

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 490 995**

(51) Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2007 E 12154304 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.05.2014 EP 2479285**

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

(30) Prioridad:

05.01.2006 US 756585 P

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

04.09.2014

(73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

**CROCE, CARLO M.;
CALIN, GEORGE A. y
VOLINIA, STEFANO**

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 490 995 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 el tratamiento de cánceres sólidos

5 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 10 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.

Por ejemplo, el cáncer de próstata es el tumor maligno no cutáneo diagnosticado más frecuentemente entre 15 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.*, Endocrinoloy 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 20 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 metástasis de la próstata, el cáncer de próstata es típicamente una enfermedad letal con tasas de curación bajas. Aunque la exploración basada en antígeno 25 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.

El cáncer de mama sigue siendo la segunda causa principal de muertes relacionadas con cáncer en mujeres, 30 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. 35 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 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 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 55 síntomas para algunos pacientes con cáncer pancreático avanzado, pero su impacto en la supervivencia ha sido moderado hasta la fecha.

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 60 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.

65 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 relacionadas con cáncer de pulmón están aumentando rápidamente también en los países en desarrollo.

- 5 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 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.
- 10 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 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.
- 15 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 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
- 20 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)).
- 25 El documento WO 2005/118806 desvela métodos y composiciones para aislar, enriquecer y/o marcar moléculas de miARN y para preparar y usar matrices y 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.
- 30 Iorio *et al.* Cancer Res. 2005 Aug 15;65(16):7065-70 desvela que la expresión aberrante de miARN puede estar implicada en enfermedades humanas, incluyendo cáncer. Además Iorio *et al.* muestran que los miARN se expresan de forma aberrante en cáncer de mama humano y que la expresión de miARN podría usarse para separar los tejidos normales de los tejidos cancerosos, siendo los miARN más significativamente desregulados mir-125b, mir-145, mir-21 y mir-155.
- 35 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 pancreático). La presente invención proporciona nuevos métodos para el diagnóstico y tratamiento de cánceres sólidos. También se desvelan composiciones para el diagnóstico y tratamiento de cánceres sólidos.
- 40 **Compendio de la invención**
- 45 La presente invención se basa, en parte, en la identificación de miARN específicos que tienen niveles de expresión alterados en cánceres sólidos particulares.
- 50 En consecuencia, la invención abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer sólido. De acuerdo con los métodos de la invención, el nivel de al menos un primer producto génico de miR-29b-2 en una muestra de ensayo del sujeto se compara con el nivel del 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 del producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer sólido. El cáncer sólido puede ser cáncer pancreático o cáncer de colon.
- 55 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 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-
- 60
- 65

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.

5 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.

10 También se desvelan 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.

15 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-126b-1, miR-125b-2, miR-145, 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, miR-210, miR-122a, miR-16-2 y combinaciones de los mismos.

20 20 En una realización, el miR-29b-2 y al menos un producto génico de miR adicional seleccionado del grupo que consiste en miR-24-1, 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 se usa para diagnosticar cáncer de colon.

25 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-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.

30 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, miR-204 y combinaciones de los mismos.

35 35 En otra realización, el miR-29b-2 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-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-106a, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos se usa para diagnosticar cáncer pancreático.

40 45 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.

50 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.

55 60 El nivel del al menos un producto génico de miR puede medirse usando una diversidad de 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 un primer producto génico de miR-29b-2 se mide por transcripción inversa de al menos ARN de miR-29b-2 de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de miR-29b-2, hibridando el oligodesoxinucleótido diana con una micromatriz 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. Una alteración en la señal de al menos un primer producto génico de miR-29b-2 en la muestra de ensayo en relación con la muestra de control es indicativa de que el

5 sujeto tiene un cáncer sólido. Los oligonucleótidos diana pueden hibridarse con una micromatriz 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.

10 La presente divulgación también abarca métodos para inhibir tumorogénesis 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 inhibía 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.

15 25 Los métodos para inhibir la tumorogénesis 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.

20 30 35 40 45 50 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.

55 60 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.

65 60 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.

5 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, 10 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

15 El archivo de patente o 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.

20 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.

25 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.

30 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.

35 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.

40 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.

45 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 representación relativa de expresión de 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).

50 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.

55 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.

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 de la invención

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.

Como se usa en la presente memoria de forma intercambiable un “producto génico de miR”, “microARN”, “miR” o “miARN” se refiere al transcripto 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 transcripto génico de miR no procesado también se denomina un “precursor de miR” o “miR prec” y típicamente comprende un transcripto 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 transcripto génico de miR “procesado” o miARN “maduro”.

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.

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 Nº
<i>let-7a-1</i>	CACUGUGG <u>AUGAGGUAGGUAGGU</u> UAGUUAGGUUUAGGGUCAC ACCCACCACUGGGAGAUAACUAUACAAUCUACUGUCUUCCU AACGUG	1
<i>let-7a-2</i>	AGGU <u>UAGGUAGGUAGGU</u> UAGUUAGGUAAUACAUCAAG GGAGAUAAACUGUACAGCCUCCUAGCUUUCCU	2
<i>let-7a-3</i>	GGG <u>UAGGUAGGUAGGU</u> UAGGUUUAGGGCUCUGCCCUGCU AUGGGAUAAACUAUACAAUCUACUGUCUUCCU	3
<i>let-7a-4</i>	GUGACUGCAUGCUC <u>CCAGGUUGAGGUAGGUAGGU</u> UAGGUUU UAGAAUUACACAAGGGAGAUAACUGUACAGCCUCCUAGCUUU CCUUGGGCUJUGCACUAAACAAAC	4
<i>let-7b</i>	GGCGGG <u>UAGGUAGGUAGGU</u> UUGUGUGGUUCAGGGCAGUGA UGUUGCCCCUCGGAAGAUACUAUACAACCUACUGCCUUC UG	5
<i>let-7c</i>	GCAUCCGG <u>UUGAGGUAGGUAGGU</u> UUGGUUUAGAGGUAC CCCUGGGAGUAAACUGUACAACCUUCUAGCUUUCCUUGGAGC	6

<i>let-7d</i>	CCUAGGA <u>AAGAGGUAGUAGGUUGCAUAGU</u> UUUAGGGCAGGGAU UUUGCCCACAAGGAGGUACUAUACGACCUGCUGCUCUUUCUU AGG	7
<i>let-7d-v1</i>	CUAGGA <u>AAGAGGUAGUAGU</u> UUGCAUAGUUUAGGGCAAAGAU UUUGCCCACAAGUAGU <u>JUAGCUAUACGACCUGCAGCCU</u> UUGU AG	8
<i>let-7d-v2</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGU <u>CGGGUUGUGAC</u> UUGCCC <u>GC</u> CUGUGGAGAUA <u>ACUGCGCAAGCUACUGCCU</u> UUGCUA G	9
<i>let-7e</i>	CCCGGG <u>CUGAGGUAGGAGGU</u> UUGUA <u>UAGU</u> UUGAGGAGGACACCC AAGGAGAU <u>CACUAUACGGCCUCCUAGC</u> UUUCCCCAGG	10
<i>let-7f-1</i>	UCAGAG <u>GUGAGGUAGUAGAU</u> UUGUA <u>UAGU</u> UUGUGGGGUAGUGAU UUUACCC <u>CUGUUCAGGAGAU</u> ACUA <u>UACAAU</u> CUAUUGCCUCC CUGA	11
<i>let-7f-2-1</i>	CUGUGGG <u>AUGAGGUAGUAGAU</u> UUGUA <u>UAGU</u> UUGUGGGGUAGUG AUUUUACCC <u>CUGUUCAGGAGAU</u> ACUA <u>UACAAU</u> CUAUUGCCU CCCUGA	12
<i>let-7f-2-2</i>	CUGUGGG <u>AUGAGGUAGUAGAU</u> UUGUA <u>UAGU</u> UUUAGGGUCAUA CCCC <u>CAUCU</u> UUGGAGAU <u>ACUAUACAGUCUACUGUC</u> UUUCCCAC GG	13
<i>let-7g</i>	UUGCCUGAU <u>UCCAGGCUGAGGUAGUAGU</u> GUACAGU <u>JUJUGAG</u> GGUCUA <u>UGAUACCACCCGGUACAGGAGAU</u> ACUGU <u>ACAGGCC</u> ACUGCCU <u>UAGCCAGGAACAGCGCGC</u>	14
<i>let-7i</i>	CUGGCUGAGGUAGU <u>AGU</u> UUGUGCUGUUGGU <u>CGGGUUGUGAC</u> UUGCCC <u>GC</u> CUGUGGAGAU <u>ACUGCGCAAGCUACUGCCU</u> UUGCUA G	15
<i>miR-1b-1-1</i>	ACCUACUCAGAGUACAUACUUCUUUAUGU <u>ACCCAUAUGAAC</u> UACAA <u>UGC</u> UA <u>UGGAAUGUA</u> <u>AAGAAGUAUGUA</u> UUUUGGUAG GC	16
<i>miR-1b-1-2</i>	CAGCUAACAUAGUAAUACCUACUCAGAGUACAUACUUC UUAUGU <u>ACCCAUAUGAACAUACAAUGCUA</u> <u>UGGAAUGUA</u> <u>AAGA</u> <u>AGUAUGUA</u> UUUJUGGUAGGCAUA	17
<i>miR-1b-1-2</i>	GCCUGCUUGGGAAACAUACUUCUUUAUGCCCAUAUGGACC UGC <u>UAAGCUA</u> <u>UGGAAUGUA</u> <u>AAGAAGUAUGUA</u> U <u>CUCAGGCCGG</u> G	18

<i>miR-1b</i>	UGGGAAACAUACUUCUUUAUAUGCCCAUAU <u>GACCUGCUAAG</u> CUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCA	19
<i>miR-1d</i>	ACCUACUCAGAGUACAUACUUCUUUAUGUAC <u>CCAUAGAAC</u> UACAAUGCUAUG <u>GAAGUAAAGAAGUAUGUAUUUUGGUAG</u> GC	20
<i>miR-7-1a</i>	UGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUG <u>UGGAAGACUAGUGAUUUUGU</u> <u>UGUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAACAAUCACAGUCUGCCA</u> UAUGGCACAGGCCAUGCUCUACAC	21
<i>miR-7-16</i>	UUGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUG <u>UGGAAGACUAGUGAUUUUG</u> <u>UGUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAACAAUCACAGUCUGCC</u> AUAUGGCACAGGCCAUGCUCUACAG	22
<i>miR-7-2</i>	CUGGAUACAGAGUGGACCGGCUGGCC <u>ACUGGAAGACUAG</u> <u>UGAUUUUGUUGUUGUCUUACUGCGCUACAACAACAAUCCCAG</u> UCUACCUAAUGGUGCCAGGCCAUCGCA	23
<i>miR-7-3</i>	AGAUUAGAGUGGCUGUGGU <u>CUAGUGCUGUGUGGAAGACUAGU</u> <u>GAUUUUGUUGUUCUGAUGUACUACGACAACAAGUCACAGCCG</u> GCCUCAUAGCGCAGACUCCUUCGAC	24
<i>miR-9-1</i>	CGGGGUUGGUUGUUA <u>UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGG</u> UGUGGAGUCU <u>UCAAAAGCUAGAUAAACC</u> GAAGUAAAAAUAA CCCCA	25
<i>miR-9-2</i>	GGAAGCGAGUUGUUA <u>UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGU</u> AUUGGUCU <u>UCAAAAGCUAGAUAAACC</u> GAAGUAAAAACUCCU UCA	26
<i>miR-9-3</i>	GGAGGCCGUUUCUC <u>UUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGC</u> CACAGAGCCGU <u>UCAAAAGCUAGAUAAACC</u> GAAGUAGAAAUGA UUCUCA	27
<i>miR-10a</i>	GAUCUGUCUGCUUCUGUA <u>UAAUACCCUGUAGAUCCGAAUUUG</u> <u>UGUAAGGAAUUUUGUGGU</u> CACAA <u>UUCGU</u> AUCUAGGGGAUA UGUAGUUGACAUAAACACUCCGCUCU	28
<i>miR-10b</i>	CCAGAGGUUGUACGUUGUCU <u>UAAUACCCUGUAGAACCGA</u> <u>AUUUGUGGU</u> AUCCGU <u>UAGUCACAGAUUCGAUUCUAGGGG</u> AAUUAU <u>AUGGUCGAUGCAA</u> AAACUUC	29
<i>miR-15a-2</i>	GCGC <u>GA AUG GUG GUU UAAAAA</u> AAACCUU <u>JUGGAGUAAAG</u> <u>UAGCAGCACAUAAUGGUJUUGUGGU</u> UJUGAAAAGGUGGCAGGC CAU <u>AUUGGUCUGCCU</u> AAAAAUAC	30

