	<210> 90		
	<211> 81		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 90		
		aacacagugg gcacucaua aaugucuguu gaauugaaau gcguacauu caacggguau	60
15		uuauugagca cccacucugu g	81
	<210> 91		
	<211> 78		
20	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 91		
		uggccgauuu uggcacuagc acauuuuugc uugugucucu ccgcucugag caaucaugug	60
25		cagugccaau augggaaa	78
	<210> 92		
	<211> 80		
30	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 92		
		gugagcgacu guaaacaucc ucgacuggaa gcugugaagc cacagauggg cuuucagucg	60
		gauuuugca gcugccuacu	80
35	<210> 93		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 93		
		gugagguagu aaguuguaau guuguggggu agggauauua ggccccaaau agaagauaac	60
		uauacaacuu acuacuucc	80
	<210> 94		
45	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 94		
50			

ES 2 465 600 T3

	ggcaccacc cguagaaccg accuugcggg gccuucgccg cacacaagcu cgugucugug	60
	gguccguguc	70
5	<210> 95 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 95	
	ccc<u>au</u>ggca uaa<u>acc</u>gua gau<u>cc</u>gaucu ugug<u>g</u>ugaag ugg<u>acc</u>gcac aagcuc<u>gc</u>uu	60
10	cua<u>gg</u>gucu gugucagugu g	81
15	<210> 96 <211> 108 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 96	
	aagagagaag auauugaggc cuguugccac aa<u>acc</u>guag auccga<u>acu</u> gugguauuag	60
20	uccgcacaag cuuguaucua uagguaugug ucuguuaggc aaucucac	108
25	<210> 97 <211> 80 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 97	
	cc<u>u</u>guugcca caa<u>acc</u>gua gau<u>cc</u>gaacu ugug<u>g</u>ua<u>uu</u>a guccgcacaa gc<u>u</u>gu<u>au</u>cu	60
30	auag<u>g</u>uaug<u>u</u> guc<u>u</u>uuag<u>g</u>	80
35	<210> 98 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 98	
	aggcugcc<u>cu</u> ggcucag<u>ua</u>a ucacagug<u>cu</u> gaugcug<u>u</u>cu auucuaaag<u>g</u> uacaguac<u>ug</u>	60
40	ugaua<u>acu</u>ga aggauggcag ccauc<u>uu</u>acc uu<u>cc</u>aucaga ggagccucac	110
45	<210> 99 <211> 57 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 99	
	ucagu <u>au</u> ca cagugcugau gcugucc <u>au</u> cuaaagguac aguacuguga uacuga 57	
50	<210> 100 <211> 75 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 100	

	ugcccuggcu caguuaucac agugcugaug cugucuauc uaaagguaca guacugugau	60
	aacugaagga uggca	75
5	<210> 101 <211> 79 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 101	
	acuguccuuu uucgguauc augguaccga ugcuguaau cugaaaggua caguacugug	60
10	auaacugaag aaugguggu	79
15	<210> 102 <211> 75 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 102	
	uguccuuuuu cgguaucac gguaccgaug cuguaucuc gaaagguaca guacugugau	60
20	aacugaagaa uggug	75
25	<210> 103 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 103	
	cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaccuu	60
30	uugaaaucag uguuuuagga g	81
35	<210> 104 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 104	
	cuucaggaag cugguuucac auggugguuu agauuuuau agugauuguc uagcaccuu	60
40	ugaaaucagu guucuuuggg g	81
45	<210> 105 <211> 78 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 105	
	uugugcuuc agcuucuuu cagugcugcc uuguagcauu caggucaagc aacauuguac	60
	agggcuauca aagaacca	78
	<210> 106 <211> 78	

ES 2 465 600 T3

	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 106		
5		uacugcccuc ggcuuuuua cagugcugcc uuguugcaua uggaucaagc agcauuguac	60
		agggcuauga aggcauug	78
	<210> 107		
	<211> 78		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 107		
		aaaugucaga cagcccaucg acugguguug ccaugagauu caacagucaa caucagucug	60
15		auaagcuacc cgacaagg	78
	<210> 108		
	<211> 81		
20	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 108		
		ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cucaugcacc acggauguuu	60
25		gagcaugugc uacggugucu a	81
	<210> 109		
	<211> 81		
30	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 109		
		ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cuuauugcacc acggauguuu	60
35		gagcaugugc uauugugucu a	81
	<210> 110		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 110		
		ccuuggccau guaaaagugc uuacagugca gguagcuuuu ugagaucuac ugcaauguaa	60
		gcacuucuua cauuaaccaug g	81
	<210> 111		
45	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 111		
50			

ES 2 465 600 T3

	ccugccgggg cuaaagugcu gacagugcag auaguggucc ucuccgugcu accgcacugu	60
	ggguacuugc ugcuccagca gg	82
5	<210> 112 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 112	
	cucucugcuu ucagcuucuu uacaguguuug ccuuguggca uggaguucuaa gcagcauugu	60
10	acagggcuau caaagcacag a	81
15	<210> 113 <211> 90 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 113	
	acacugcaag aacaauaagg auuuuuaggg gcauuugac ugagucagaa aacacagcug	60
20	ccccugaaag ucccucuuuu uucuuugcugu	90
25	<210> 114 <211> 80 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 114	
	acugcaagag caauaaggau uuuuaggggc auuauugauag uggaauggaa acacaucugc	60
30	ccccaaaagu cccucuuuuu	80
35	<210> 115 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 115	
	ccuuagcaga gcuguggagu gugacaaugg uguuuguguc uaaacuauca aacgccauua	60
40	ucacacuaaa uagcuacugc uaggc	85
	<210> 116 <211> 66 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 116	
	agcuguggag ugugacaauug guguuugugu ccaaacuauc aaacgccauu aucacacuaa	60
50	auagcu	66
	<210> 117 <211> 61 <212> ARN	

ES 2 465 600 T3

	<213> Homo sapiens		
	<400> 117		
	acaauuuuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uauaaugcg	60	
5	c	61	
	<210> 118		
	<211> 85		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 118		
	aggccucucu cuccguguuc acagcggacc uugauuuuaa uguccauaca auuaaggcac	60	
	gcggugaaug ccaagaagg ggcug	85	
15			
	<210> 119		
	<211> 110		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 119		
	aucaagauua gaggcucugc ucuccguguu cacagcggac cuugauuuua ugucauacaa	60	
	uuaggcacg cggugaaugc caagagcggg gccuacggcu gcacuugaag	110	
25			
	<210> 120		
	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 120		
	ugagggcccc ucugcguguu cacagcggac cuugauuuua ugucauacaa auuaaggcac	60	
	gcggugaaug ccaagagagg cgcucc	87	
35			
	<210> 121		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 121		
	cucugcgugu ucacagcggg ccuugauuuua augucuauac auuaaggca cgcggugaau	60	
	gccaaagag	68	
45			
	<210> 122		
	<211> 67		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 122		

	cucuccgugu ucacagcggg ccuugauuuu augucauaca auuaaggcac gcggugaaug	60
	ccaagag	67
5	<210> 123 <211> 86 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 123	
	ugccagucuc uaggucccug agaccuuua accugugagg acauccaggg ucacagguga	60
10	gguuuuuggg agccuggcgu cuggcc	86
15	<210> 124 <211> 65 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 124	
	ggucccugag accuuuaac cugugaggac auccaggguc acaggugagg uucuugggag	60
20	ccugg	65
25	<210> 125 <211> 88 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 125	
	ugcgcuccuc ucagucccug agaccuaac uugugauguu uaccguuuua auccacgggu	60
30	uaggcucuug ggagcugcga gucgugcu	88
35	<210> 126 <211> 89 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 126	
	accagacuuu uccuaguccc ugagaccua acuugugagg uauuuuagua acaucacaag	60
40	ucaggcucuu gggaccuagg cggagggga	89
45	<210> 127 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 127	
	cgucggcgac gggacauuau uacuuuuggu acgcgcugug acacucaaa cucguaccgu	60
50	gaguaauuuu gcgccgucca cggca	85
	<210> 128 <211> 61 <212> ARN <213> Homo sapiens	

ES 2 465 600 T3

	<400> 128		
		acaauuuuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uauuaaugcg	60
		c	61
5	<210> 129 <211> 97 <212> ARN <213> Homo sapiens		
10	<400> 129		
		ugugaucacu gucuccagcc ugcugaagcu cagagggcuc ugauucagaa agaucaucgg	60
		auccgucuga gcuuggcugg ucggaagucu caucauc	97
15	<210> 130 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens		
20	<400> 130		
		ccagccugcu gaagcucaga gggcucugau ucagaaagau caucggaucc gucugagcuu	60
		ggcuggucgg	70
25	<210> 131 <211> 82 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 131		
		ugagcuguug gauucggggc cguagcacug ucugagaggu uuacauuucu cacagugaac	60
30		cggucucuuu uucagcugcu uc	82
35	<210> 132 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 132		
		gccccgcagc cacugugcag ugggaagggg gggccgauaca cuguaccgaga gugaguagca	60
40		ggucucacag ugaaccgguc ucuuucccua cugugucaca cuccuaaugg	110
45	<210> 133 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 133		
		guuggauucg gggccguagc acugucugag agguuuacau uucucacagu gaaccggucu	60
		cuuuucagc	70
50	<210> 134		

ES 2 465 600 T3

	<211> 74 <212> ARN <213> Homo sapiens		
5	<400> 134		
	uggaucuuuu ugcggucugg gcuugcuguu ccucucaaca guagucagga agcccuuacc	60	
	ccaaaaagua ucuu	74	
10	<210> 135 <211> 90 <212> ARN <213> Homo sapiens		
15	<400> 135		
	ugcccuucgc gaaucuuuuu ggcggucuggg cuugcuguac auaacucaau agccggaagc	60	
	ccuuacccca aaaagcauuu ggcggaggcg	90	
20	<210> 136 <211> 89 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 136		
	ugcugcuggc cagagcucuu uucacauugu gcuacugucu gcaccuguca cuagcagugc	60	
25	aauguuaaaa gggcauuggc cguguagug	89	
30	<210> 137 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 137		
	gccaggaggc gggguugguu guuauuuug guuaucuagc uguaugagug guguggaguc	60	
35	uucuuuuagc uagauaacgg aaaguuaaaa uaaccccaua cacugcgcag	110	
40	<210> 138 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 138		
	cacggcgcgg cagcggcacu ggcuaaggga ggcccguuuc ucucuuggu uaucuagcug	60	
	uauaguggcc acagagccgu cauaaagcua gauaacccgaa aguagaaaug	110	
45	<210> 139 <211> 72 <212> ARN <213> Homo sapiens		
50	<400> 139		

ES 2 465 600 T3

	guuguuauucu uugguuauucu agcuguauuga guguaauuggu cuucauaaaag cuagauaacc	60
	gaaaguaaaaa ac	72
5	<210> 140 <211> 101 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 140	
	ccgccccccgc gucuccaggg caaccguggc uuucgauugu uacuguggga acuggaggua	60
10	acagucuaca gccauggucg cccccgagca cggcccacgcg c	101
15	<210> 141 <211> 66 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 141	
	gggcaaccgu ggcuuucgau uguuacugug ggaacuggag guaacagucu acagccaugg	60
20	ucgccc	66
25	<210> 142 <211> 88 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 142	
	acaaugcuuu gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucucaaug gauuuggucc	60
30	ccuucaccca gcuguagcua ugcauuga	88
35	<210> 143 <211> 102 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 143	
	gggagccaaa ugcuuugcua gagcugguaa aauggaacca aaucgacugu ccaauggauu	60
40	ugguccccuu caaccagcug uagcugugca uugauggcgc cg	102
45	<210> 144 <211> 68 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 144	
	gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucucaaug gauuuggucc ccuucaccca	60
	gcuguagc	68
	<210> 145 <211> 119	