<i>miR-15a</i>	CCUUGGAGUAAAGUAGCAGCACAU <u>AUGGUUUGG</u> AUUUG AAAAGGUGCAGGCCAU <u>UUGUGC</u> UCUCAAAA <u>UACAAG</u> G	31
<i>miR-15b-1</i>	CUG <u>UAGCAGCACAUCAU<u>CAUGGUUAC</u>AUGCUACAGU</u> CAAGAUGC GAAUCAUU <u>AUJUGCUGCU</u> UAG	32
<i>miR-15b-2</i>	UUGAGGCCUAAAGUACUG <u>UAGCAGCACAUCAU<u>CAUGGUUAC</u>AU</u> GCUACAGUCAAGAUGCGAA <u>UCAUUAUJUGCUGCU</u> AGAAA UUAAGGAAAUCAU	33
<i>miR-16-1</i>	GUCAGCAGUGCCU <u>UAGCAGCACGUAAAU<u>UUGGC</u>UUAAGAU</u> UCUAAAA <u>UAUCUCCAGUAAUACUGUGCUGCU</u> GAAGUAGG UUGAC	34
<i>miR-16-2</i>	GUUCCACUCU <u>AGCAGCACGUAAAU<u>UUGGC</u>UAGUGAAAU</u> AU <u>AUUAAACACCAA<u>UACUGUGCUGCU</u>UAGUGUGAC</u>	35
<i>miR-16-13</i>	GCAGUGCCU <u>UAGCAGCACGUAAAU<u>UUGGC</u>UAGAUUCUA</u> AAA <u>UUAUCUCCAGUAAUACUGUGCUGCU</u> GAAGUAGGU	36
<i>miR-17</i>	GUCAGAA <u>UAUGUCAAA<u>AGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAU</u>AU</u> GUGCAUCUACUG <u>CAGUGAAGGCACUUGUAGCAUAU<u>AUGGUGAC</u></u>	37
<i>miR-18</i>	UGUUCUA <u>AGGUGCAUCUAGUGCAGAU<u>AGUGAAGUAGAU</u>UAGC</u> AUCUACUG <u>CCC<u>CUAAGUGCUCCUUCUGGCA</u></u>	38
<i>miR-18-13</i>	UUUUUGUUCUA <u>AGGUGCAUCUAGUGCAGAU<u>AGUGAAGUAGAU</u></u> UAGCAUCUACUG <u>CCC<u>CUAAGUGCUCCUUCUGGCAUAAGAA</u></u>	39
<i>miR-19a</i>	GCAGUCCUCUGUU <u>AGU<u>UUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAA</u></u> UGUAGUUGUGCAA <u>AUCUAUGCAA<u>ACUGAUGGUGGCCUGC</u></u>	40
<i>miR-19a-13</i>	CAGUCCUCUGUU <u>AGU<u>UUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAAU</u></u> GUAGUUGUGCAA <u>AUCUAUGCAA<u>ACUGAUGGUGGCCUG</u></u>	41
<i>miR-19b-1</i>	CACUGUUCUA <u>UGGUAGU<u>UUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUG</u></u> UGAU <u>AUUCUGCUGUGCAA<u>UCCAUGCAA<u>ACUGACUGUGGU</u>A</u></u> GUG	42

<i>miR-19b-2</i>	ACAUUGCUACUUACAAUAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGC GUUAUAUGUAUAUGUGGCUGUGCAA <u>UCC AUGCAAAACUGA</u> UUGUGAUAAUGU	43
<i>miR-19b-13</i>	UUCUAUGGUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUGUGAU UUCUGCUGUGCAA <u>UCC AUGCAAACUGACUGUGGUAG</u>	44
<i>miR-19b-X</i>	UUACAAUAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGCGUAAUAAUGU AUAUGUGGCUGUGCAA <u>UCC AUGCAAACUGAUUGUGAU</u>	45
<i>miR-20 (miR-20a)</i>	GUAGCACUA <u>AAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUUAGUUAUC</u> UACUGCAUUAUGAGCACUUAAGUACUGC	46
<i>miR-21</i>	UGUCGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCA UGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA	47
<i>miR-21-17</i>	ACCUUGUCGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAU CUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACAUUUUG	48
<i>miR-22</i>	GGCUGAGCCGCAGUAGUUCUUCAGUGGCAAGCUUUAUGUCCU GACCCAGCUAAAGCUGCCAGUAGAACUGUUGCCCUCUGC C	49
<i>miR-23a</i>	GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUGUCAC <u>AAAUCACAUUGCCAGGGAUUUCCAACCGACC</u>	50
<i>miR-23b</i>	CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGUUCCUGGCAUGCUGAUUUG UGACUUAAGAUAAA <u>ACACAUUGCCAGGGAUUACCACGCAA</u> CCACGACCUUGGC	51
<i>miR-23-19</i>	CCACGGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUG UCACAAAUCACAUUGCCAGGGAUUUCCAACCGACCCUGA	52
<i>miR-24-1</i>	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUACAGUUCUCAUUUACACA CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	53
<i>miR-24-2</i>	CUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGUUGGUUUG UGUACACUGGCCAGUUCAGCAGGAACAGGG	54

<i>miR-24-19</i>	CCCUGGGCUCUGCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGU UGGUUJUGUGUACAC <u>CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGGG</u>	55
<i>miR-24-9</i>	CCCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUAUCAGUUCUCAUUUACA CACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGCAUC	56
<i>miR-25</i>	GGCCAGUGUUGAGAGGCGGAGACUUGGGCAAUUGCUGGACGC UGCCCUGGGCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACAGUGCCGGCC	57
<i>miR-26a</i>	AGGCCGUGGCCUCGUUCAAGUAUCCAGGAUAGGCUGUGCAG GUCCCAAUGGCCUAUCUUGGUACUUGCACGGGGACGCCGGC CU	58
<i>miR-26a-1</i>	GUGGCCUCGUUCAAGUAUCCAGGAUAGGCUGUGCAGGUCCC AAUGGGCCUAUUCUUGGUACUUGCACGGGGACGC	59
<i>miR-26a-2</i>	GGCUGUGGCUGGAUUCAGUAAUCCAGGAUAGGCUGGUUCCA UCUGUGAGGCCAUUCUUGAUUACUUGUUUCUGGAGGCAGCU	60
<i>miR-26b</i>	CCGGGACCCAGUCAAGUAUUCAGGAUAGGUUGUGUGCUGU CCAGCCUGUUCUCCAUUACUUGGCUCGGGGACCGG	61
<i>miR-27a</i>	CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACC AAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGGCCCCCAG	62
<i>miR-27b-1</i>	AGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAGUGAUUGGUUCC GCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACC	63
<i>miR-27b-2</i>	ACCUCUCUAACAAGGUGCAGAGCUCUAGCUGAUUGGUGAACAG UGAUUGGUUUCCGCUUJGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACC UGAAGAGAAGGUG	64
<i>miR-27-19</i>	CCUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACAC CAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGGCCCCCAGG	65
<i>miR-28</i>	GGUCCUUGCCCUCAAGGAGCUCACAGUCUAUUGAGUUACUU UCUGACUUJUCCCACUAGAUUGUGAGCUCUCCUGGAGGGCAGGCA CU	66

<i>miR-29a-2</i>	CCUUCUGUGACCCUUAGAGGAUGACUGAUUUCUUUGGUGU UCAGAGUCAAUAUAAUJUUCUAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA UAAUGAUUGGGGAAGAGCACCAUG	67
<i>miR-29a</i>	AUGACUGAUUUCUUUGGUGUUCAGAGUCAAUAUAAU <u>UUCU</u> AGCACCAUCUGAAAUCGGUUAU	68
<i>miR-29b-1</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUAUGGUGGUUUAGAUUUAAAAG UGAUUGUC <u>UAGCACCAUUUGAAAUCAGGUUUCUUGGGGG</u>	69
<i>miR-29b-2</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGUUAGAUUUUCCAU CUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGGUUUUAGGAG	70
<i>miR-29c</i>	ACCACUGGCCAUCUUACACAGGCUGACCGAUUUCUCCUG GUGUUCAGAGUCUGUUUUUGCUAGCACCAUUUGAAAUCGGU <u>UAUGAUGUAGGGGGAAAAGCAGCAGC</u>	71
<i>miR-30a</i>	GCGACUGUAACAUCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCACAGA UGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGC	72
<i>miR-30b-1</i>	<u>AUGUAAACAUCCUACACUCAGCUGUAUACAUGGAUUGGCUG</u> GGAGGUGGAUGUUUACGU	73
<i>miR-30b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUCAUGUAAACAUCCUACACUCAGCUGUAA UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGUUACUUCAGCUGACU UGGA	74
<i>miR-30c</i>	AGAUACUGUAACAUCCUACACUCUCAGCUGUGGAAAGUAAG AAAGCUGGGAGAAGGCUGUUUACUCUUUCU	75
<i>miR-30d</i>	GUUGU <u>UAAACAUCCCCGACUGGAAGCUGUAAGACACAGCU</u> AAGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC	76
<i>miR-30e</i>	<u>CUGUAAACAUCCUUGACUGGAAGCUGUAAGGUGUUCAGAGGA</u> GCUUUCAGUCGGAUGUUUACAG	77
<i>miR-31</i>	GGAGAGGAGGCAAGAUGCUGGCAUAGCUGUUGAACUGGGAAC CUGCUAUGCCAACAUAUUGCCAUCUUUCC	78

<i>miR-32</i>	GGAGAU <u>AUUGCACAUUACUAAGUUGCAUGUUGUCACGCCUC</u> AAUGCAAUUUAGUGUGUGU <u>GAUAUUUUC</u>	79
<i>miR-33b</i>	GGGGGCCGAGAGAGGGCGGGCGGCCCGCG <u>GUGCAUUGCUGUU</u> <u>GCAUUGCACGUGUGUGAGGCAGGGUGCAGUGCUCGGCAGUGC</u> AGCCCGGAGCCGGCCCCUGGCACACCAC	80
<i>miR-33b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUU <u>CAUGUAAAACAUCCUACACUCAGCUGUAA</u> UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	81
<i>miR-33</i>	CUGUGGUG <u>CAJUGUAGUUGCAUUGCAUGUUCUGGUGGUACCC</u> AUGCAA <u>UGUUUCCACAGUGCAUCACAG</u>	82
<i>miR-34-a</i>	GGCCAGCUGUGAGGU <u>UUCUUUGGCAGUGCUUAGCUGGUUG</u> <u>UGUGAGCAAUAGUAAGGAAGCAAUCAGCAAGUAUACUGCCC</u> UAGAAC <u>UGUGCUGCACGUUGUGGGGCC</u>	83
<i>miR-34-b</i>	GUGCUCGGU <u>JUGUAGGCAGUGUCAUUAGCUGAUUGUACUGUG</u> GUGGU <u>UACAAUCACUAACUCCACUGCCAUCAAAACAAGGCAC</u>	84
<i>miR-34-c</i>	AGUCUAGUU <u>ACUAGGCAGUGUAGUAGCUGAUUGCUAAUAGU</u> ACCA <u>UACUAACCACACGCCAGGUAAAAAGAUU</u>	85
<i>miR-91-13</i>	UCAGAA <u>UAAUGUCAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGUAUAG</u> UGCAUCU <u>ACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGA</u>	86
<i>miR-92-1</i>	CUUUCUACACAGGUUGGGAU <u>CGGUUGCAAUGCUGUUCUG</u> UAUGGU <u>AUUGCACUUGUCCCGGCCUGUUGAGUUJUGG</u>	87
<i>miR-92-2</i>	UCAU <u>CCCUGGGUGGGAUUUGUUGCAUUAUUCUGUUCUAUA</u> UAAAG <u>GUAUUGCACUUGUCCCGGCCUGUGGAAGA</u>	88
<i>miR-93-1</i> (<i>miR-93-2</i>)	CUGGGGGCU <u>CCAAGUGCUGUUCUGCAGGUAGUGUGAUUAC</u> CCAACCU <u>UACUGCUGAGCUAGCACUUCGGAGCCCCCGG</u>	89
<i>miR-95-4</i>	AACACAGUGGGCACU <u>AAUAAAUGUCUGUUGAAUUGAAUUGC</u> GUUACAU <u>UCAACGGGUAUUUAUUGAGCACCCACUCUGUG</u>	90

<i>miR-96-7</i>	UGGCCGAUU <u>UUGGCACUAGCACAUUUUGCUUGUGUCUCC</u> GCUCUGAGCAA <u>UCAUGUGCAGUGCCAUAUAGGGAAA</u>	91
<i>miR-97-6</i> (<i>miR-30*</i>)	GUGAGCGAC <u>UGUAAACAUCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCA</u> CAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGCCUACU	92
<i>miR-98</i>	<u>GUGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUUGUGGGUAGGGAUUUAG</u> GCCCAAUUAGAAGAUACUAUACAACUUACUACUUUCC	93
<i>miR-99b</i>	GGCACCCACCCGUAGAACCGACCUUGCGGGCCUUCGCCGCAC ACAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCGUGUC	94
<i>miR-99a</i>	CCCAUUGGCAUA <u>AAACCGUAGAUCCGAUCUUGUGGUAGUG</u> GACCGCACAAGCUCGUUCUAUGGGUCUGUCAGUGUG	95
<i>miR-100-1/2</i>	AAGAGAGAAGAUAUUGAGGCCUGUUGCCACAA <u>ACCCGUAGAU</u> <u>CCGAACUUGUGGUAUUAGUCCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGG</u> UAUGUGUCUGUUAGGCAAUCUCAC	96
<i>miR-100-11</i>	CCUGUUGCCACAA <u>ACCCGUAGAUCCGAACUUGUGGUAUUAGU</u> CCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGGU AUGUGUCUGUUAGG	97
<i>miR-101-1 /2</i>	AGGCUGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCGUGAUGCUGUCUAU UCUAAAGGU <u>ACAGUACUGUGUAACUGAAGGAUGGCAGCCAU</u> CUUACCUUCCAUCAGAGGAGCCUCAC	98
<i>miR-101</i>	UCAGUUAU <u>CACAGUGCGUGAUGCUGUCCAUUCUAAAGGUACAG</u> <u>UACUGUGUAACUGA</u>	99
<i>miR-107-1</i>	UGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCGUGAUGCUGUCUAUUCUA AAGGUACAGUACUGUGUAACUGAAGGAUGGCA	100
<i>miR-101-2</i>	ACUGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUACU GAAAGGUACAGUACUGUGUAACUGAAGAAUGGUGGU	101
<i>miR-101-9</i>	UGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUACUGA <u>AAGGUACAGUACUGUGUAACUGAAGAAUGGUG</u>	102

<i>miR-102-1</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCCUAGAUUUUCCAU CUUUGUAUCUAGCACCAUUJUGAAAUCAGUGUUUJAGGAG	103
<i>miR-102-7.1</i> (<i>miR-102-7.2</i>)	CUUCAGGAAGCUGGUUCAUAUGGUGGUUAGAUUUAAUAG UGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGGG	104
<i>miR-103-2</i>	UUGUGCUUCAGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUAGCAUCA GGUCAAGCAACAUUGUACAGGGCUAUGAAAGAACCA	105
<i>miR-103-1</i>	UACUGCCCUCGGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUUGCAUAUG GAUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGAAGGCAUUG	106
<i>miR-104-17</i>	AAAUGUCAGACAGCCAUCGACUGGUGUUGCCAUGAGAUUCA ACAGUCAACAUCAUCAGUCUGAUAGCUACCCGACAAGG	107
<i>miR-105-1</i>	UGUGCAUC <u>GUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU</u> CAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUACGGUGUCUA	108
<i>miR-105-2</i>	UGUGCAUC <u>GUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU</u> UAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUAUGGUGUCUA	109
<i>miR-106-a</i>	CCUUGGCCAUG <u>UAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGC</u> UUUUUG AGAUCUACU <u>GCAAUUGUAAGCACUUCUACAUUACCAUGG</u>	110
<i>miR-106-b</i>	CCUGCCGGGG <u>CUAAAGUGCUGACAGUGCAGAUAGUGGUCCUC</u> UCCGUGCUACCGCACUGUGGGUACUUGCUGCUCCAGCAGG	111
<i>miR-107</i>	CUCUCUGCUUCAGCUUCUUACAGUGUUGCCUUGUGGCAUG GAGUUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCAAAGCACAGA	112
<i>miR-108-1-pequeño</i>	ACACUGCAAGAACAAUAGGAUUUUAGGGCAUUAUGACUG AGUCAGAAAACACAGCUGCCCCUGAAAGUCCCUCAUUUUCU UGCUGU	113
<i>miR-108-2-pequeño</i>	ACUGCAAGAGCAAUAAGGAUUUUAGGGCAUUAUGAUAGUG GAAUGGAAACACACU <u>GCCCCAAAAGUCCCUCAUUUJU</u>	114

<i>miR-122a-1</i>	CCUUAGCAGAGCUG <u>UGGGAGUGUGACA</u> AUGGUGUUJUGUGUCUA AACUAUCAAACGCCAUUAUCACACUAAAAGCUACUGCUAGG C	115
<i>miR-122a-2</i>	AGCUGUGGAGUGUGACA <u>AUGGUGUUJUGUGU</u> CCAACUAUCAA ACGCCAUUAUCACACUAAAAGCU	116
<i>miR-123</i>	<u>ACAUUAU</u> ACUUUGGUACGCGCUGUGACACUCAAACUCGU ACCGUGAGUA <u>AAUAAUGC</u> GC	117
<i>miR-124a-1</i>	AGGCCUCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAAUG UCCAUACAA <u>UAAGG</u> CACGCGGUGAAUG <u>CCAAG</u> AUGGGGU G	118
<i>miR-124a-2</i>	AUCAAGAUUAGAGGCUCUGCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCU UGAUUUAAUGUCAUACAA <u>UAAGG</u> CACGCGGUGAAUG <u>CCAAG</u> AGCGGAGCCUACGGCUGCACUUGAAG	119
<i>miR-124a-3</i>	UGAGGGCCCCUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAAUG UCUAUACAA <u>UAAGG</u> CACGCGGUGAAUG <u>CCAAG</u> GAGAGAGGCC UCC	120
<i>miR-124a</i>	CUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCUAUACAA UUAAGGCACGCGGUGAAUG <u>CCAAG</u> GAG	121
<i>miR-124b</i>	CUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCAUACAA <u>UAAGG</u> CACGCGGUGAAUG <u>CCAAG</u> GAG	122
<i>miR-125a-1</i>	UGCCAGUCUCA <u>AGGU</u> CCCUGAGACCCUUUAACCUGUGAGGAC AUCCAGGGUCACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGGCGUCUGG CC	123
<i>miR-125a-2</i>	<u>GGU</u> CCCUGAGACCCUUUAACCUGUGAGGACAUCCAGGGUCAC AGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGG	124
<i>miR-125b-1</i>	UGCGCUCCUCUCA <u>GU</u> CCCUGAGACCCUAACUUGUGAUGUUUA CCGUUUAAAUC <u>CA</u> GGGUAGGCUCUUGGGAGCUGCGAGUCG UGCU	125
<i>miR-125b-2</i>	ACCAGACUUUUCCUAG <u>GU</u> CCCUGAGACCCUAACUUGUGAGGUA UUUUAGUAACAUCAACAGUCAGGCUCUUGGGACCUAGGCGGA GGGGA	126

<i>miR-126-1</i>	CGCUGGCGACGGGACA <u>UUUUACUUUJUGGUACGCGCUGUGAC</u> ACUUCAAAC <u>UCGUACCGUGAGUAUA AUGCGCCGUCCACGGCA</u>	127
<i>miR-126-2</i>	<u>A</u> <u>CAAUUAAUACUUUJUGGUACGCGCUGUGACACUUCAAACUCGU</u> <u>ACCGUGAGUAUA AUGCGC</u>	128
<i>miR-127-1</i>	UGUGAUCACUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUG AUUCAGAAAGAU <u>CAUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG</u> AAGUCUCAUCAUC	129
<i>miR-127-2</i>	CCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAAAGAUCA UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG	130
<i>miR-128a</i>	UGAGCUGUJUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUU ACAUUUCU <u>CACAGUGAACCGGUCU</u> UUUCAGCUGCUUC	131
<i>miR-128b</i>	GCCCAGCCACUGUGCAGUGGGAGGGGGCCGAUACACU GUACGAGAGUGAGUAGCAGGUCU <u>CACAGUGAACCGGUCU</u> UU <u>UCCCUACUGUGUCACACUCCUAUGG</u>	132
<i>miR-128</i>	GUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUUACAUUU CUCACAGUGAACCGGUCU <u>UUUCAGC</u>	133
<i>miR-129-1</i>	UGGAUC <u>UUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGU</u> UCCUCUCAACAGU AGUCAGGAAGCCUUA <u>CCCCAAAAAGUAUCUA</u>	134
<i>miR-129-2</i>	UGCCCUUCGCGAAUC <u>UUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGU</u> ACAU AACUAAUAGCCGGAAGCCUUA <u>CCCCAAAAAGCAU</u> UUGCGG AGGGCG	135
<i>miR-130a</i>	UGCUGCUGGCCAGAGCUCUUUJCACAUJUGUGCUACUGUCUGC ACCUGUCACUAG <u>CAGUGCAAUGUAAAAGGGCAU</u> UGGCCGUG UAGUG	136
<i>miR-131-1</i>	GCCAGGAGGCGGGUUGGUUGUUAUCUUJUGGUUAUCUAGCUG UAUGAGUGGUGUGGAGUCUCA <u>AAAAGCUAGAU</u> AACCGAAAG <u>AAAAAAUAACCCAUACACUGCGCAG</u>	137
<i>miR-131-3</i>	CACGGCGCGGCA <u>GGCACUGGCUAAGGGAGGCCGUUUCUC</u> UCUUJUGGUUA <u>UAGCUGUAUGAGUGCCACAGAGCCGUCAUA</u> <u>AAGCUAGAU</u> AACCGAAAGUAGAAAUG	138