ES 2 465 600 T3

	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 145		
	ccucagaaga aagaugcccc cugcucuggc uggucaaaacg gaaccaaguc cgucuuccug	60	
5	agagguuugg uccccuucuaa ccagcuacag cagggcuggc aaugcccagu ccuuggaga	119	
	<210> 146		
	<211> 80		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 146		
	gccccugcu cuggcugguc aaacggaacc aaguccgucu uccugagagg uuuggucccc	60	
15	uucaaccagc uacagcaggg	80	
	<210> 147		
	<211> 73		
20	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 147		
	cagggugugu gacugguuga ccagaggggc augcacugug uucaccugug gggccaccua	60	
	gucaccaacc cuc	73	
25	<210> 148		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 148		
	agggugugug acugguugac cagaggggca ugcacugugu ucaccugug gggccaccuag	60	
	ucaccaaccc u	71	
35	<210> 149		
	<211> 90		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 149		
	aggccucgcu guucucuauug gcuuuuuauu ccuaugugau ucuacugcuc acucauauag	60	
	ggauuggagc cguggcgcac ggcggggaca	90	
45	<210> 150		
	<211> 100		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 150		

ES 2 465 600 T3

	agauaaaauuc acucuagugc uuuauggcuu uuuaauccua ugugauagua auaagucuc	60
	auguagggau ggaagccaug aaauacauug ugaaaaauca	100
5	<210> 151 <211> 60 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 151 cuauggcuuu uuauuccuau gugauucua ugcucacuca uauagggauu ggagccgugg	60
15	<210> 152 <211> 97 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 152	
	cacucugcug uggccuaugg cuuuucauuc cuaugugauu gcugucccaa acucauguag	60
	ggcuaaaagc caugggcuac agugaggggc gagcucc	97
20	<210> 153 <211> 82 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 153	
	ugagcccucg gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc	60
	aaugagucu ucagaggguu cu	82
30	<210> 154 <211> 62 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 154	
	gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc aaugagucu	60
	uc	62
40	<210> 155 <211> 73 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 155	
	cuucggugac ggguaucuu ggguggauaa uacggauuac guuguuuug cuuaagaa	60
45	cgcguaugc agg	73
50	<210> 156 <211> 99 <212> ARN <213> Homo sapiens	

ES 2 465 600 T3

	<400> 156		
		ccucggcaug gugugguggg gcagcuggug uugugaauca ggccguugcc aaucagagaa	60
		cgguacuuc acaacaccag ggccacacca cacuacagg	99
5	<210> 157 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens		
10	<400> 157		
		cguugcugca gcugguguug ugaaucaggc cgacgagcag cgcauccucu uaccggcua	60
		uuucacgaca ccaggguugc auca	84
15	<210> 158 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens		
20	<400> 158		
		cagcuggugu ugugaaucag gccgacgagc agcgcauccu cuuaccggc uauuucacga	60
		caccaggguu g	71
25	<210> 159 <211> 68 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 159		
		guguauucua cagugcacgu gucuccagug uggcucggag gcuggagacg cggcccuguu	60
30		ggaguaac	68
35	<210> 160 <211> 100 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 160		
		ugugucucuc ucuguguccu gccagugguu uuaccuauug guagguuacg ucaugcuguu	60
40		cuaccacagg guagaaccac ggacaggaua cggggcacc	100
45	<210> 161 <211> 72 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 161		
		uccugccagu gguuuuacc uaugguaggu uacgucaugc uguucuacca caggguagaa	60
		ccacggacag ga	72

ES 2 465 600 T3

	<210> 162		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 162		
	ccugccagug guuuuaccu augguagguu acgucaugcu guucuaccac aggguaagaac	60	
	cacggacagg	70	
10	<210> 163		
	<211> 95		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
15	<400> 163		
	cggccggccc uggguccauc uuccaguaca guguuuggaug gucuaaauugu gaagcuccua	60	
	acacugucug guaaagaugg cucccgggug gguuc	95	
20	<210> 164		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 164		
	ggguccaucu uccaguacag uguuggaugg ucuaauugug aagcuccuaa cacugucugg	60	
25	uaaagauggc cc	72	
30	<210> 165		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 165		
	acccauaaag uagaaagcac uacuaacagc acuggagggu guaguguuuc cuacuuuug	60	
35	gaug	64	
40	<210> 166		
	<211> 106		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 166		
	gcgcagcgcc cugucucca gccugaggug cagugcugca ucucugguca guugggaguc	60	
	ugagaugaag cacuguagcu caggaagaga gaaguuguuc ugcagc	106	
45	<210> 167		
	<211> 63		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
50	<400> 167		

	ccugaggugc agugcugcau cucuggucag uugggagucu gagaugaagc acuguagcuc	60
	agg	63
5	<210> 168 <211> 86 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 168	
	uggggcccug gcugggauau caucauauac uguaaguug cgauagaca cuacaguaua	60
10	gaugauguac uaguccgggc accccc	86
15	<210> 169 <211> 66 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 169	
	ggcuggggaau ucaucauaua cuguaaguuu gcgaugagac acuacaguau agaugaugua	60
20	cuaguc	66
25	<210> 170 <211> 88 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 170	
	caccuugucc ucacggucca guuuucccag gaaucuccua gaugcuaaga uggggauucc	60
	uggaaauacu guucuugagg ucaugguu	88
30	<210> 171 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 171	
	cucacggucc aguuuuccca ggaaucuccu agaugcuaag auggggauuc cuggaaauac	60
	uguucuugag	70
40	<210> 172 <211> 99 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 172	
	ccgaugugua uccucagcuu ugagaacuga auuccauggg uugugucagu gucagaccuc	60
	ugaaauucag uuccuucagcu gggauaucuc ugucaucgu	99
	<210> 173 <211> 65	

ES 2 465 600 T3

	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 173		
5		agcuuugaga acugaaaucc augggguugug ucagugucag accugugaaa uucaguucuu	60
		cagcu	65
	<210> 174		
	<211> 72		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 174		
		aaucuaaaga caacauuucu gcacacacac cagacuauagg aagccagugu guggaaaugc	60
15		uucugcuaga uu	72
	<210> 175		
	<211> 68		
20	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 175		
		gaggcaaagu ucugagacac uccgacucug aguaugauag aagucagugc acuacagaac	60
		uuugucuc	68
25	<210> 176		
	<211> 99		
	<212> ARN		
30	<213> Homo sapiens		
	<400> 176		
		caagcacgau uagcauuuga ggugaaguuc uguuauacac ucaggcugug gcucucugaa	60
		agucagugca ucacagaacu uugucucgaa agcuuucua	99
35	<210> 177		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 177		
		aagcacgaau agcauuugag gugaaguucu guuauacacu caggcugugg cucucugaaa	60
		gucagugcau	70
	<210> 178		
45	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 178		
50			

	gccggcgccc gagcucuggc uccgugucuu cacucccgug cuuguccgag gagggagggga	60
	gggacggggg cugugcuggg gcagcugga	89
5	<210> 179 <211> 53 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 179 gcucuggcuc cgugucuuca cucccgugcu uguccgagga gggagggagg gac 53	
15	<210> 180 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 180	
	cuccccaugg cccugucucc caaccuuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg	60
	ccuggggggac agggaccugg ggac	84
20	<210> 181 <211> 64 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 181	
	cccugucucc caaccuuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg ccuggggggac	60
	aggg	64
30	<210> 182 <211> 72 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 182 uuuccugccc ucgaggagcu cacagucuaug uaugucucau ccccuacuag acugaagcuc	60
	cuugaggaca gg	72
40	<210> 183 <211> 69 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 183	
	ccuguccuca aggagcuuca gucuaaguagg ggaugagaca uacuagacug ugagcuccuc	60
45	gagggcagg	69
50	<210> 184 <211> 87 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 184	

ES 2 465 600 T3

	ugccccccc ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucagugc	60
	augacagaac uugggccccg aaggacc	87
5	<210> 185 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 185 ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucagugc augacagaac	60
	uugggccccg g	71
15	<210> 186 <211> 90 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 186 cucacagcug ccagugucau uuuugugauc ugcagcuagu auucucacuc caguugcaua	60
	gucacaaaag ugaucauugg cagguguggc	90
25	<210> 187 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 187 ucucucucuc ccucacagcu gccaguguca uugucacaaa agugaucauu ggcaggugug	60
	gcugcugcau g	71
35	<210> 188 <211> 87 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 188 agcgguggcc agugucauuu uugugauguu gcagcuagua auaugagccc aguugcauag	60
	ucacaaaagu gaucauugga aacugug	87
45	<210> 189 <211> 69 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 189 cagugucauu uuuugaugu ugcagcuagu aaauaugagcc caguugcaua gucacaaaag	60
	ugaucauug	69
	<210> 190	

	<211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens		
5	<400> 190		
	gugguacuug aagauagguu auccguguug ccuucgcuu auuugugacg aaucuaacac	60	
	gguugaccua uuuucagua ccaa	84	
10	<210> 191 <211> 66 <212> ARN <213> Homo sapiens		
15	<400> 191		
	gaagauaggu uauccguguu gccuucgcuu uauuugugac gaucuaaca cggugaccu	60	
	auuuuu	66	
20	<210> 192 <211> 65 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 192		
	cuguuaaugc uauccgugau agggguuuu gccuccaacu gacuccuaca uauuagcau	60	
25	aacag	65	
30	<210> 193 <211> 82 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 193		
	ccuaacacug ucugguaaag auggcucccg gguggguucu cucggcagua accuucaggg	60	
35	agcccuagaag accauggagg ac	82	
40	<210> 194 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 194		
	gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucuccc	60	
	cucuggcugc caauuccaua ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110	
45	<210> 195 <211> 80 <212> ARN <213> Homo sapiens		
50	<400> 195		

ES 2 465 600 T3

	uccccccccc uguaacagca acuccaugug gaagugccca cugguuccag uggggcugcu	60
	guuaucuggg gcgagggcca	80
5	<210> 196 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 196	
	aaagcugggu ugagagggcg aaaaaggau aggugacugg ucugggcuac gcuaugcugc	60
10	ggcgucggg	70
15	<210> 197 <211> 64 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 197	
	cauuggccuc cuaagccagg gauuguggu ucgagucca cccgggguaa agaaaggccg	60
20	aaau	64
25	<210> 198 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 198	
	ccuaagccag ggauuguggg uucgagucc accuggggu gaggugaaag uuccuuuac	60
	ggaauuuuuu	70
30	<210> 199 <211> 108 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 199	
	caaugucagc agugccuuag cagcacguaa auauuggcgu uaagauucua aaauaucuc	60
	caguauaac ugugcugcug aaguaagguu gaccuacuc uacaguug	108
40	<210> 200 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 200	
	gggcuuucua gucacuagug guuccguua guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
	gcccuaguga cuacaaagcc c	81
50	<210> 201 <211> 70 <212> ARN	

ES 2 465 600 T3

	<213> Homo sapiens		
	<400> 201		
	acgcaagugu ccuaagguga gcucagggag cacagaaacc uccaguggaa cagaagggca	60	
5	aaagcucauu	70	
	<210> 202		
	<211> 70		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 202		
	caugugucac uuucaggugg aguuucaaga gucccuuccu gguucaccgu cuccuuugcu	60	
15	cuuccacaac	70	
	<210> 203		
	<211> 110		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 203		
	agaagggcua ucaggccagc cuucagagga cuccaaggaa cauucaacgc ugucggugag	60	
	uuugggauuu gaaaaaacca cugaccguug acuguaccuu gggguccua	110	
25	<210> 204		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 204		
	ccugugcaga gauuauuuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug	60	
	aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu	110	
35	<210> 205		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 205		
	cugauggcug cacucaacau ucauugcugu cgguggguuu gagucugaau caacucacug	60	
	aucaaugaau gcaaacugcg gaccaaaca	89	
45	<210> 206		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 206		