<i>miR-131</i>	GUUGUUAAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGUAUUGGUCU UCAUAAAGCUAGAUACCAGAAAGUAAAAAC	139
<i>miR-132-1</i>	CCGCCCGCGUCUCCAGGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUAC UGUGGAAACUGGAGGUACAGCUACAGCCAUGGUCGCCCG CAGCACGCCACGCGC	140
<i>miR-132-2</i>	GGGCAACCGUGGUUUCGAUUGUUACUGUGGGACUGGAGGU AACAGCUACAGCCAUGGUCGCC	141
<i>miR-133a-1</i>	ACAAUGCUIUGCAGAGCUGGUAAAUGGAACCAAUCGCCU CUUCAAUGGAA <u>UUGGUCCCCU</u> UCAACCAGCUGUAGCUAUGCA UUGA	142
<i>miR-133a-2</i>	GGGAGCCAAUUGCUIUGCAGAGCUGGUAAAUGGAACCAA UCGACUGUCCAAUGGA <u>UUGGUCCCCU</u> UCAACCAGCUGUAGC UGUGCAUUGAUGGCGCCG	143
<i>miR-133</i>	GCUAGAGCUGGUAAAUGGAACCAAUCGCCUUCUCAAUGGA UUUGGUCCCCUUCAACCAGCUGUAGC	144
<i>miR-133b</i>	CCUCAGAAGAAAGAUGCCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGA ACCAAGUCCGUCUCCUGAGAGGU <u>UUGGUCCCCU</u> UCAACCAG <u>CUACAGCAGGGCUGGCAAUGCCCAGUCCUUGGAGA</u>	145
<i>miR-133b-pequeño</i>	GCCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUCCGUCUCC UGAGAGGUUUGGUCCCCUUCAACCAGCUACAGCAGGG	146
<i>miR-134-1</i>	CAGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGCAUGCACUGGUU CACCCUGUGGCCACCUAGUCACCAACCCUC	147
<i>miR-134-2</i>	AGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGCAUGCACUGGUUC ACCCUGUGGCCACCUAGUCACCAACCCU	148
<i>miR-135a-1</i>	AGGCCUCGCUGUUCUCU <u>AUGGUUUUUAUUCCUAUGUGAUUC</u> UACUGCUCACUUAUAGGGAUUGGAGGCCUGGGCGCACGGCG GGGACA	149
<i>miR-135a-2</i> (<i>miR-135-2</i>)	AGAUAAAUCACCUAGUGCUUU <u>AUGGUUUUUAUUCCUAUG</u> <u>UGAUAGUAUAAAAGUCUCAUGUAGGGAUUGGAAGCCAUGAAAU</u> ACAUUGUGAAAAAUCA	150

<i>miR-135</i>	<u>CUAUGGCUUUUUAUCCUAUGUGAUUCUACUGCUCACUCAUA</u> UAGGGAUJUGGAGGCCGUUGG	151
<i>miR-135b</i>	CACUCUGCUGUGGCC <u>AUGGCCUUUCAUCCUAUGUGAUUGC</u> UGUCCCAAACUCAUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGGCUACAGUG AGGGCGAGCUCC	152
<i>miR-136-1</i>	UGAGCCCUCGGAGG <u>ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGAUUCUU</u> AUGCUCCAUCGUCUCAAAUGAGUCUUCAGAGGGUUCU	153
<i>miR-136-2</i>	GAGG <u>ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGAUUCUU</u> AUGCUCCAUC AUCGUCUCAAAUGAGUCUUC	154
<i>miR-137</i>	CUUCGGUGACGGUAUUCUUGGGUGGAUAAUACGGAUUACGU UGUUAUUGC <small>UUAAGAAUACGCGUAGUCGAGG</small>	155
<i>miR-138-1</i>	CCCUGG <u>CAUGGUGUGGGUGGGCAGCUGGUGUUGUGAAUCAGG</u> CCGUUGCCAAUCAGAGAACGGCUACUUCACAACACCAGGGCC ACACCACACUACAGG	156
<i>miR-138-2</i>	CGUUGCUG <u>CAGCUGGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCG</u> CAUCCUCUUACCCGGCUUUUCACGACACCAGGGUUGCAUCA	157
<i>miR-138</i>	<u>CAGCUGGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCGCAUCCUCU</u> UACCCGGCUUUUCACGACACCAGGGUUG	158
<i>miR-139</i>	GUGUAUUCUACAGUGCACGUGUCUCCAGUGUGGCUCGGAGGC UGGAGACGCGGCCCUUGUUGGAGUAAC	159
<i>miR-140</i>	UGUGUCUCUCUGUGUCCUGCC <u>AGUGGUUUUACCUAUGGU</u> <u>AGGUUACGUCAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCAACCGGAC</u> AGGAUACCGGGGCACC	160
<i>miR-140as</i>	UCCUGC <u>CAUGGUUUUACCUAUGGUAGGUACGUCAUGCUG</u> UUCUACCACAGGGUAGAACCAACGGACAGGA	161
<i>miR-140s</i>	CCUGCC <u>CAUGGUUUUACCUAUGGUAGGUACGUCAUGCUG</u> UCUACCACAGGGUAGAACCAACGGACAGG	162

<i>miR-141-1</i>	CGGCCGGCCCUGGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGU CUAAUJUGUGAAGCUCCUA <u>ACACUGUCUGGUAAAGAUGG</u> CUCC CGGGUGGGUUC	163
<i>miR-141-2</i>	GGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGU<u>CUAAUUGUGAA</u> GCUCCUA<u>ACACUGUCUGGUAAAGAUGG</u>CCC	164
<i>miR-142</i>	ACCCAUAAAGUAGAAAGCACUACUA<u>ACAGCACUGGAGGG</u><u>GUGU</u> <u>AGUGUUUCCUACUUUAUGGAUG</u>	165
<i>miR-143-1</i>	GCGCAGCGCCCUGUCUCCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUC UCUGGU <u>CAGUUGGGAGUCUGAGAAGCACUGUAGCUCAGG</u> AAGAGAGAAGUUGUUCUGCAGC	166
<i>miR-143-2</i>	CCUGAGGUGCAUG <u>GCUGCAUCUCUGGUAGUUGGGAGUCUGA</u> GAUGAAGCACUGUAGCUCAGG	167
<i>miR-144-1</i>	UGGGGCCUGGCUGGGAU <u>AUCAUCAUACUGUAAGU</u> UUGCG AUGAGACAC <u>UACAGUAUAGAUGUACUAGU</u> CCGGGCACCC CC	168
<i>miR-144-2</i>	GGCUGGGAU <u>AUCAUCAUACUGUAAGU</u> UUGCGAUGAGACAC UACAGUAUAGAUGUACUAGUC	169
<i>miR-145-1</i>	CACCUUGUCCUCAC <u>GGGUCCAGUUUUC</u> CCAGGA <u>AUCCCU</u> AGA UGCUAAGAUGGG <u>GAUCCUGGAA</u> ACUGUUCUUGAGGUCAU GGUU	170
<i>miR-145-2</i>	CUCACGGUCCAGUUUUC <u>CCAGGA</u> <u>AUCCCU</u> AGAUGCUAAGAU GGGAU <u>UCCUGGAA</u> ACUGUUCUUGAG	171
<i>miR-146-1</i>	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUU <u>JUGAGAACUGAA</u> UCCAU <u>GGGU</u> GUGUCAGUGUCAGACCUCUGAA <u>UUCAGU</u> UCUUCAGCUGGG UAUCUCUGUCAUCGU	172
<i>miR-146-2</i>	AGCUU <u>JUGAGAACUGAA</u> UCCAU <u>GGGU</u> U <u>JUGUGU</u> CA <u>JUGUCAGAC</u> CUGUGAA <u>UUCAGU</u> U <u>UCAGCU</u>	173
<i>miR-147</i>	AAUCUAAAGACA <u>ACAUUUCUG</u> CACACACCAGACUAUGGAA GCCAGUGUGUGGAAA <u>UGC</u> U <u>JUCUG</u> CUAGAUU	174

<i>miR-148a</i> (<i>miR-148</i>)	GAGGCAAAGUUCUGAGACACUCCGACUCUGAGUAUGAUAGAA GUCA <u>GUGCACUACAGAACUUU</u> JGUCUC	175
<i>miR-148b</i>	CAAGCACGAU <u>UAGCAUUU</u> UGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUC AGGCUGUGGCUCUCUGAAAG <u>UCAGUGCAUCACAGAACUUU</u> GU CUCGAAAGCUUUCUA	176
<i>miR-148b-pequeño</i>	AAGCACGAU <u>UAGCAUUU</u> UGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUCA GGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAU	177
<i>miR-149-1</i>	GCCGGCGCCGAGCUCUG <u>GUCCGUG</u> UUCACUCCGUGCUU GUCCGAGGAGGGAGGGAGGGACGGGGCUGUGCUGGGGCAGC UGGA	178
<i>miR-149-2</i>	<u>GCUCUGGCUCCGUG</u> UUCACUCCGUGCUUGUCCGAGGGAGG GAGGGAGGGAC	179
<i>miR-150-1</i>	CUC <u>CCC</u> CAUGGCCUGU <u>CUCCC</u> AACCCUUGUACCAGUG <u>GUCCG</u> UCAGACCCUGGUACAGGCCUGGGGACAGGGACCUGGGAC	180
<i>miR-150-2</i>	CCCUGUC <u>CCCCAACCC</u> UUGUACCAGUG <u>GUCCG</u> UCA <u>AGACCC</u> UG GUACAGGCCUGGGGACAGGG	181
<i>miR-151</i>	UUUCCUGCCCUCGAGGAGCUCACAGUCUAGUAUGUCUCAUCC <u>CCUACUAGACUGAAGCUCCUUGAGGACAGG</u>	182
<i>miR-151-2</i>	CCUGUCCUCAAGGAGCUUCAGUCUAGUAGGGGAUGAGACAUA CUAGACUGUGAGCUCCUCGAGGGCAGG	183
<i>miR-152-1</i>	UGUCCCCCCC <u>GGCCCAGGUUCUG</u> UACACUCCGACUCGGC UCUGGAGCAG <u>UCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCC</u> GGAAAGGA CC	184
<i>miR-152-2</i>	GGCCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGCUCUGGAGCA GUCA <u>GUGCAUGACAGAACUUGGGCCC</u> GG	185
<i>miR-153-1-1</i>	CUCACAGCUGCAGUGUCAUUUUGUGAUCUGCAGCUAGUAU UCUCACUCCAG <u>UUGCAUAGUCACAAAAGUGA</u> UCAUUGGCAGG UGUGGC	186

<i>miR-153-1-2</i>	UCUCUCUCUCCCUCACAGCUGCCAGUGUCA <u>UUGUCACAAAAG</u> <u>UGAUCAUUGGCAGGUGUGGCUGCUGCAUG</u>	187
<i>miR-153-2-1</i>	AGCGGUGGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAU AUGAGCCCAG <u>JUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGAAACU</u> GUG	188
<i>miR-153-2-2</i>	CAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAUAUGAGCCC GUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUG	189
<i>miR-154-1</i>	GUGGUACUUGAAG <u>AUGGUUAUCCGUGUJUGCCUUCGCUUUAU</u> UUGUGACGAAUCAUACACGGUUGACC <u>UUUUCAGUACCAA</u>	190
<i>miR-154-2</i>	<u>GAAGAUAGGUUAUCCGUGUJUGCCUUCGCUUUAUUUGUGACGA</u> AUCAUACACGGUUGACC <u>UUUUU</u>	191
<i>miR-155</i>	<u>CUGUJAAUGCUAAUCGUGAUAGGGUUUUUGCCUCCAACUGA</u> CUCCUACAUUUAGCAUUAACAG	192
<i>miR-156</i> <i>miR-157</i> = = <i>solapamiento</i> <i>con miR-141</i>	CCUAACACUGUCUGGUAAAGAUGGCUC <u>CCCGGGUGGGUUCU</u> CGGCAGUAACCUUCAGGGAG <u>CCCUGAAGACCAUGGAGGAC</u>	193
<i>miR-158-pequeño</i> = = <i>miR-192</i>	<u>GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACC</u> <u>UAUGAAUUGACAG</u> <u>CCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUUCAUAGGUCA</u> CAGGU AUGUUCGCCUCAAUGCCAGC	194
<i>miR-159-1-pequeño</i>	UCCCGCCCCCUGUAACAGCAACUCCAUGUGGAAGUG <u>CCCACUG</u> GUUCCAGUGGGCUGCUGUU <u>AUCUGGGCGAGGGCCA</u>	195
<i>miR-161-pequeño</i>	AAAGCUGGGUUGAGAGGGG <u>CGAAAAAGGAUGAGGUGACUGGUC</u> UGGGCUAC <u>GC</u> UAUGCUGCGCGCUC <u>CGGG</u>	196
<i>miR-163-1b-pequeño</i>	CAUUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUC <u>CGAGUCCACC</u> CGGGGUAAAGAAAGGCCGAAUU	197
<i>miR-163-3-pequeño</i>	CCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUC <u>CGAGUCCACC</u> <u>UGGGGUAGA</u> GGUGAAAGUUC <u>CUUUUACGGAAUUUUUU</u>	198

<i>miR-162</i>	CAAUGUCAGCAGUGCCU <u>UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUA</u> AGAUUCUAAA <u>UUACUCCAGUAAUACUGUGCUGCUAAGU</u> AAGGUUGACCAUACUCUACAGUUG	199
<i>miR-175-pequeño</i> <i>= miR-224</i>	GGGCUUCAAGUCACUAGUGGUCCGUUUAGUAGAUGAUUGU GCAUUGUUCAAAU <u>UAGGUGGCCUAGUGACUACAAAGCCC</u>	200
<i>miR-177-pequeño</i>	ACGCAAGUGUCCUAAGGUGAGCU <u>CAGGGAGCACAGAAACCUC</u> CAGUGGAACAGAACGGCAAAAGCUCAUU	201
<i>miR-180-pequeño</i>	CAUGUGUCACUUUCAGGUGGUUU <u>CAAGAGUCCUUCUCCUGG</u> UUCACCGUCUCCUUUGCUCUUCCACAAC	202
<i>miR-181a</i>	<u>AGAAGGGCUAUCAAGGCCAGCUUCAGAGGACUCCAAGGAACA</u> <u>UUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGAAUUGAAAAACCACUGA</u> CCGUUGACUGUACCUU <u>UAGGGGUCCUUA</u>	203
<i>miR-187b-1</i>	CCUGUGCAGAGAU <u>UAUUUUUAAAAGGUCAACAUCAACAUUC</u> <u>AUUGCUGUCGGUGGUUGA</u> ACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA CAA <u>UAGCAACUGUGGCCCGCUU</u>	204
<i>miR-181b-2</i>	CUGAUGGCUGCACU <u>UACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGUUUGA</u> GUCUGAA <u>UCAACUCACUGAUCA AUGAA</u> U <u>GCAAACUGCGGACC</u> AAACA	205
<i>miR-181c</i>	CGGAAA <u>UUUGCCAAGGGUUUGGGGAACAUUCAACCUGUCG</u> <u>GUGAGUUUGGGCAGCUCAGGCAAACCAUCGACCGUUGAGUGG</u> ACCCUGAGGCCUGGAA <u>UUGCCAUCU</u>	206
<i>miR-182-as</i>	GAGCUGCUUGCCU <u>CCCCCGUUUUUGGCAAUUGGUAGAACUCA</u> <u>CACUGGUGAGGUACAGGAUCCGGUGGUUCUAGACUUGCCAA</u> <u>CUAUGGGCGAGGACUCAGCCGGCAC</u>	207
<i>miR-182</i>	<u>UUUUUGGCAAUUGGUAGAACUCA</u> CACUGGUGAGGUACAGGAU CCGGUGGUUCUAGACUUGCCAACUAUGG	208
<i>miR-183</i>	CCGCAGAGUGUGACUCCUGUUCUGUG <u>UAGGCACUGGUAGAA</u> <u>UUCACUGUGAACAGUCUCAGUCAGUGAA</u> U <u>UACCGAAGGGCCA</u> UAAACAGAGCAGAGACAGAACCCACGA	209
<i>miR-184-1</i>	CCAGUCACGU <u>CCCCUUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGAC</u> UGUAAGUGUUGGACGGAGAACUGUA <u>AAGGUAGGUGAUUGA</u>	210

<i>miR-184-2</i>	CCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUU <u>GUGACUGUAAGUGUUG</u> GACGGAGAACUGAUAAAGGUAGG	211
<i>miR-185-1</i>	AGGGGGCGAGGGAU <u>UGGAGAGAAAGGCAGUUC</u> CUGAUGGUCC CCUCCCCAGGGCUGGCUUUCCUCUGGUCCUUC _{CC} CC	212
<i>miR-185-2</i>	AGGGAU <u>UGGAGAGAAAGGCAGUUC</u> CUGAUGGUCCCCUCCCC GGGGCUGGCUUUCCUCUGGUCCU	213
<i>miR-186-1</i>	UGCUUGUAACUU <u>CCAAGAAUUC</u> CUCCUUU <u>UGGGCUUC</u> U UUUUAUUUAAGCCAAAGGUGAAUUUUUUGGGAGUUUGA GCU	214
<i>miR-186-2</i>	ACUU <u>CCAAGAAUUC</u> CUCCUUU <u>UGGGCUUC</u> U UAAGCCAAAGGUGAAUUUUUUGGGAGU	215
<i>miR-187</i>	GGUCGGGCUCACCAUGACACAGUGAGACUCGGGCUACAAC ACAGGACCCGGGCGCUGCUCUGACCC <u>CUGUGCUU</u> <u>GCAGCCGGAGGGACGCAGGUCCGCA</u>	216
<i>miR-188-1</i>	UGCU <u>CCCUCUCACA</u> UCCU <u>JCAUGGUGGAGGGUGAGCUU</u> UCUGAAAACCCUCCACAUGCAGGUUUGCAGGAUGGCGAG CC	217
<i>miR-188-2</i>	UCUCACAU <u>CCCUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUUUCUGAAAC</u> CCCUCCCACAUGCAGGUUUGCAGGA	218
<i>miR-189-1</i>	CUGUCGAUUGGACCCGCCUCC <u>GGUGCCUACUGAGCUGAU</u> AU <u>CAGUUCUCAUUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGG</u> AGUCGAGCCUUGAGCAA	219
<i>miR-189-2</i>	CUCCGG <u>UGCCUACUGAGCUGAU</u> AUCAGUUCUCAUUUACACA CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	220
<i>miR-190-1</i>	UGCAGGCCUCUGUG <u>GAUAUGUUUGAU</u> AUUAGGUUGUUAU UUAAUCCAA <u>CUAUAAUCAAA</u> CAUAAUCCUACAGUGCUUGC C	221
<i>miR-190-2</i>	CUGUG <u>UGAU</u> AUGUU <u>UGAU</u> AUU <u>AGGU</u> U <u>GUUA</u> UUAAUCCA ACUAUAAUCAAA <u>CAUAAU</u> CCUACAG	222

<i>miR-191-1</i>	CGGCUGGACAGCGGGCAACGGAAUCCAAAAGCAGCUGUUGU CUCCAGAGCAUUCAGCUGCCUUGGAUUUCGUCCCCUGCUC UCCUGCCU	223
<i>miR-191-2</i>	AGCGGGCAACGGAAUCCAAAAGCAGCUGUUGUCUCCAGAGC AUUCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCU	224
<i>miR-192-2/3</i>	CCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACC <u>AUGAAUUGACAGC</u> <u>CAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCA</u> UUCCAUAGGUAC AGGU AUGUUCGCCUCA AUGCCAG	225
<i>miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACC <u>AUGAAUUGACAGC</u> <u>CCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCA</u> UUCCAUAGGUCA CAGGU AUGUUCGCCUCA AUGCCAGC	226
<i>miR-193-1</i>	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCAGGCGAGAUGA GGGUGUCGGAU <u>CAACUGGCCUACAAAGUCCCAGUUCUCGGCC</u> CCCG	227
<i>miR-193-2</i>	GCUGGGUCUUJUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAU <u>CAACUGG</u> <u>CCUACAAAGUCCCAGU</u>	228
<i>miR-194-1</i>	AUGGUGUUAU <u>CAAGUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGU</u> ACCAAUUCCAGUGGAGAUGCUGUUACUUUUGAUGGUUACCA A	229
<i>miR-194-2</i>	<u>GUGAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAA</u> UUCCAGU GGAGAUGCUGUUACUUJUGAU	230
<i>miR-195-1</i>	AGCUUCCCUGGCUCU <u>AGCAGCACAGAAAUUUGGCACAGG</u> AGCGAGUCUGCCAA <u>UUGGCUGUGCUGCUCCAGGCAGGGUG</u> GUG	231
<i>miR-195-2</i>	<u>UAGCAGCACAGAAAUUUGGCACAGGGAAAGCGAGUCUGCCAA</u> <u>UAUUGGCUGUGCUGCU</u>	232
<i>miR-196-1</i>	CUAGAGCUUGAAUUGGAACUGCUGAGUGAA <u>UAGGUAGUUUC</u> <u>AUGUUGUUGGCCUGGGUUUCUGAACACAACAACAUUAAACC</u> ACCCGAUUCACGGCAGUUACUGCUCC	233
<i>miR-196a-1</i>	GUGAA <u>UAGGUAGUUCAUGUUGUUGGCCUGGGUUUCUGAA</u> CACAAACAACAUUAAACCACCCGAUUCAC	234