ES 2 465 600 T3

	cggaaaauu gccaaagguu ugggggaaca uucaaccugu cggugaguu gggcagcuca	60
	ggcaaaccan cgaccguuga guggaccug aggcuggaa uugccauccu	110
5	<210> 207 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 207	
	gagcugcuug ccucaccccg uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg	60
10	auccgguggu ucuagacuug ccaacuauagg ggcgaggacu cagccggcac	110
15	<210> 208 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 208	
	uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg auccgguggu ucuagacuug	60
20	ccaacuauagg	70
25	<210> 209 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 209	
	ccgcagagug ugacuccugu ucuguguaug gcacugguag aaucacugu gaacagucuc	60
30	agucagugaa uuaccgaagg gccauaaaca gagcagagac agauccacga	110
35	<210> 210 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 210	
	ccagucacgu ccccuauca cuuuuccagc ccagcuuugu gacuguaagu guuggacgga	60
40	gaacugauaa ggguaagguga uuga	84
45	<210> 211 <211> 65 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 211	
	ccuuauca cuuuuccagc agcuuuguga cuguaagugu uggacggaga acugauaagg	60
50	guagg	65
	<210> 212 <211> 82 <212> ARN	

ES 2 465 600 T3

	<213> Homo sapiens		
	<400> 212		
	agggggcgag ggauuggaga gaaaggcagu uccugauggu cccucccca ggggcuggcu	60	
5	uuccucuggu ccuuccucc ca	82	
	<210> 213		
	<211> 66		
	<212> ARN		
10	<213> Homo sapiens		
	<400> 213		
	agggauugga gagaaggca guuccugaug guccuccucc caggggcugg cuuuccucug	60	
15	guccuu	66	
	<210> 214		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
20	<400> 214		
	ugcuuguaac uuuccaaaga auucuccuuu ugggcuuucu gguuuuuuu uaagcccaaa	60	
	ggugaauuuu uugggaagu ugagcu	86	
25	<210> 215		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 215		
	acuuuccaaa gaauucuccu uuugggcuuu cugguuuuau uuuaagccca aaggugaauu	60	
	uuuugggaag u	71	
35	<210> 216		
	<211> 109		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 216		
	ggucgggcuc accaugacac agugugagac ucgggcuaca acacaggacc cggggcgcug	60	
	cucugacccc ucgugucuug uguugcagcc ggagggacgc agguccgca	109	
45	<210> 217		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 217		
	ugcuccucu cucacaucucc uugcauggug gagggugagc uuucugaaaa cccuccccac	60	
50	augcaggguu ugcaggaug cgagcc	86	

ES 2 465 600 T3

	<210> 218		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 218		
	ucucacaucc cuugcauggu ggaggugag cuuucugaaa accccuccca caugcagggg	60	
	uugcagga	68	
10	<210> 219		
	<211> 102		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
15	<400> 219		
	cugucgauug gaccggcccu ccggugccua cugagcugau aucaguucuc auuuuacaca	60	
	cuggcucagu ucagcaggaa caggagucga gcccuugagc aa	102	
20	<210> 220		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
25	<400> 220		
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg	60	
	aacaggag	68	
30	<210> 221		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 221		
	ugcaggccuc ugugugauau guuugauaua uuagguuguu auuuaucca acuaauauc	60	
35	aaacauauuc cuacaguguc uugcc	85	
40	<210> 222		
	<211> 67		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 222		
	cugugugaua uguuugauau auuagguugu uauuuauucc aacuaauauu caaacauauu	60	
45	ccuacag	67	
50	<210> 223		
	<211> 92		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 223		

	cggcuggaca gcgggcaacg gaaucctaaa agcagcuguu gucuccagag cauuccagcu	60
	gcgcuuuggau uucguccccc gcucuccugc cu	92
5	<210> 224 <211> 74 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 224	
	agcgggcaac ggaaucccaa aagcagcugu ugucuccaga gcauuccagc ugcgcuuugga	60
10	uuucguccccc ugcu	74
15	<210> 225 <211> 108 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 225	
	ccgagaccga gugcacaggg cucugaccua ugaauugaca gccagugcuc ucgucucucc	60
20	ucuggcugcc aauuccauag gucacaggua uguucgccuc aaugccag	108
25	<210> 226 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 226	
	gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucucucc	60
30	cucuggcugc caauuccaau ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110
35	<210> 227 <211> 88 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 227	
	cgaggauuggg agcugagggc ugggucuuug cgggcgagau gagggugucg gaucaacugg	60
40	ccuacaaagu cccaguucuc ggcccccg	88
45	<210> 228 <211> 58 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 228	
	gcugggucuu ugcgggcgag augagggugu cggaucaacu ggccuacaaa guccagau 58	
50	<210> 229 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 229	

	auugguguuau caaguguaac agcaacucca uguggacugu guaccaauuu ccaguggaga	60
	ugcuguuacu uuugaugguu accaa	85
5	<210> 230 <211> 63 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 230	
	guguaacagc aacuccaugu ggacugugua ccaauuucca guggagauc uguuacuuuu	60
10	gau	63
15	<210> 231 <211> 87 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 231	
	agcuuccug gcucuagcag cacagaaaua uuggcacagg gaagcgaguc ugccaauuu	60
20	ggcugugcug cuccaggcag gguggug	87
25	<210> 232 <211> 58 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 232 uagcagcaca gaaauauugg cacaggaag cgagucugcc aauauuggcu gucugcu 58	
30	<210> 233 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 233	
35	cuagagcuug aauuggaacu gcugagugaa uuagguagu ucauguuguu gggccugggu	60
40	uucugaacac aacaacauua aaccacccga uucacggcag uuacugcucc	110
45	<210> 234 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 234	
50	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc ugguuuucug aacacaacaa cauuaaacca	60
55	cccgaauac	70
60	<210> 235 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 235	

	ugcucgcuca gcugaucugu ggcuuaggua guuucauguu guugggauug aguuuugaac	60
	ucggcaacaa gaaacugccu gaguuacauc agucgguuuu cgucgagggc	110
5	<210> 236 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 236	
	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc ugguuuucug aacacaacaa cauuaaacca	60
10	cccgauucac	70
15	<210> 237 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 237	
	acuggucggu gauuuaggua guuuccuguu guugggaucc accuuucucu cgacagcacg	60
20	açacugccuu cauuacuuca guug	84
25	<210> 238 <211> 75 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 238	
	ggcugugccc gguagagagg gcagugggag gaaagagcuc uucacccuuc accaccuucu	60
30	ccaccagca uggcc	75
35	<210> 239 <211> 60 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 239	
	gugcaugugu auguaugugu gcaugugcau guguaugugu augagugcau gcguguguc	60
40	<210> 240 <211> 62 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 240	
45	ucauuggucc agaggggaga uagguuccug ugauuuuucc uucuuucua uagaauaaau	60
	ga	62
50	<210> 241 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 241	

	gcccaacccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac	60
	auugguuagg c	71
5	<210> 242 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 242	
	aggaagcuuc uggagaucuu gcuccgucgc cccaguguuc agacuaccug uucaggacaa	60
	ugccguugua caguagucug cacauugguu agacugggca agggagagca	110
10	<210> 243 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 243	
	ccagaggaca ccuccacucc gucuaccag uguuuagacu aucuguucag gacucccaaa	60
	uuguacagua gucugcacau ugguuaggcu gggcuggguu agaccucgg	110
20	<210> 244 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 244	
	gcccaacccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac	60
	auugguuagg c	71
30	<210> 245 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 245	
	gccguggcca ucuuacuggg cagcauugga uggagucagg ucucuaauac ugccugguaa	60
	ugaugacggc	70
40	<210> 246 <211> 95 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 246	
	ccagcucggg cagccguggc caucuucug ggcagcauug gauggaguca ggucucuaau	60
	acugccuggu aaugaugacg gcggagcccu gcacg	95
	<210> 247 <211> 68 <212> ARN	

ES 2 465 600 T3

	<213> Homo sapiens		
	<400> 247		
	cccucgucuu acccagcagu guuugggugc gguugggagu cucuaauacu gccggguaau	60	
5	gauggagg	68	
	<210> 248		
	<211> 72		
	<212> ARN		
10	<213> Homo sapiens		
	<400> 248		
	guuccuuuuu ccuaugcaua uacuucuuug aggaucuggc cuaaagaggu auagggcaug	60	
	ggaagaugga gc	72	
15	<210> 249		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
20	<400> 249		
	guguugggga cucgcgcgc cuucccagug guucuuuaca guucaacagu ucuguagcgc	60	
	aaugugaaa uguuuaggac cacuagacc gccgggcccgc gcgacagcga	110	
25	<210> 250		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 250		
	ggcuacaguc uuucuucaug ugacucgugg acuuccuuu gucauccuau gccugagaau	60	
	auaugaagga ggcugggaag gcaaaggac guucaauugu caucacuggc	110	
35	<210> 251		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 251		
	aaagaucuc agacaaucca ugugcuucuc uuguccuua uccaccgga gucugucuca	60	
	uacccaacca gauuucagug gagugaagu caggaggcau ggagcugaca	110	
45	<210> 252		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 252		
	ugcuucccga ggccacaugc uuuuuuuuuu ccccauugg auuacuuugc uauggaauu	60	
50	aaggaagugu gugguuucgg caaug	86	

ES 2 465 600 T3

	<210> 253		
	<211> 69		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 253		
	aggccacaug cuucuuuaua ucccacauug gauuacuuug cuauggaag uaaggaagug	60	
	ugugguuuu	69	
10	<210> 254		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
15	<400> 254		
	ugacgggcca gcuuuuggcc cggguuuuac cugaugcuca cguauaagac gagcaaaaag	60	
	cuuguugguc a	71	
20	<210> 255		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
25	<400> 255		
	accgggcagu gccuccagge gcagggcage cccugcccac cgcacacugc gcugccccag	60	
	accacugug cgugugacag cggcugaucu gugccugggc agcgcgacc	110	
30	<210> 256		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 256		
	ucaaccuggcc augugacuug ugggcuuccc uuugucaucc uucgccuagg gcucugagca	60	
35	gggcagggac agcaaagggg ugcucaguug ucacuuccca cagcacggag	110	
40	<210> 257		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 257		
	cggggcacc cgcgggaca gcgcgccggc accuuggcuc uagacugcuu acugcccggg	60	
	ccgcccucag uaacagucuc cagucacggc caccgacgcc uggccccgcc	110	
45	<210> 258		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
50	<400> 258		

ES 2 465 600 T3

ccugugcaga gauuauuuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug 60
aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu 110

5 <210> 259
 <211> 108
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 <400> 259

gaguuuugag guugcuucag ugaacauuca acgcugucgg ugaguuugga auuaaaauca 60
aaaccaucga ccguugauug uaccuauagg cuaaccauca ucuacucc 108

10 <210> 260
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 <400> 260

ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucua acuugcugug cagaacaucc 60
gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu 110

20 <210> 261
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 <400> 261

aucauucaga aaugguauac aggaaaauga ccuaugaauu gacagacaau auagcugagu 60
uugucuguca uuucuuuagg ccaauauucu guaugacugu gcuaucucaa 110

30 <210> 262
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 <400> 262

gauggcugug aguuggcuua aucucagcug gcaacuguga gauguucaua caauccuca 60
caguggucuc ugggauuauug cuaaacagag caauuuccua gccucacga 110

40 <210> 263
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 <400> 263

45 **aguauaaaua uuacauagu uugaugucg cagauacugc aucaggaacu gauuggauaa 60**
gaucaguca ccaucaguuc cuaaugcauu gccuucagca ucuaaacaag 110

<210> 264
 <211> 110

ES 2 465 600 T3

	<212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 264		
5		gugauaaugu agcgagauuu ucuguugugc uugaucuaac caugugguug cgagguauga	60
		guaaaacaug guuccgucaa gcaccaugga acgucacgca gcuuucuaca	110
	<210> 265 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens		
10			
	<400> 265		
		gaccagucgc ugcggggcuu uccuuugugc uugaucuaac cauguggugg aacgauggaa	60
15		acggaacaug guucugucaa gcaccgcgga aagcaccgug cucuccugca	110
	<210> 266 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens		
20			
	<400> 266		
		ccgccccggg ccgcgggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuau ggcuccggcc	60
25		gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gccccaaac cucgagcggg	110
	<210> 267 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens		
30			
	<400> 267		
		ccgccccggg ccgcgggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuau ggcuccggcc	60
		gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gccccaaac cucgagcggg	110
	<210> 268 <211> 97 <212> ARN <213> Homo sapiens		
35			
	<400> 268		
40		acucaggggc uucgccacug auuguccaaa cgcaauucuu guaccgagucu gcggccaaacc	60
		gagaauugug gcuggacauc uguggcugag cuccggg	97
	<210> 269 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens		
45			
	<400> 269		
50			

	gacagugugg cauuguaggg cuccacaccg uaucugacac uuugggagagg ggcaccaugc	60
	ugaagguguu caugaugcgg ucugggaacu ccucacggau cuuacugaug	110
5	<210> 270 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 270	
	ugaacaucca ggucuggggc augaaccugg cauacaugu agauuucugu guucguuagg	60
10	caacagcuac auugucugcu ggguuucagg cuaccuggaa acauguucuc	110
15	<210> 271 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 271	
	gcugcuggaa gguguaggua cccucaaugg cucaguagcc aguguagauc cugucuucg	60
20	uaaucagcag cuacaucugg cuacuggguc ucugauggca ucuucuagcu	110
25	<210> 272 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 272	
	ccuggccucc ugcagugcca cgcuccgugu auuugacaag cugaguugga cacuccaugu	60
30	gguagagugu caguullguca aaucacccaa gugcggcaca ugcuuaccag	110
35	<210> 273 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 273	
	gggcuuucaa gucacuagug guuccguuuu guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
40	gcccuaaguga cuacaaagcc c	81
45	<210> 274 <211> 60 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 274	
	caaucuuccu uuaucauggu auugauuuuu cagugcuucc cuuuugugug agagaagaua	60
50	<210> 275 <211> 80 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 275	

	aggacccuuc cagagggccc ccccucaauc cuguugugcc uauucagag gguugggugg	60
	aggcucuccu gaagggcucu	80
5	<210> 276 <211> 63 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 276	
	aagaaauggu uuaccguccc acauacauuu ugaauaugua uguggggaugg uaaaccgcuu	60
10	cuu	63
15	<210> 277 <211> 86 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 277	
	acugcuaacg aaugcucuga cuuuauugca cuacugua cu uuacagcuag cagugcaaua	60
20	guauugucaa agcaucugaa agcagg	86
25	<210> 278 <211> 69 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 278	
	ccaccacuua aacguggaug uacuugcuuu gaaacuaaag aaguaagugc uuccauguuu	60
	uggugaugg	69
30	<210> 279 <211> 73 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 279	
	gcucccuuca acuuuaacau ggaagugcuu ucugugacu uaaaaguaag ugcuucaug	60
	uuuuaguagg agu	73
40	<210> 280 <211> 68 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 280	
	ccuuugcuuu aacauggggg uaccugcugu gugaaacaaa aaguaagugc uccauguuuc	60
	aguggagg	68
50	<210> 281 <211> 68 <212> ARN	

ES 2 465 600 T3

	<213> Homo sapiens		
	<400> 281		
	ccucuacuuu aacauggagg cacuugcugu gcaugacaa aaauaagugc uuccauguuu	60	
5	gagugugg	68	
	<210> 282		
	<211> 82		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 282		
	gcuucgcucc ccuccgccuu cucuucccgg uucuucccgg agucgggaaa agcuggguug	60	
	agagggcgaa aaaggauqag gu	82	
15			
	<210> 283		
	<211> 59		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 283		
	uuggccuccu aagccaggga uuguggguuc gagucccacc cgggguaaag aaaggccga 59		
	<210> 284		
25	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 284		
30			
	uugguacuug gagagaggug guccguggcg cguucgcuuu auuauggcg cacauacac	60	
	ggucgaccuc uuugcaguau cuaauc	86	
	<210> 285		
35	<211> 83		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 285		
	cugacuqugc cuccccgcuu ccccuagggc auugguguaa agcuggagac ccacugcccc	60	
40	aggugcugcu gggggguugua guc	83	
	<210> 286		
	<211> 98		
45	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 286		
	auacagugcu ugguuccuag uaggugucca gaaaguguuu gugacauaau uuguuuauug	60	
	aggaccuccu aucaaucaag cacugugcua ggcucugg	98	
50			
	<210> 287		
	<211> 95		

ES 2 465 600 T3

	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 287		
5		cucaucuguc uguugggcug gaggcagggc cuuugugaag gcgggugggug cucagaucgc	60
		cucuggggccc uuccuccagc cccgagggcg auuca	95
	<210> 288		
	<211> 75		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 288		
		uggagugggg gggcaggagg ggcucagggg gaaagugcau acagccccug gcccucucug	60
15		cccuuccguc cccug	75
	<210> 289		
	<211> 94		
20	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 289		
		cuuuggcgau cacugccucu cugggccugu gucuuaaggcu cugcaagauc aaccgagcaa	60
		agcacacggc cugcagagag gcagcgccu gccc	94
25			
	<210> 290		
	<211> 94		
	<212> ARN		
30	<213> Homo sapiens		
	<400> 290		
		gaguuuuggu uuguuugggu uuguucuagg uaugguccca gggauccag aucaaaccag	60
		gccccugggc cuauccuaga accaaccuaa gcuc	94
35			
	<210> 291		
	<211> 94		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 291		
		uguuuugagc gggggucaag agcaauaacg aaaaanguuu gucauaaac guuuuucuu	60
		auugcuccug accuccucuc auuugcuaua uuca	94
45			
	<210> 292		
	<211> 93		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
50	<400> 292		

	guagucagua guuggggggu gggaacggcu ucauacagga guugaugcac aguuauccag	60
	cuccuauaug augccuuucu ucauuccuuu caa	93
5	<210> 293 <211> 67 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 293	
	ucuccaacia uauccuggug cugagugaug acucagggca succagcauc agugauuuug	60
10	uugaaga	67
15	<210> 294 <211> 94 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 294	
	cggggcgggc gcucuccug uccuccagga gcucacgugu gccugccugu gagcgccug	60
20	acgacagagc cggcgccugc cccagugucu gcgc	94
25	<210> 295 <211> 95 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 295	
	uuguaccugg ugugauuaa aagcaaugag acugauuguc auaugucguu ugugggaucc	60
30	gucucaguua cuuuauagcc auaccuggua ucuua	95
35	<210> 296 <211> 99 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 296	
	gaaacugggc ucaaggugag gggugcuauc ugugauugag ggacaugguu aauggaauug	60
40	ucucãcãcag aaauccgacc cgucccuug gccuacuua	99
45	<210> 297 <211> 98 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 297	
	acccaaacc uaggucugcu gacuccuagu ccagggcucg ugauggcugg ugggccuga	60
	acgagggguc uggaggccug gguuugaaua ucgacagc	98
	<210> 298 <211> 86	

ES 2 465 600 T3

	<212> ARN <213> Homo sapiens		
5	<400> 298		
	gucugucugc ccgcaugccu gccucucugu ugcucugaaq gaggcagggg cugggccugc	60	
	agcugccugg gcagagcggc uccugc	86	
10	<210> 299 <211> 68 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 299		
	ccaauacugu ugcuaauaug caacucuguu gaauauaaau uggaauugca cuuuagcaau	60	
15	ggugaugg	68	
20	<210> 300 <211> 66 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 300		
	aaaaggugga uauuccuucu auguuuaugu uauuuauugu uaaacauaga ggaaaucca	60	
25	cguuuu	66	
30	<210> 301 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens		
	<400> 301		
	uugaagggag aucgaccgug uuauauucgc uuauuugacu ucgaauaaau caugguugau	60	
	cuuuucucag	70	
35	<210> 302 <211> 75 <212> ARN <213> Homo sapiens		
40	<400> 302		
	agacagagaa gccaggucac gucucugcag uuacacagcu cacgagugcc ugcuggggug	60	
	gaaccugguc ugucu	75	
45	<210> 303 <211> 67 <212> ARN <213> Homo sapiens		
50	<400> 303		

	guggcacuca aacugugggg gcacuuucug cucucuggug aaagugccgc caucuuuuga	60
	guguuac	67
5	<210> 304 <211> 67 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 304	
	guggggccuca aaugugggagc acuaauucuga uguccaagug gaaagugcug cgacauuuga	60
	gcgucac	67
15	<210> 305 <211> 69 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 305	
20	gggauacuca aaaugggggc gcuuuccuuu uugucuguac ugggaagugc uucgauuuug	60
	ggguguccc	69
25	<210> 306 <211> 72 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 306	
30	uacaucggcc auuauaaauac aaccugauaa guguuauagc acuuaucaga uuguaaugua	60
	auugucugug ua	72
35	<210> 307 <211> 102 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 307	
	auggagcugc ucaccugug ggcucaaaau guggaggaac uauucugaug uccaagugga	60
	aagugcugcg acuuugagc gucaccggug acgcccauau ca	102
40	<210> 308 <211> 101 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 308	
	gcauucccuc agccuguggc acucaaaacug ugggggcacu uucugcucuc uggugaaagu	60
	gccgccaucu uuugaguguu accgcuugag aagacucaac c	101
	<210> 309	

ES 2 465 600 T3

	<211> 102		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 309		
	cgaggagcuc auacugggau acucaaaaug ggggcgcuuu ccuuuuuguc uguuacuggg		60
	aagugcuucg auuuuggggg gucccuguuu gaguagggca uc		102
10	<210> 310		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
15	<400> 310		
	ugagguagua gguuguauag uu	22	
20	<210> 311		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 311		
	ugagguagua gguugugg uu	22	
25	<210> 312		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 312		
	ugagguagua gguuauagg uu	22	
35	<210> 313		
	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
40	<400> 313		
	agagguagua gguugcauag u	21	
45	<210> 314		
	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 314		
	ugagguagga gguuguauag u	21	
50	<210> 315		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
55	<400> 315		
	ugagguagua gauuguauag uu	22	
60	<210> 316		
	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 316		
	ugagguagua guuuguacag u	21	

	<210> 317	
	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5		
	<400> 317	
	ugagguagua guuugugcu	19
10		
	<210> 318	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15		
	<400> 318	
	uggaauguaa agaaguaugu a	21
20		
	<210> 319	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25		
	<400> 319	
	uggaagacua gugauuuugu u	21
30		
	<210> 320	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35		
	<400> 320	
	ucuuugguua ucuagcugua uga	23
40		
	<210> 321	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45		
	<400> 321	
	uaaagcuaga uaaccgaaag u	21
50		
	<210> 322	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
55		
	<400> 322	
	uaccuguag aaccgaaauu gug	23
60		
	<210> 323	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
65		
	<400> 323	
	uaccuguag aaccgaaauu gu	22
70		
	<210> 324	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
75		
	<400> 324	
	uagcagcaca uaaugguuug ug	22
80		
	<210> 325	
	<211> 22	