<i>miR-196a-2</i> (<i>miR-196-2</i>)	UGCUCGCUCAGCUGAUCUGUGGC <u>UUAGGUAGUUCAUGUUGU</u> <u>UGGGAUUGAGUUUJUGAACUCGGCAACAAGAACUGCCUGAGU</u> UACAUCAUCAGUCGGUUUUCGUCGAGGGC	235
<i>miR-196</i>	GUGAAU <u>UAGGUAGUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAA</u> CACAAACAACAUAAAACCACCCGAUUCAC	236
<i>miR-196b</i>	ACUGGU <u>CGGUGAUUAGGUAGUAGUUUCCUGUUGUUGGAUCCAC</u> CUUUCUCUCGACAGCACGACACUGCCUCAUUACUUCAGUUG	237
<i>miR-197</i>	GGCUGUGCCGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAGAGCUCUU CACCCUUCACCACCUUCUCCACCCAGCAUGGCC	238
<i>miR-197-2</i>	GUGCAUGUGUAUGUAUGUGUGCAUGUGCAUGUGUAUGUGUA UGAGUGCAUGCUGUGUGC	239
<i>miR-198</i>	UCAU <u>UAGGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUCCUGUGAUUUUUCUU</u> CUUCUCUAUAGAAUAAAUGA	240
<i>miR-199a-1</i>	GCCA <u>ACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAAU</u> GUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGC	241
<i>miR-199a-2</i>	AGGAAGCUUCUGGAGAUCCUGCUCCGUCG <u>CCCCAGUGUUCAG</u> <u>ACUACCUGUUCAGGACAAUGCCGUUGUACAGUAGUCUGCACA</u> <u>UUGGUUAGACUGGGCAAGGGAGAGCA</u>	242
<i>miR-199b</i>	CCAGAGGACACCUCCACUCCGUCU <u>ACCCAGUGUUAGACUAU</u> <u>CUGUUCAGGACUCCC</u> AAAUUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGU <u>UAGGCUGGGCUGGGUUAGACCCUCGG</u>	243
<i>miR-199s</i>	GCCA <u>ACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAAU</u> GUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGC	244
<i>miR-200a</i>	GCCGUGGCCAUCUUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCAGGU <u>C</u> UCUAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACGGC	245
<i>miR-200b</i>	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUCUUACUGGGCAGCAUUGGA UGGAGUCAGGU <u>CUCUAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACGGCGG</u> AGCCCUGCACG	246

<i>miR-200c</i>	CCUCGUCUUACCCAGCAGUGUUUGGGUGCGGUUGGGAGUCU CUAAUACUGCCGGUAAUGAUGGAGG	247
<i>miR-202</i>	GUUCCUUUUUCCUAUGCAUAUACUUCUUUGAGGAUCUGGCCU AAAGAGGUAUAGGGCAUGGGAAGAUGGAGC	248
<i>miR-203</i>	GUGUUGGGACUCGCGCUGGGUCCAGUGGUUCUUAACAGU UCAACAGUUCUGUAGCGCAAU <u>JUGUGAAAUGUUUAGGACCACU</u> <u>AGACCCGGCGGGCGCGCGACAGCGA</u>	249
<i>miR-204</i>	GGCUACAGUCUUUCUUCAUGUGACUCGUGGAC <u>UUCCCUUUGU</u> <u>CAUCCUAUGCCUGAGAAUUAUAGAAGGAGGCUGGGAAGGCAA</u> AGGGACGUUCAAUUGUCAUCACUGGC	250
<i>miR-205</i>	AAAGAUCCUCAGACA <u>UCCAUGUGGUUCUUCUUGUCCUUCAUU</u> <u>CCACCGGAGUCUGUCUCAUACCCAACAGAUUUCAGUGGAGU</u> GAAGUUCAGGAGGCAUGGAGCUGAC	251
<i>miR-206-7</i>	UGCUUCCCCGAGGCCACAUGCUUCUUUAU <u>UCCCAUAUGGAU</u> UACUUUGC <u>UAUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUCGGCAAG</u> UG	252
<i>miR-206-2</i>	AGGCCACAUGCUUCUUUAU <u>UCCCAUAUGGAUUAUUUGCU</u> <u>AUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUU</u>	253
<i>miR-208</i>	UGACGGCGAGCUUUUUGGCCGGUUAU <u>ACCUGAUGCUCACG</u> UUAAGACGAGCAAAAGCUUGUUGGUCA	254
<i>miR-210</i>	ACCCGGCAGUGCUC CCAGGCGCAGGGCAGCCCCUGCCCACCGC ACACUGCGCUGCCCCAGACCCACUGUGCGUGACAGCGGCU <u>GAUCUGUGCCUGGGCAGCGCAGCC</u>	255
<i>miR-211</i>	UCACCUGGCCAUGUGACUUGUGGGC <u>UUCCCUUUGUCAUCCUU</u> <u>CGCCUAGGGCUCUGAGCAGGGCAGGGACAGCAAAGGGUGCU</u> CAGUUGUCACU <u>UCCACAGCACGGAG</u>	256
<i>miR-212</i>	CGGGGCACCCCGCCGGACAGCGCGCCGGCACC <u>UUGGCUCUAG</u> ACUGCUUACUGCCGGCC CCCUCAGUAACAGUCUCCAGUCA <u>CGGCCACCGACGCCUGGCCCCGCC</u>	257
<i>miR-213-2</i>	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUAAAAGGU <u>CACAAUCAACAUUC</u> <u>AUUGCUGUGGUUGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA</u> CAAUGAAUGCAACUGUGGCCCGCUU	258

<i>miR-213</i>	GAGUUUUGAGGUUCUUCAGUGAACAUCAACGCUGUCGGUG AGUUUJGGAAUUA <u>AAA</u> UCAAA <u>ACC</u> AUCGACCGUJUGAUJUGUACC CUAUGGCUAACCAUCAUCUACUCC	259
<i>miR-214</i>	GGCCUGGCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUCUACAC UUGCUGUGCAGAACAUCCGCUCACCUGU <u>ACAGCAGGCACAGA</u> <u>CAGGCAGUCACAUGACAACCCAGCCU</u>	260
<i>miR-215</i>	AUCAUUCAGAA <u>AUGGUAUACAGGAA</u> <u>AUGACCUAUGAAUUGA</u> <u>CAGACAAUAUAGCUGAGUUUGUCUGUCAUUUCUUAGGCCAA</u> UAUUCUGUAUGACUGUGCUACUCAA	261
<i>miR-216</i>	GAUGGCUGUGAGUUGGC <u>UAAUCUCAGCUGGCAACUGUGAGA</u> UGUUCAUACAA <u>UCCCUCACAGUGGUCUCUGGGAUUAUGCUAA</u> ACAGAGCAA <u>UUCUAGCCCUCACGA</u>	262
<i>miR-217</i>	AGUAAUAAU <u>UACAUAGUUUUUGAUGUCGCAGAUACUGCAU</u> <u>CAGGAACUGAUUGGAAAGAAUCAGUCACCAUCAGUUCCUAA</u> UGCAUUGCCUUCAGCAUCUAAACAAG	263
<i>miR-218-1</i>	GUGAUAAUGUAGCGAGAUUU <u>CUGUUGUGCUUGAUCUAACCA</u> <u>UGUGGUUGCGAGGUAUGAGUAAAACAUGGUUCCGUCAAGCAC</u> CAUGGAACGUCACGCAGCUUUCUACA	264
<i>miR-218-2</i>	GACCAGUCGCUGCGGGCUU <u>UCCUUUGUGCUUGAUCUAACCA</u> <u>UGUGGUUGGAACGAUGGAAACGGAACAUUGGUUCUGUCAAGCAC</u> CGCGGAAAGCACCGUGCUCUCCUGCA	265
<i>miR-219</i>	CCGCCCCGGGCCGCGGCUCC <u>UGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCG</u> AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAG CCGCCGCCCCAAACCUCUGAGCGGG	266
<i>miR-219-1</i>	CCGCCCCGGGCCGCGGCUCC <u>UGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCG</u> AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAG CCGCCGCCCCAAACCUCUGAGCGGG	267
<i>miR-219-2</i>	ACUCAGGGGUUCGCCACUGAUUGU <u>CCAACGCAAUUCUUGU</u> ACGAGUCUGCGGCCAACCGAGAA <u>UUGUGGGCUGGACAUUCUGUG</u> GCUGAGCUCCGGG	268
<i>miR-220</i>	GACAGUGUGGGCAUUGUAGGGCU <u>CCACACCGUAUCUGACACUU</u> <u>UGGGCGAGGGCACCAUGCUGAAGGUGUCAUGAUGCGGGUCUG</u> GGAACUCCUCACGGAU <u>CUACUGAUG</u>	269
<i>miR-221</i>	UGAACAUCCAGGU <u>UCUGGGCAUGAACCU</u> U <u>GGCAUACAAUGUAG</u> AUUUCUGUGUUCGUU <u>AGGCAACAGCUACAUU</u> <u>UGUCUGCUGGGU</u> <u>UUCAGGCUACCUGGAAACAUGUUCU</u>	270

miR-222	GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCAAUGGCUCAGUAGCCAG UGUAGAUCCUGUCUUUCGUAAUCAGCAGCUACAU <u>CUGGUAC</u> <u>UGGGUCUCUGAUGGCAUCUUCUAGCU</u>	271
<i>miR-223</i>	CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCUCCGUGUAUUUGACAAGCU GAGUUGGACACCUCAUGUGGUAGAG <u>GUGUCAGUUJUGUCAAUA</u> <u>CCCCAAGUGCGGCACAUGCUUACCAG</u>	272
<i>miR-224</i>	GGGCUU <u>CAAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUGAUUGU</u> GCAUUGUUUCAAAU <u>U</u> GGUGCCUAGUGACUACAAAGCCC	273
<i>miR-294-1 (chr16)</i>	CAAUCUCCUUUAUCAUGGUAUUGAUUUUCAGUGCUUCCU UUUGUGUGAGAGAAGAUA	274
<i>miR-296</i>	AGGACCCUCCAGAGGGCCCCCUCAAUCCUGUUGUGCCUAA UUCAGAGGGUUGGUUGGAGGCUCUCCUGAAGGGCUCU	275
<i>miR-299</i>	AAGAAAUGGUUUACCGUCCCACAUACAUUUUGAAUAUGUAUG UGGGAUGGUAAACCGCUUCUU	276
<i>miR-301</i>	ACUGCACGAAUGCUCUGACUUUAUUGCACUACUGUACUUU ACAGCUAGCAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAGCAUCUGAAAGCA GG	277
<i>miR-302a</i>	CCACCACUUAAACGUGGAUGUACUUGCUUUGAAACUAAAGAA GUAAGUGCUUCCAUGUUUJUGGUGAUGG	278
<i>miR-302b</i>	GCUC <u>CCUCAACUUUACAUGGAAGUGCUUUCUGUGACUUUA</u> AAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUAGUAGGAGU	279
<i>miR-302c</i>	CCUUUGCUUUAAACAU <u>GGGGUACCUGCUGUGUGAAACAAAG</u> UAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGGAGG	280
<i>miR-302d</i>	CCUCUACUUUAA <u>ACAUGGAGGCACUUGCUGUGACAU</u> GACAAAA AUAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGUG	281
<i>miR-320</i>	GCUCGCU <u>CCCCUCCGCCUUCUCUUC</u> CCGGUUCUUCGGAGU CGGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAGGAUGAGGU	282