ES 2 465 600 T3

	<212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 325 uagcagcaca ucaugguuua ca	22
10	<210> 326 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 326 uagcagcacg uaaauauugg cg	22
20	<210> 327 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 327 caaagugcuu acagucagg uagu 24	
30	<210> 328 <211> 20 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 328 acugcaguga aggcacuugu	20
40	<210> 329 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 329 uaaggugcau cuagucaga ua	22
50	<210> 330 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
55	<400> 330 ugugcaaauc uaugcaaaac uga 23	
60	<210> 331 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
65	<400> 331 ugugcaaauc caugcaaaac uga 23	
70	<210> 332 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
75	<400> 332 uaaagugcuu auagucagg ua	22
80	<210> 333 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	

ES 2 465 600 T3

	<400> 333 uagcuuauca gacugauguu ga	22
5	<210> 334 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 334 aagcugccag uugaagaacu gu	22
15	<210> 335 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 335 aucacauugc cagggauuuc c	21
25	<210> 336 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 336 aucacauugc cagggauuac cac	23
35	<210> 337 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 337 uggcucaguu cagcaggaac ag	22
45	<210> 338 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 338 cauugcacuu gucucggucu ga	22
55	<210> 339 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 339 uucaaguaau ccaggauagg cu	22
65	<210> 340 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
70	<400> 340 uucaaguaau ucaggauagg u	21
75	<210> 341 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
80	<400> 341 uucacagugg cuaaguuccg cc	22

ES 2 465 600 T3

<210> 342
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 342
 uucacagugg cuaaguucug 20
 <210> 343
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 343
 aaggagcuca cagucuauug ag 22
 <210> 344
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 344
 cuagcaccuu cugaaaucgg uu 22
 <210> 345
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 345
 uagcaccuu ugaaaucagu 20
 <210> 346
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 346
 uagcaccuu ugaaaucggu ua 22
 <210> 347
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 347
 uguaaacauc cucgacugga agc 23
 <210> 348
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 348
 cuuucagucg gauguuugca gc 22
 <210> 349
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 349
 uguaaacauc cuacacucag c 21
 <210> 350
 <211> 23

ES 2 465 600 T3

<212> ARN
 <213> Homo sapiens

 <400> 350
 5 uguaaacauc cuacacucuc agc 23

 <210> 351
 <211> 22
 <212> ARN
 10 <213> Homo sapiens

 <400> 351
 uguaaacauc cccgacugga ag 22

 15 <210> 352
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

 20 <400> 352
 uguaaacauc cuugacugga 20

 <210> 353
 <211> 21
 25 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

 <400> 353
 30 ggcaagaugc uggcauagcu g 21

 <210> 354
 <211> 21
 <212> ARN
 35 <213> Homo sapiens

 <400> 354
 uauugcacau uacuaaguug c 21

 40 <210> 355
 <211> 19
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

 <400> 355
 45 gugcauugua guugcauug 19

 <210> 356
 <211> 22
 <212> ARN
 50 <213> Homo sapiens

 <400> 356
 uggcaguguc uuagcugguu gu 22

 55 <210> 357
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

 60 <400> 357
 aggcaguguc auuagcugau ug 22

 <210> 358
 <211> 22
 65 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

ES 2 465 600 T3

	<400> 358 aggcagugua guuagcugau ug	22
5	<210> 359 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 359 uauugcacuu gucccggccu gu	22
15	<210> 360 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 360 aaagugcugu ucgugcaggu ag	22
25	<210> 361 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 361 uucaacgggu auuuauugag ca	22
35	<210> 362 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 362 uuuggcacua gcacauuuuu gc	22
45	<210> 363 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 363 ugagguagua aguuguauug uu	22
55	<210> 364 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 364 aaccguaga uccgaucuug ug	22
65	<210> 365 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 365 cacccguaga accgaccuug cg	22
	<210> 366 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 366 uacaguacug ugauaacuga ag	22

ES 2 465 600 T3

<210> 367
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 367
 uacaguacug ugauaacuga ag 22
 <210> 368
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 368
 agcagcauug uacagggcua uga 23
 <210> 369
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 369
 ucaaaugcuc agacuccugu 20
 <210> 370
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 370
 aaaagugcuu acagugcagg uagc 24
 <210> 371
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 371
 uaaagugcug acagucaga u 21
 <210> 372
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 372
 agcagcauug uacagggcua uca 23
 <210> 373
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 373
 uggaguguga caaugguguu ugu 23
 <210> 374
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 374
 uuaaggcacg cggugaaugc ca 22
 <210> 375
 <211> 23
 65

ES 2 465 600 T3

<212> ARN
 <213> Homo sapiens

 <400> 375
 5 ucccugagac ccuuuaaccu gug 23

 <210> 376
 <211> 22
 <212> ARN
 10 <213> Homo sapiens

 <400> 376
 ucccugagac ccuaacuugu ga 22

 15 <210> 377
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

 20 <400> 377
 cauuaauacu uuugguacgc g 21

 <210> 378
 <211> 21
 25 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

 <400> 378
 30 ucguaccgug aguaauaag c 21

 <210> 379
 <211> 22
 <212> ARN
 35 <213> Homo sapiens

 <400> 379
 ucggauccgu cugagcuugg cu 22

 40 <210> 380
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

 45 <400> 380
 ucacagugaa ccggucucuu uu 22

 <210> 381
 <211> 22
 <212> ARN
 50 <213> Homo sapiens

 <400> 381
 ucacagugaa ccggucucuu uc 22

 55 <210> 382
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

 60 <400> 382
 cuuuuugcgg ucugggcuug c 21

 <210> 383
 <211> 20
 65 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

ES 2 465 600 T3

	<400> 383 cagugcaaug uaaaaagggc	20
5	<210> 384 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 384 cagugcaaug augaaagggc au	22
15	<210> 385 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 385 uaacagucua cagccauggu cg	22
25	<210> 386 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 386 uugguccccu ucaaccagcu gu	22
35	<210> 387 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 387 uugguccccu ucaaccagcu a	21
45	<210> 388 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 388 ugugacuggu ugaccagagg g	21
55	<210> 389 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 389 uauggcuuuu uauuccuaug uga	23
65	<210> 390 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
70	<400> 390 uauggcuuuu cauuccuaug ug	22
75	<210> 391 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
80	<400> 391 acuccauuug uuuugaugau gga	23

ES 2 465 600 T3

<210> 392
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 392
 uauugcuuaa gaauacgcgu ag 22
 <210> 393
 <211> 17
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 393
 agcugguguu gugaauc 17
 <210> 394
 <211> 18
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 394
 ucuacagugc acgugucu 18
 25
 <210> 395
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 395
 agugguuuuu ccuauggua g 21
 <210> 396
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 396
 aacacugucu gguaaagaug g 21
 40
 <210> 397
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 397
 uguaguguuu ccuacuuuau gga 23
 50
 <210> 398
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 398
 cauaaaguag aaagcacuac 20
 <210> 399
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 399
 ugagaugaag cacuguagcu ca 22
 65
 <210> 400
 <211> 22
 <212> ARN

ES 2 465 600 T3

<213> Homo sapiens
 <400> 400
 5 uacaguauag augauguacu ag 22
 <210> 401
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 10 <400> 401
 guccaguuuu cccaggauc ccuu 24
 <210> 402
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 402
 20 ugagaacuga auuccauggg uu 22
 <210> 403
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 403
 guguguggaa augcuucugc 20
 <210> 404
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 30 <400> 404
 35 ucagugcacu acagaacuuu gu 22
 <210> 405
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 405
 45 ucagugcauc acagaacuuu gu 22
 <210> 406
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 406
 ucuggcuccg ugucuucacu cc 22
 <210> 407
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 55 <400> 407
 60 ucucccaacc cuuguaccag ug 22
 <210> 408
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 65

ES 2 465 600 T3

	<400> 408 acuagacuga agcuccuuga gg	22
5	<210> 409 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 409 ucagugcaug acagaacuug g	21
15	<210> 410 <211> 20 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 410 uugcauaguc acaaaguga	20
25	<210> 411 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 411 uagguuaucc guguugccuu cg	22
35	<210> 412 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 412 aaucacuacac gguugaccua uu	22
45	<210> 413 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 413 uuaaugcuaa ucgugauagg gg	22
55	<210> 414 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 414 aacauucaac gcugucggug agu	23
65	<210> 415 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
70	<400> 415 aacauucauu gcugucggug gguu	24
75	<210> 416 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
80	<400> 416 aacauucaac cugucgguga gu	22

ES 2 465 600 T3

	<210> 417 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 417 uuuggcaaug guagaacuca ca	22
10	<210> 418 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 418 ugguucuaga cuugccaacu a	21
20	<210> 419 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 419 uauggcacug guagaaauca cug	23
30	<210> 420 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 420 uggacggaga acugauaagg gu	22
40	<210> 421 <211> 18 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 421 uggagagaaa ggcaguuc	18
50	<210> 422 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
55	<400> 422 caaagaauuc uccuuuuggg cuu	23
60	<210> 423 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
65	<400> 423 ucgugucuug uguugcagcc g	21
	<210> 424 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 424 caucccuugc augguggagg gu	22
	<210> 425 <211> 23 <212> ARN	

ES 2 465 600 T3

<213> Homo sapiens
 <400> 425
 5 gugccuacug agcugauauc agu 23
 <210> 426
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 10 <400> 426
 ugauauguuu gauauuuag gu 22
 <210> 427
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 15 <400> 427
 20 caacggauc ccaaaagcag cu 22
 <210> 428
 <211> 21
 <212> ARN
 25 <213> Homo sapiens
 <400> 428
 cugaccuaug aaugacagc c 21
 30 <210> 429
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 35 <400> 429
 aacuggccua caaagucca g 21
 <210> 430
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 40 <400> 430
 45 uguaacagca acuccaugug ga 22
 <210> 431
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 50 <400> 431
 uagcagcaca gaaauuugg c 21
 <210> 432
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 55 <400> 432
 60 uagguaguuu cauguuguug g 21
 <210> 433
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 65

ES 2 465 600 T3

	<400> 433 uagguaguuu ccuguuguug g	21
5	<210> 434 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 434 uuccaccaccu ucuccaccca gc	22
15	<210> 435 <211> 19 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 435 gguccagagg ggagauagg	19
25	<210> 436 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 436 cccaguguuc agacuaccug uuc	23
35	<210> 437 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 437 uacaguaguc ugcacauugg uu	22
45	<210> 438 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 438 cccaguguuu agacuaucug uuc	23
55	<210> 439 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 439 uaacacuguc ugguaacgau gu	22
65	<210> 440 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 440 cucuaauacu gccugguaau gaug	24
	<210> 441 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 441 aauacugccg gguaaugaug ga	22

ES 2 465 600 T3

<210> 442
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 442
 agagguauag ggcaugggaa ga 22
 <210> 443
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 443
 gugaaauguu uaggaccacu ag 22
 <210> 444
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 20
 <400> 444
 uucccuuugu cauccuaugc cu 22
 <210> 445
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 445
 uccuucuuuc caccggaguc ug 22
 <210> 446
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 35
 <400> 446
 uggaauguaa ggaagugugu gg 22
 <210> 447
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 447
 auaagacgag caaaaagcuu gu 22
 <210> 448
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 448
 cugugcgugu gacagcggu g 21
 <210> 449
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 60
 <400> 449
 uucccuuugu cauccuucgc cu 22
 <210> 450
 <211> 21