<i>miR-321</i>	UUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGUUCGAGUCCCACCCG GGGUAAAGAAAGGCCGA	283
<i>miR-323</i>	UUGGUACUUGGAGAGAGGUCCGUGGC <u>CGCUUCGUUU</u> AU UUAUGGCGCACAUUACACGGUCGACCUCUUUGCAGUAUCUAA UC	284
<i>miR-324</i>	CUGACUAUGCCUCCCC <u>GCAUCCCC</u> UAGGGCAUUGGUGUAAAG CUGGAGACCCACUGCCCCAGGUGCUGCUGGGGUUGUAGUC	285
<i>miR-325</i>	AUACAGUGCUJGGUUCCUAGUAGGUGUCCAGUAAGGUUUGU GACAUAUUUGUUUAUUGAGGACCUCCAUCAAUCAGCACU GUGCUAGGCUCUGG	286
<i>miR-326</i>	CUCAUCUGUCUGUUGGGCUGGAGGCAGGGCCUUUGUGAAGGC GGGUUGGUGCUCAGAUCGCCUCUGGGCCUUCUCCAGCCCCGA GGCGGAUUCA	287
<i>miR-328</i>	UGGAGUGGGGGGGCAGGAGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAUAC AGCCCCUGGCCUCUCUGCCCCUUCGUCCCCUG	288
<i>miR-330</i>	CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCUGUGCUUAGGCUCU GCAAGAUCAACC <u>GAGCAAAGCACACGGCCUGCAGAGAGGCAG</u> CGCUCUGCCC	289
<i>miR-331</i>	GAGUUUGGUUUUGUUUUGGUUUCUAGGUUGGUCCAGG GAUCCAGAUCAAACC <u>AGGCC</u> CCUUGGGCCUAUCCUAGAACCAA CCUAAGCUC	290
<i>miR-335</i>	UGUUUUGAGCGGGGG <u>UCAAGAGCAAUAACGAAAAAUGUUJGU</u> CAUAAACGUUUUCAUUAUUGCUCUGACCUCUCUCAUU GCUAAUUC	291
<i>miR-337</i>	GUAGUCAGUAGUUGGGGGUGGGAACGGCUUCAUACAGGAGU UGAUGCACAGUU <u>AUCCAGCUCCUAUAUGAUGCCUUUCUCAU</u> CCCCUUCAA	292
<i>miR-338</i>	UCUCCAACAAUAUCCUGGUGCUGAGUGAUGACUCAGGCGAC <u>U</u> CCAGCAUCAGUGAUUJGUUGAAGA	293
<i>miR-339</i>	CGGGGCGGCC <u>GCUCUCCUGUCCUCCAGGAGCUCACGUGUGCC</u> UGCCUGUGAGCGCCUCGACGACAGAGCCGGCCUUGCCCCAGU GUCUGCGC	294

<i>miR-340</i>	UUGUACCUGGUGUGAUUAUAAAGCAAUGAGACUGAUUGUCAU AUGUCGUUUGUGGG <u>AUCCGUCUCAGUUA</u> UAG <u>CCAUAC</u> CUGGU <u>AUCUUA</u>	295
<i>miR-342</i>	GAAACUGGGCUCAAGGUGAGGGUGCUAUCUGUGAUUGAGGG ACAUGGUAAUGGA <u>UUGUCUCACACAGAAU</u> CGCACCCGUC ACCUUGGCCUACUUA	296
<i>miR-345</i>	ACCCAAACCCUAGGUCUGCUGACUCCUAGUCCAGGGCUCGUG AUGGCUGGUGGGCCCUGAACGAGGGUCUGGAGGCCUGGGUU UGAAUAUCGACAGC	297
<i>miR-346</i>	<u>GUCUGUCUGCCCG</u> CAUGCCUGCCUCU <u>CUGUUG</u> CUCUGAAGGA GGCAGGGGCUGGGCUG <u>CAGCUGCCUGGG</u> CAGAGCGGCUCCU GC	298
<i>miR-367</i>	CCAUUACUGUJUGCUAAUAU <u>UGCAACUCUGUUGAAUUA</u> AAUUG GAAUUGCACUUU <u>AGCAAUGGUGA</u> UUGG	299
<i>miR-368</i>	AAAAGGUGGAU <u>UUCU</u> CAUGUU <u>AUUGUUAUUAU</u> UGGUUA AACAU <u>AGAGGAAAUUCCACGUUU</u>	300
<i>miR-369</i>	UUGAAGGGAGAUCGACCGUGUUAU <u>UUCGCUUU</u> UUGACUUC GAAUAA <u>UACAU</u> GGUUGAUCUU <u>UUC</u> CAG	301
<i>miR-370</i>	AGACAGAGAAGCCAGGU <u>ACGUCUCUG</u> CAGU <u>UACACAGCUA</u> CGAGUGCCUG <u>CUGGGGUGGAACC</u> UGGU <u>UGUCU</u>	302
<i>miR-371</i>	GUGGCACU <u>AAACUGUGGGGG</u> C <u>UUUCUG</u> CUCUGGUGAA AGUGCCGCC <u>AUCUUU</u> U <u>UAGAGGUUAC</u>	303
<i>miR-372</i>	GUGGGCCU <u>AAAUUGUGGAGC</u> AC <u>UUCUGA</u> U <u>GUCCAAGUGGA</u> AAGUGCUG <u>CGACAUU</u> U <u>UAGAGCGUCAC</u>	304
<i>miR-373</i>	GGGAUACU <u>AAAUGGGGGCG</u> CU <u>UUCCUUUU</u> U <u>UUGUCUGUACUG</u> GGAAGUG <u>CUUCGAUUU</u> U <u>UUGGGUGUCCC</u>	305
<i>miR-374</i>	UACAU <u>CGGCCAUU</u> U <u>AAUACAACCUGA</u> U <u>AGUGUU</u> U <u>AGCAC</u> UUA <u>UCAGAU</u> U <u>GUAUUGUAAU</u> U <u>UUGUCUGUGUA</u>	306

<i>miR-hes1</i>	AUGGAGCUGCUCACCCUGUGGGCCUAAAUGUGGAGGAACUA UUCUGAUGGUCCAAGUGGAAAGUGCUGCGACAUUJUGAGCGUCA CCGGUGACGCCCAUAUCA	307
<i>miR-hes2</i>	GCAUCCCCUCAGCCUGUGGCACUAAACUGUGGGGGCACUUU CUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCGCAUCUUUJUGAGGUUACCG CUUGAGAAGACUCAACC	308
<i>miR-hes3</i>	CGAGGAGCUCAUACUGGGAUACUAAAUGGGGGCGCUUUCC UUUUUGUCUGUUACUGGGAAAGUGCUUCGAUUUUGGGGUUCC CUGUUJUGAGUAGGGCAUC	309
* Una secuencia subrayada dentro de una secuencia precursora corresponde a un transcripto 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 Nº	microARN precursor correspondiente: véase Tabla 1a
<i>let-7a</i>	ugagguaguagguguauaguu	310	<i>let-7a-1; let-7a-2; let-7a-3; let-7a-4</i>
<i>let-7b</i>	ugagguaguaggugugugguu	311	<i>let-7b</i>
<i>let-7c</i>	ugagguaguagguguauaguu	312	<i>let-7c</i>
<i>let-7d</i>	agagguaguaggugcauagu	313	<i>let-7d; let-7d-vl</i>
<i>let-7e</i>	ugagguaggagguguauagu	314	<i>let-7e</i>
<i>let-7f</i>	ugagguaguagauuguauaguu	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>	uggaauguaagaaguaugua	18	<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>	ucuuugguuaucuagcuguauga	320	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-9*</i>	uaagcuagauaaccgaaagu	321	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-10a</i>	uaccuguagauccgaauuugug	322	<i>miR-10a</i>
<i>miR-10b</i>	uaccuguagaaccgaauuugu	323	<i>miR-10b</i>
<i>miR-15a</i>	uagcagcacauaaugguuugug	324	<i>miR-15a; miR-15a-2</i>
<i>miR-15b</i>	uagcagcacaucaugguuuaca	325	<i>miR-15b</i>
<i>miR-16</i>	uagcagcacguaaaaauuuggcg	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>	acugcaguaaggcacuugu	328	<i>miR-17</i>
<i>miR-18</i>	uaaggugcaucuagugcagaua	329	<i>miR-18; miR-18-13</i>
<i>miR-19a</i>	ugugcaaaucaugcaaaacuga	330	<i>miR-19a; miR-19a-13</i>
<i>miR-19b</i>	ugugcaaauccaugcaaaacuga	331	<i>miR-19b-1; miR-19b-2</i>
<i>miR-20</i>	uaagugcuuauagugcaggua	332	<i>miR-20 (miR-20a)</i>

ES 2 490 995 T3

<i>miR-21</i>	uagcuuaucagacugauguuga	333	<i>miR-21; miR-21-17</i>
<i>miR-22</i>	aagcugccaguugaagaacugu	334	<i>miR-22</i>
<i>miR-23a</i>	aucacauugccagggauuuucc	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>	cauugcacuugucucgguucuga	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>	uucaaguaauucaggauaggu	340	<i>miR-26b</i>
<i>miR-27a</i>	uucacaguggcuaaguuccgcc	341	<i>miR-27a</i>
<i>miR-27b</i>	uucacaguggcuaaguucug	342	<i>miR-27b-1; miR-27b-2</i>
<i>miR-28</i>	aaggagcucacagucuauugag	343	<i>miR-28</i>
<i>miR-29a</i>	cuagcaccaucugaaaucgguu	344	<i>miR-29a-2; miR-29a</i>
<i>miR-29b</i>	uagcaccauuugaaaucagu	345	<i>miR-29b-1; miR-29b-2</i>
<i>miR-29c</i>	uagcaccauuugaaaucggua	346	<i>miR-29c</i>
<i>miR-30a-5p</i>	uguaaacauccucgacuggaagc	347	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30a-3p</i>	cuuucagucgggauguuugcagc	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>	uguaaacauccccgacuggaag	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>	uggcagugucuuagcugguugu	356	<i>miR-34a</i>
<i>miR-34b</i>	aggcagugucuuagcugauug	357	<i>miR-34b</i>
<i>miR-34c</i>	aggcaguguaguuagcugauug	358	<i>miR-34c</i>
<i>miR-92</i>	uauugcacuugucccgccugu	359	<i>miR-92-2; miR-92-1</i>
<i>miR-93</i>	aaagugcguuucgugcagguaag	360	<i>miR-93-1; miR-93-2</i>
<i>miR-95</i>	uucaacggguauuuauugagca	361	<i>miR-95</i>
<i>miR-96</i>	uuuggcacuagcacauuuuugc	362	<i>miR-96</i>
<i>miR-98</i>	ugagguaguaaguuguaauuguu	363	<i>miR-98</i>
<i>miR-99a</i>	aacctguagauccgaucuugug	364	<i>miR-99a</i>
<i>miR-99b</i>	caccctguagaaccgaccuugcg	365	<i>miR-99b</i>
<i>miR-100</i>	uacaguacugugauacugaag	366	<i>miR-100</i>
<i>miR-101</i>	uacaguacugugauacugaag	367	<i>miR-101-1; miR-101-2</i>
<i>miR-103</i>	agcagcauuguacagggcuauga	368	<i>miR-103-1</i>
<i>miR-105</i>	ucaaauugcucagacuccugu	369	<i>miR-105</i>