ES 2 465 600 T3

	<212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 450 uaacagucuc cagucacggc c	21
10	<210> 451 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 451 accaucgacc guugauugua cc	22
20	<210> 452 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 452 acagcaggca cagacaggca g	21
30	<210> 453 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 453 augaccuaug aaugacaga c	21
40	<210> 454 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 454 uaaucucagc uggcaacugu g	21
50	<210> 455 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
55	<400> 455 uacugcauca ggaacugauu ggau 24	
60	<210> 456 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
65	<400> 456 uugugcuuga ucuaaccaug u	21
	<210> 457 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 457 ugauugucca aacgcaauuc u	21
	<210> 458 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	

ES 2 465 600 T3

	<400> 458 ccacaccgua ucugacacuu u	21
5	<210> 459 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 459 agcuacauug ucugcugggu uuc	23
15	<210> 460 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 460 agcuacaucu ggcuacuggg ucuc	24
25	<210> 461 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 461 ugucaguuuug ucaaaauacc c	21
35	<210> 462 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 462 caagucacua gugguuccgu uua	23
45	<210> 463 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 463 agggcccccc cucaauccug u	21
55	<210> 464 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 464 ugguuuaccg ucccacauac au	22
65	<210> 465 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 465 cagugcaua guauugucaa agc	23
	<210> 466 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 466 uaagugcuuc cauguuuugg uga	23

ES 2 465 600 T3

<210> 467
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 5
 <400> 467
 acuuuaacau ggaagugcuu ucu 23
 10
 <210> 468
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 468
 uaagugcuuc cauguuuuag uag 23
 20
 <210> 469
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 <400> 469
 uuuaacaugg ggguaaccugc ug 22
 25
 <210> 470
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 470
 uaagugcuuc cauguuucag ugg 23
 35
 <210> 471
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 <400> 471
 uaagugcuuc cauguuugag ugu 23
 40
 <210> 472
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 45
 <400> 472
 aaaagcuggg uugagagggc gaa 23
 50
 <210> 473
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 <400> 473
 uaagccaggg auuguggguu c 21
 55
 <210> 474
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 <400> 474
 gcacauuaca cggucgaccu cu 22
 60
 <210> 475
 <211> 23
 <212> ARN
 65

ES 2 465 600 T3

<213> Homo sapiens
 <400> 475
 5 cgcauccccu agggcauugg ugu 23
 <210> 476
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 10
 <400> 476
 ccacugcccc aggugcugcu gg 22
 <210> 477
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 15
 <400> 477
 20 ccuaguaggu guccaguaag u 21
 <210> 478
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 25
 <400> 478
 ccucugggcc cuuccuccag 20
 <210> 479
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 30
 <400> 479
 35 cuggccucu cugcccuucc gu 22
 <210> 480
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 40
 <400> 480
 45 gcaaagcaca cggccugcag aga 23
 <210> 481
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 50
 <400> 481
 gccccugggc cuauccuaga a 21
 <210> 482
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 55
 <400> 482
 60 ucaagagcaa uaacgaaaaa ugu 23
 <210> 483
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens
 65

ES 2 465 600 T3

<400> 483
 uccagcuccu auaugaugcc uuu 23

5 <210> 484
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

10 <400> 484
 uccagcauca gugauuuugu uga 23

15 <210> 485
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 485
 uccuguccu ccaggagcuc a 21

25 <210> 486
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

<400> 486
 uccgucucag uuacuuuaua gcc 23

30 <210> 487
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 487
 ucucacacag aaaucgcacc cguc 24

40 <210> 488
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

<400> 488
 ugcugacucc uaguccaggg e 21

45 <210> 489
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

50 <400> 489
 ugucugcccg caugccugcc ucu 23

55 <210> 490
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

60 <400> 490
 aaaugcacuu uagcaauggu ga 22

65 <210> 491
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

<400> 491

ES 2 465 600 T3

	acauagagga aauuccacgu uu	22
5	<210> 492 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 492 aauaauacau gguugaucuu u	21
15	<210> 493 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 493 gccugcuggg guggaaccug g	21
20	<210> 494 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 494 gugccgccau cuuuugagug u	21
30	<210> 495 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 495 aaagugcugc gacauuugag cgu	23
40	<210> 496 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 496 acucaaaaug ggggcgcuuu cc	22
45	<210> 497 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 497 gaagugcuuc gauuuugggg ugu	23
55	<210> 498 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 498 uuauaaauaca accugauaag ug	22

REIVINDICACIONES

1. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer pancreático, que comprende:

5 medir el nivel de al menos miR-106a en una muestra de ensayo de tejido pancreático del sujeto, en el que un aumento en el nivel de miR-106a en la muestra de ensayo, en relación con el nivel de miR-106a en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene cáncer pancreático.

10 2. El método de la reivindicación 1, en el que un aumento en el nivel de miR-106a y una alteración en el nivel de al menos un producto génico de miR adicional se usa para diagnosticar cáncer pancreático, seleccionándose al menos un producto génico de miR adicional de:

15 miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-103-2, miR-103-1, miR-100, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-23a, miR-26a-1, miR-125a, miR-130a, miR-26b, miR-145, miR-126*, miR-16-2, miR-99b, miR-155, miR-29a, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-29c, miR-30b, miR-129-1/2, miR-197, miR-7-1, miR-93-1, miR-140, miR-30a-5p, miR-132, miR-152 prec, miR-23b, miR-222, miR-27a, miR-92-1, miR-129-1/2 prec, miR-150, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos.

20 3. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer pancreático de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la medición del nivel de al menos miR-106a comprende:

(1) transcribir de forma inversa:

25 al menos ARN de miR-106a de una muestra de ensayo de tejido pancreático obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de miR-106a; y

(2) hibridar:

30 el al menos un oligodesoxinucleótido diana de ARN de miR-106a con una microserie que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN que incluyen al menos un oligonucleótido sonda específico de ARN de miR-106a para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra de ensayo; y en el que la determinación de si hay un aumento en el nivel del producto génico de miR-106a en la muestra de ensayo, en relación con el nivel del producto génico de miR-106a en una muestra de control comprende:

35 (3) comparar:

40 el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con un perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control, en donde un aumento en la señal de miR-106a es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer pancreático.

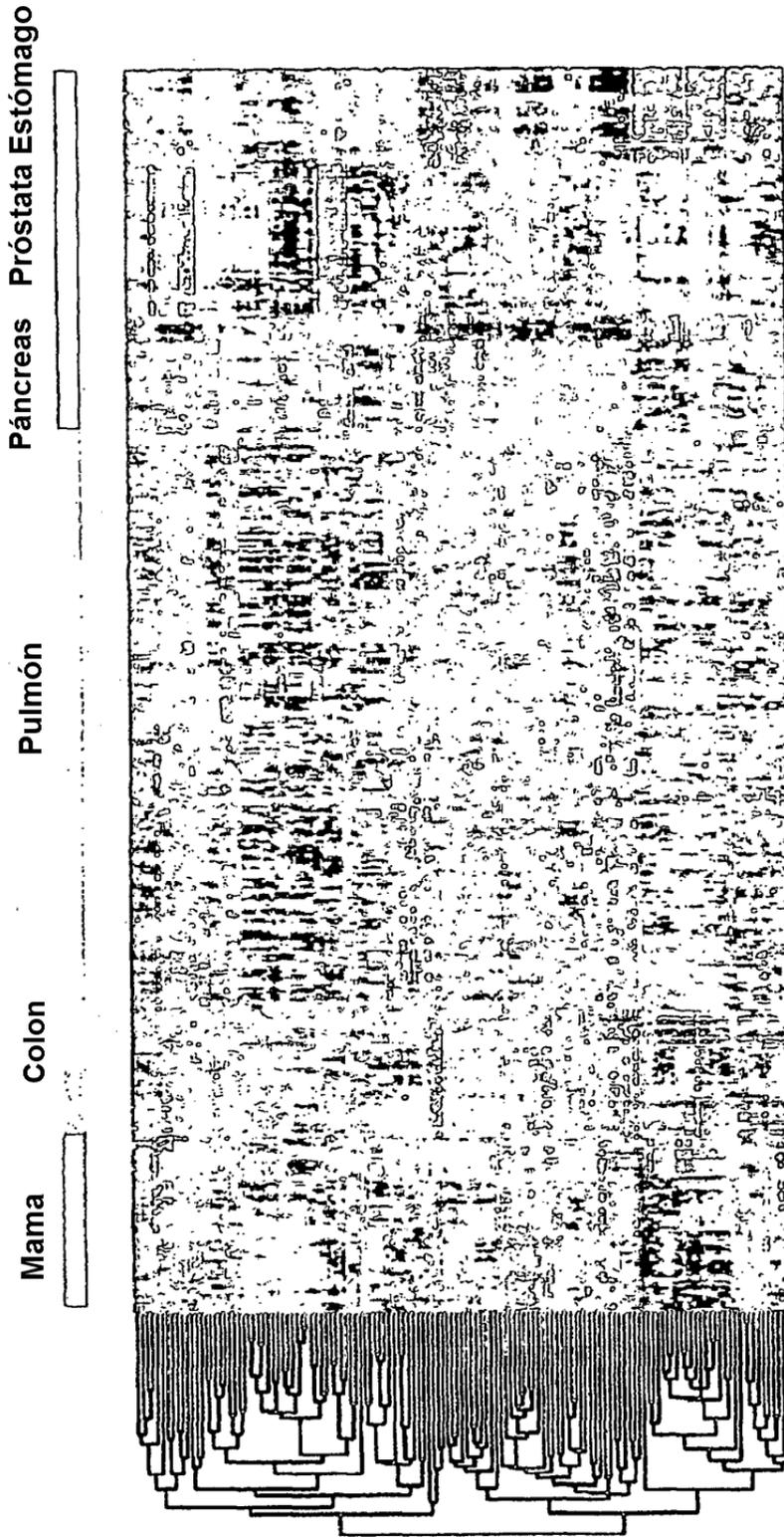


FIG. 1

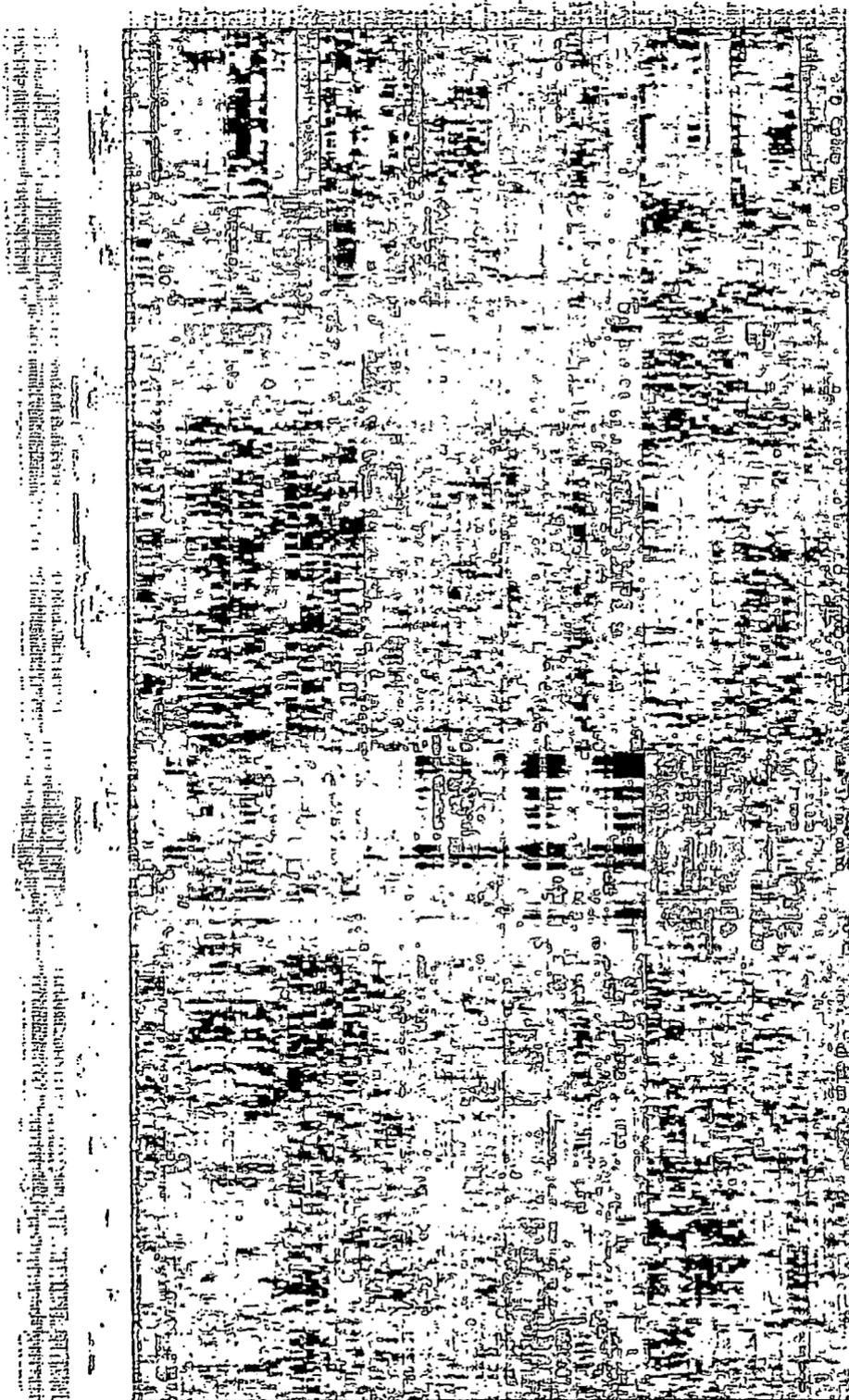


FIG. 2

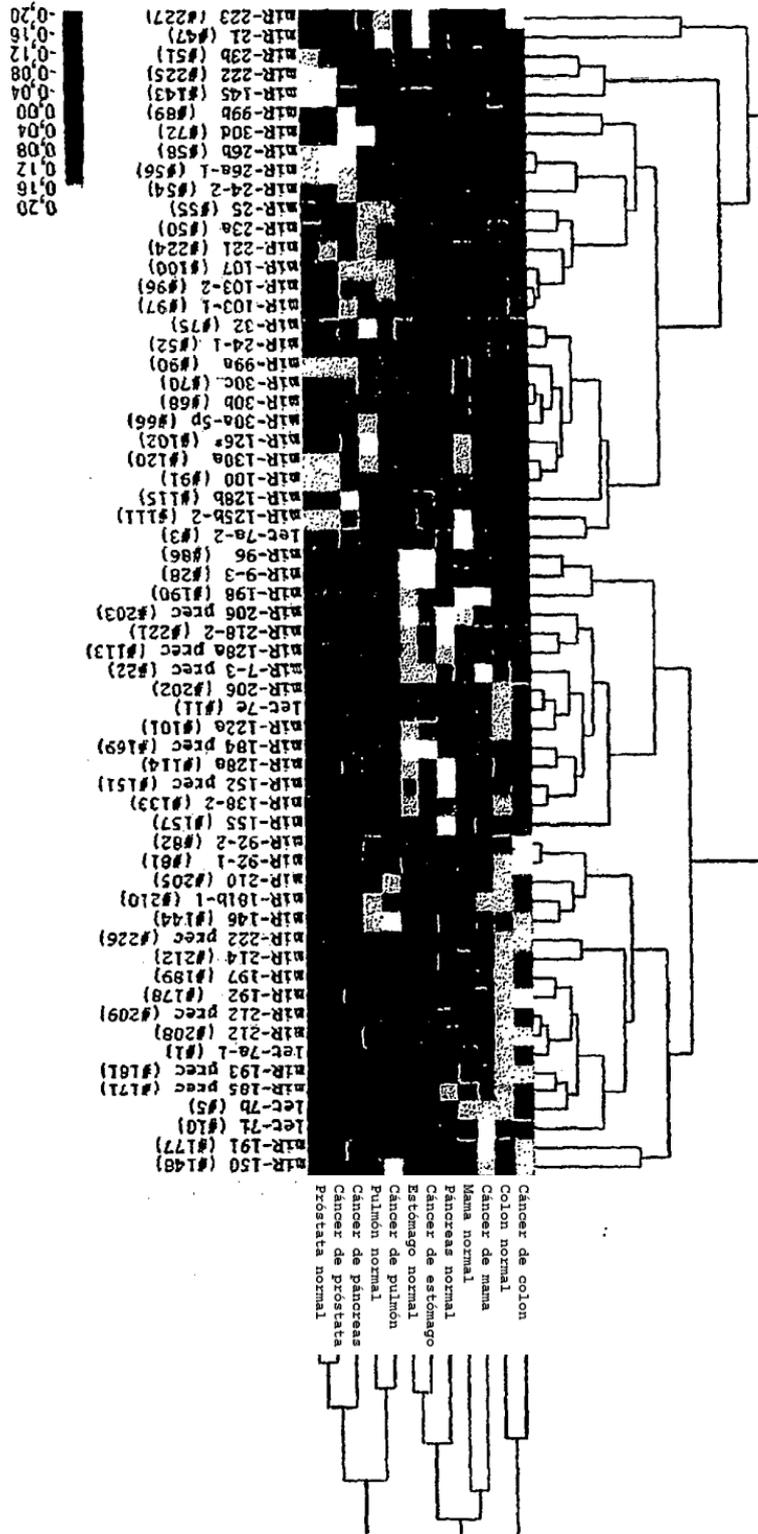


FIG. 3

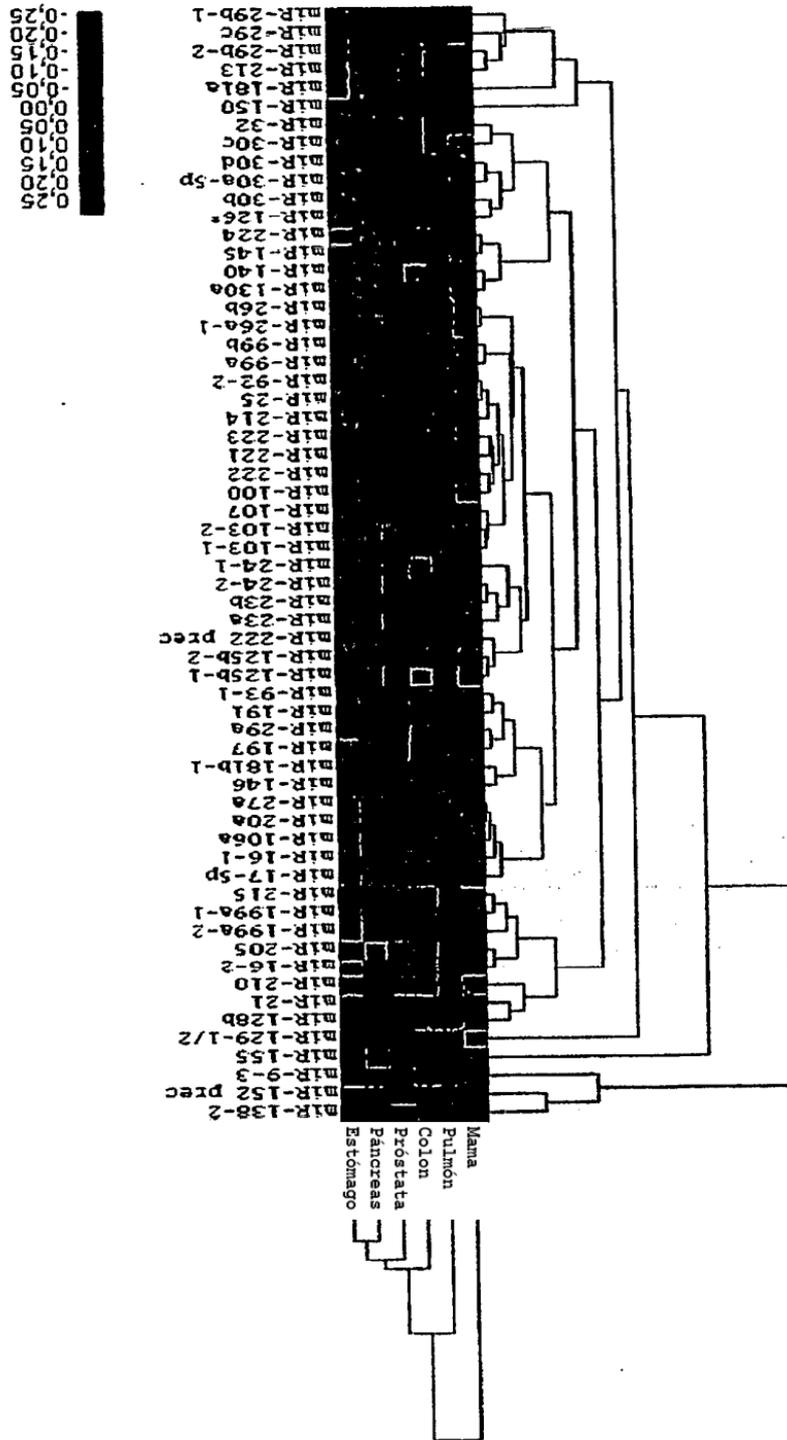


FIG. 4

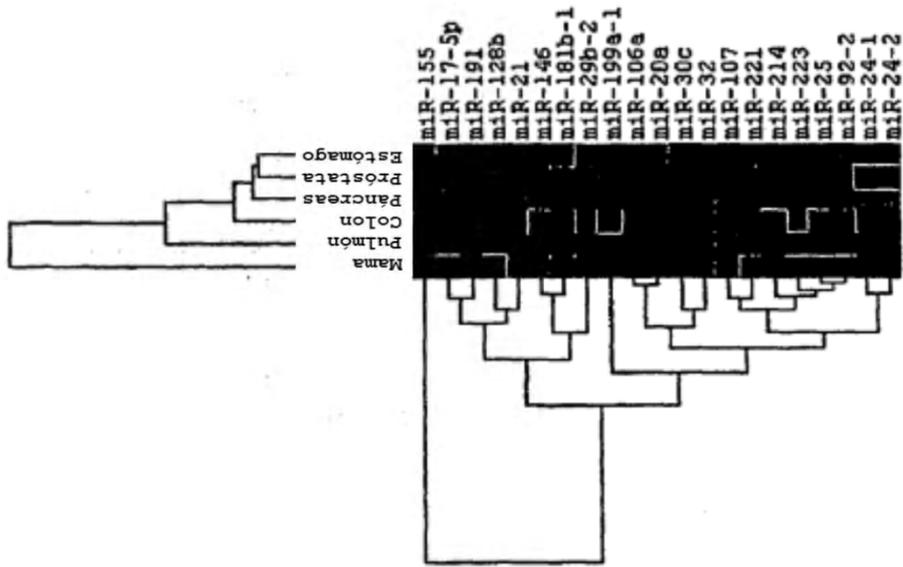


FIG. 5

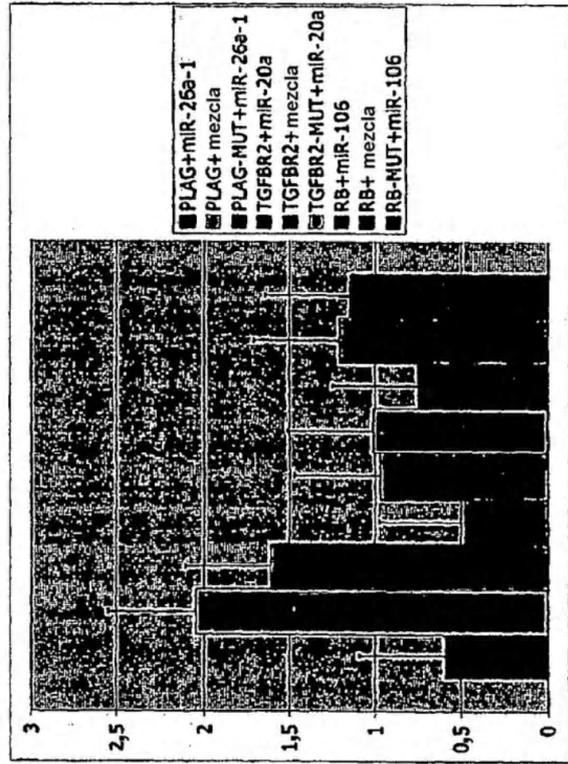
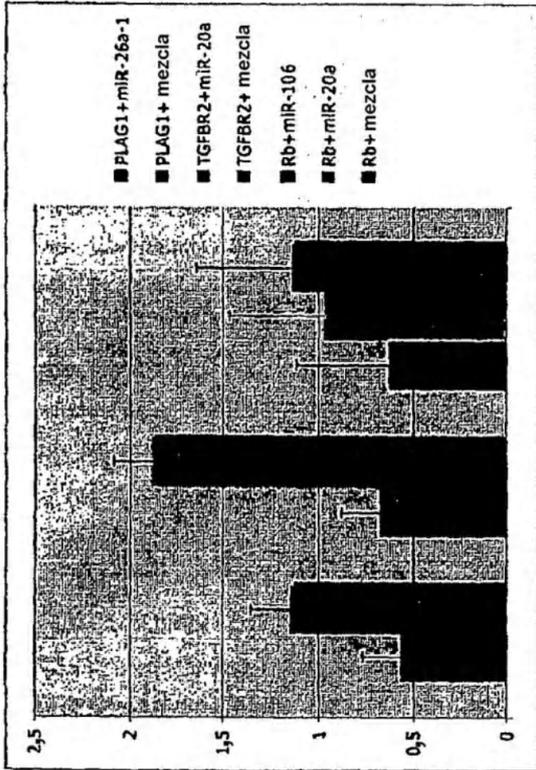


FIG. 6A

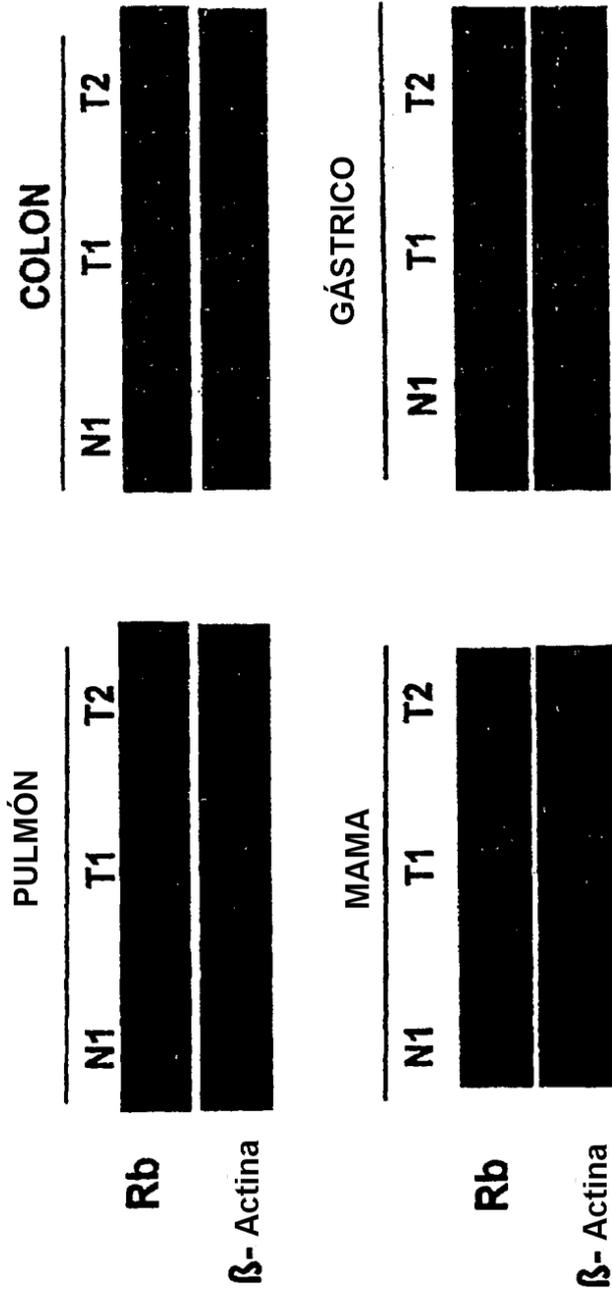


FIG. 6B

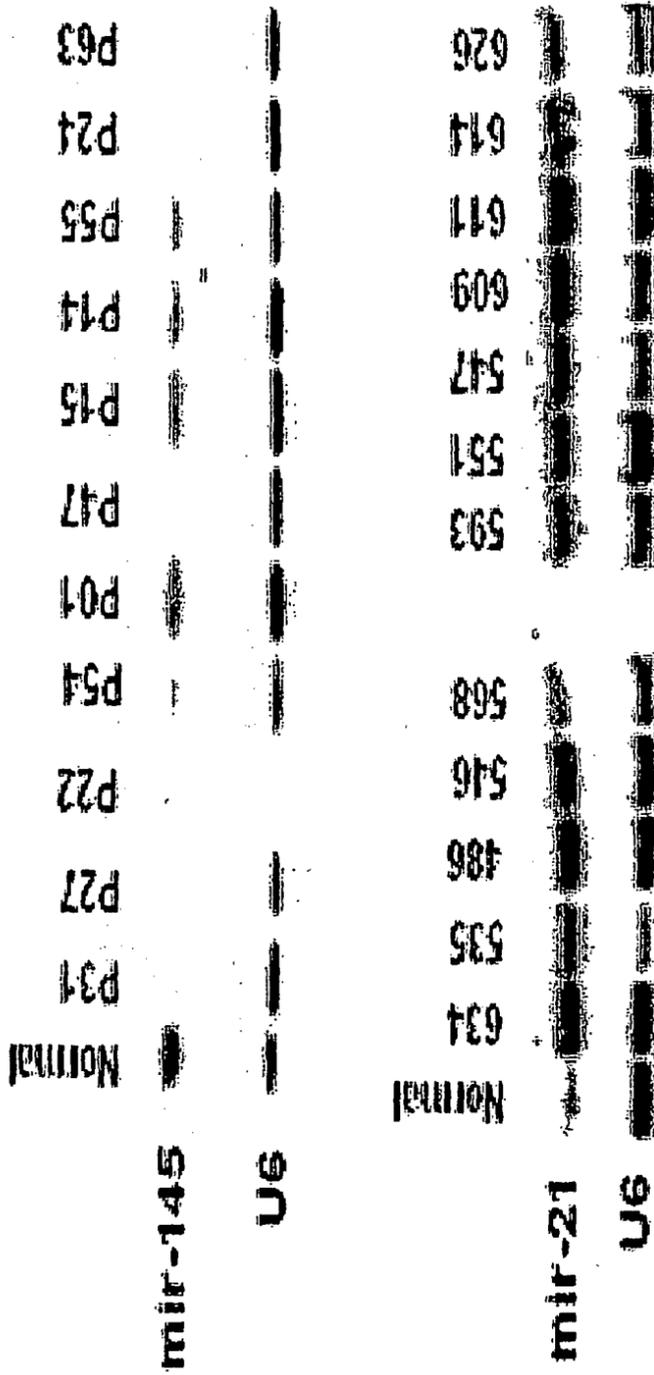


FIG. 7

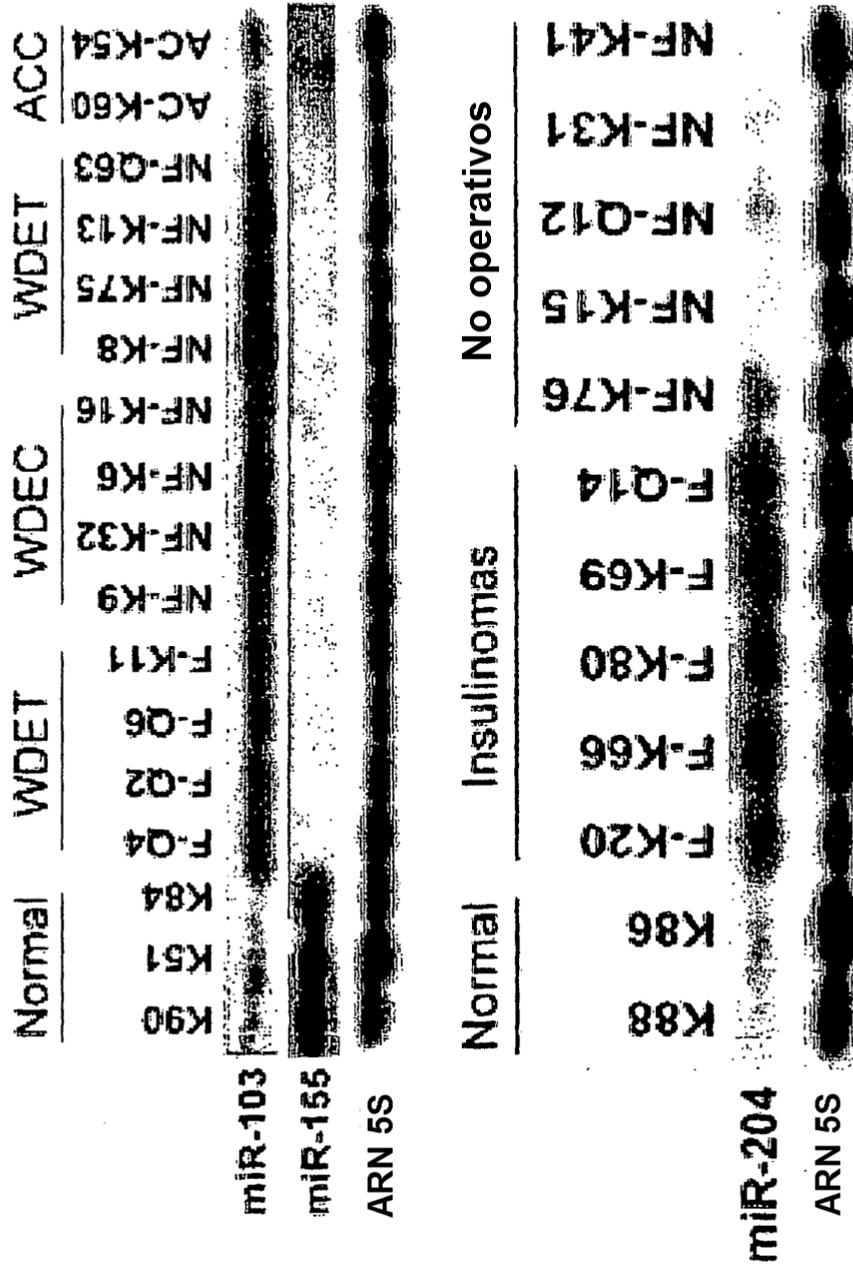


FIG. 8