ES 2 490 995 T3

<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>	agcagcauuguacaggcuauga	372	<i>miR-107</i>
<i>miR-122a</i>	uggagugugacaauugguguugu	373	<i>miR-122a-1; miR-122a-2</i>
<i>miR-124a</i>	uuaggcacgcggugaaugcca	374	<i>miR-124a-1; miR-12-1a-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>	cauuuuuacuuuugguacgcg	377	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-126</i>	ucguaccgugaguaauaaugc	378	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-127</i>	ucggauccgucugagcuuggcu	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>	ucacagugaaccggucucuuuc	381	<i>miR-128b</i>
<i>miR-129</i>	cuuuuugcggucuggcugc	382	<i>miR-129-1; miR-129-2</i>
<i>miR-130a</i>	cagugcaauuuuuuaggc	383	<i>miR-130a</i>
<i>miR-130b</i>	cagugcaauugauaaaaaggcau	384	<i>miR-130b</i>
<i>miR-132</i>	uaacagucuacagccauuggucg	385	<i>miR-132-1</i>
<i>miR-133a</i>	uugguccccuucaaccagcugu	386	<i>miR-133a-1; miR-133a-2</i>
<i>miR-133b</i>	uugguccccuucaaccagcua	387	<i>miR-133b</i>
<i>miR-134</i>	ugugacugguugaccagaggg	388	<i>miR-134-1; miR-134-2</i>
<i>miR-135a</i>	uauggcuuuuuuauuccuauguga	389	<i>miR-135a; miR-135a-2 (miR-135-2)</i>
<i>miR-135b</i>	uauggcuuuuucauuccuaugug	390	<i>miR-135b</i>
<i>miR-136</i>	acuccauuuuguuuugaugugga	391	<i>miR-136-1; miR-136-2</i>
<i>miR-137</i>	uaauugcuuaagaaauacgcguag	392	<i>miR-137</i>
<i>miR-138</i>	agcugguguugugaaauc	393	<i>miR-138-1; miR-138-2</i>
<i>miR-139</i>	ucuacagugcacgugucu	394	<i>miR-139</i>
<i>miR-140</i>	agugguuuuacccuaugguag	395	<i>miR-140; miR-140as; miR-140s</i>
<i>miR-141</i>	aacacugucugguaagaugg	396	<i>miR-141-1; miR-141-2</i>
<i>miR-142-3p</i>	uguaguguuuuccuacuuuaugga	397	<i>miR-142</i>
<i>miR-142-5p</i>	cauaaaguagaaaggcacuac	398	<i>miR-142</i>
<i>miR-143</i>	ugagaugaagcacuguagcuca	399	<i>miR-143-1</i>
<i>miR-144</i>	uacaguauagaugauuguacuag	400	<i>miR-144-1; miR-144-2</i>
<i>miR-145</i>	guccaguuuucccaggaaucuuu	401	<i>miR-145-1; miR-145-2</i>
<i>miR-146</i>	ugagaacugaaauuccaugguu	402	<i>miR-146-1; miR-146-2</i>
<i>miR-147</i>	guguguggaaaugcucugc	403	<i>miR-147</i>
<i>miR-148a</i>	ucagugcacuacagaacuuugu	404	<i>miR-148a (miR-148)</i>
<i>miR-148b</i>	ucagugcaucacagaacuuugu	405	<i>miR-148b</i>
<i>miR-149</i>	ucuggcuccgugucuucacucc	406	<i>miR-149</i>
<i>miR-150</i>	ucucccaacccuuguaccagug	407	<i>miR-150-1; miR-150-2</i>

ES 2 490 995 T3

<i>miR-151</i>	acuagacugaaggccuuugagg	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>	uagguuauccguguuugccuucg	411	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-154*</i>	aaucauacacgguugaccuauu	412	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-155</i>	uuuaugcuuaaucgugauagggg	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>	ugguuucuagacuuugccaaacua	418	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-183</i>	uauggcacugguagaauuucacug	419	<i>miR-183</i>
<i>miR-184</i>	uggacggagaacugauaagggu	420	<i>miR-184-1; miR-184-2</i>
<i>miR-185</i>	uggagagaaaaggcaguuc	421	<i>miR-185-1; miR-185-2</i>
<i>miR-186</i>	caaagaauucuccuuuuggcuu	422	<i>miR-186-1; miR-186-2</i>
<i>miR-187</i>	ucgugucuuguguugcagccg	423	<i>miR-187</i>
<i>miR-188</i>	cauccuugcaugguggagggu	424	<i>miR-188</i>
<i>miR-189</i>	gugccuacugagcugauaucagu	425	<i>miR-189-1; miR-189-2</i>
<i>miR-190</i>	ugauauguuugauauauuaggua	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>	cugaccuaugaaauugacagcc	428	<i>miR-192</i>
<i>miR-193</i>	aacuggccuacaaagucccag	429	<i>miR-193-1; miR-193-2</i>
<i>miR-194</i>	uguaacacgaacuccaugguga	430	<i>miR-194-1; miR-194-2</i>
<i>miR-195</i>	uagcagcacagaaaaauuuggc	431	<i>miR-195-1; miR-195-2</i>
<i>miR-196a</i>	uagguaguuuucauguuguugg	432	<i>miR-196a; miR-196a-2 (miR196-2)</i>
<i>miR-196b</i>	uagguaguuuccuguuuguugg	433	<i>miR-196b</i>
<i>miR-197</i>	uucaccaccuuuccaccaccagc	434	<i>miR-197</i>
<i>miR-198</i>	gguccagaggggagauagg	435	<i>miR-198</i>
<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>	cccaguguuuagacuaucuguuc	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>	aauacugccgguaaugaugga	441	<i>miR-200c</i>
<i>miR-202</i>	agagguauagggcaugggaga	442	<i>miR-202</i>
<i>miR-203</i>	gugaaauguuuaggaccacuag	443	<i>miR-203</i>
<i>miR-204</i>	uucccuuugucauccuaugccu	444	<i>miR-204</i>

ES 2 490 995 T3

<i>miR-205</i>	uccuucauuccaccggagucug	445	<i>miR-205</i>
<i>miR-206</i>	uggaauguaaggaagugugugg	446	<i>miR-206-1; miR-206-2</i>
<i>miR-208</i>	auaagacgagcaaaaagcuugu	447	<i>miR-208</i>
<i>miR-210</i>	cugugcgugugacagcggcug	448	<i>miR-210</i>
<i>miR-211</i>	uucccuuugucauccuucgccu	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>	uugugcuuguaucuaaccaugu	456	<i>miR-218-1; miR-218-2</i>
<i>miR-219</i>	ugauuguccaaacgcaauucu	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>	agcuacauugucugcugguuuc	459	<i>miR-221</i>
<i>miR-222</i>	agcuacaucuggcuacugggucuc	460	<i>miR-222</i>
<i>miR-223</i>	ugucaguuugucaaauacccc	461	<i>miR-223</i>
<i>miR-224</i>	caagucacuagugguuccguuua	462	<i>miR-224</i>
<i>miR-296</i>	agggcccccccucaauccugu	463	<i>miR-296</i>
<i>miR-299</i>	ugguuuacctgucccacauacau	464	<i>miR-299</i>
<i>miR-301</i>	cagugcaauaguauugucaaagc	465	<i>miR-301</i>
<i>miR-302a</i>	uaagugcuucccauguuuugguga	466	<i>miR-302a</i>
<i>miR-302b*</i>	acuuuaacauggaagugcuuucu	467	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302b</i>	uaagugcuucccauguuuaguag	468	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302c*</i>	uuuaacauggggguaccugcug	469	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302c</i>	uaagugcuucccauguuucagugg	470	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302d</i>	uaagugcuucccauguuugagugu	471	<i>miR-302d</i>
<i>miR-320</i>	aaaaggcggguugagagggcgaa	472	<i>miR-320</i>
<i>miR-321</i>	uaagccaggauuguggguuc	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>	ccacugccccagggcugcugg	476	<i>miR-324</i>
<i>miR-325</i>	ccuaguagguguccaguagua	477	<i>miR-325</i>
<i>miR-326</i>	ccucuggggcccuuccuccag	478	<i>miR-326</i>
<i>miR-328</i>	cuggccucucugcccuuccgu	479	<i>miR-328</i>
<i>miR-330</i>	gcaaaggcacacggccugcagaga	480	<i>miR-330</i>
<i>miR-331</i>	gccccuggccuauccuagaa	481	<i>miR-331</i>
<i>miR-335</i>	ucaagagcaauaacgaaaaaugu	482	<i>miR-335</i>

<i>miR-337</i>	uccagcuccuaauaugaugccuuu	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>	uccgucucaguacuuuauagcc	486	<i>miR-340</i>
<i>miR-342</i>	ucucacacagaaaucgcacccguc	487	<i>miR-342</i>
<i>miR-345</i>	ugcugacuccuaguccaggc	488	<i>miR-345</i>
<i>miR-346</i>	ugucugccgcgaugccugccucu	489	<i>miR-346</i>
<i>miR-367</i>	aauugcacuuuagcaugguga	490	<i>miR-367</i>
<i>miR-368</i>	acaauagagggaaauuccacguuu	491	<i>miR-368</i>
<i>miR-369</i>	aauaaauacaugguugaucuuu	492	<i>miR-369</i>
<i>miR-370</i>	gccugcugggguggaaccugg	493	<i>miR-370</i>
<i>miR-371</i>	gugccgcacuuuugagugu	494	<i>miR-371</i>
<i>miR-372</i>	aaagugcugcgacauuugagcgu	495	<i>miR-372</i>
<i>miR-373*</i>	acucaaaauggggcgcuuucc	496	<i>miR-373</i>
<i>miR-373</i>	gaagugcuucgauuuugggugu	497	<i>miR-373</i>
<i>miR-374</i>	uuauaaauacaaccugauaagug	498	<i>miR-374</i>

La presente invención abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer sólido, que comprenden medir el nivel de al menos un primer producto génico de miR-29b-2 en una muestra de ensayo del sujeto y comparar el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo con el nivel del producto génico de miR correspondiente 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 sólido. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido.

5 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.

10 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-

15 175. 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.

20 Los cánceres sólidos pueden ser cualquier cáncer que surja de órganos y tejidos sólidos. Dichos cánceres se asocian típicamente 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, 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 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-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.

En una realización de la presente invención, el miR-29b-2 y al menos un producto génico adicional seleccionado del grupo que consiste en miR-24-1, 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 se usan para diagnosticar cáncer de colon.

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de colon y el producto génico de miR no es 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-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 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, let7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125b-1 o let7f-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.
- 20 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, miR-204 y combinaciones de los mismos.
- 25 En otra realización de la presente invención, el miR-29b-2 y el al menos un producto génico de miR adicional se selecciona 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-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-106a, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos se usan para diagnosticar cáncer pancreático.
- 30 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. En otra realización, 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.
- 40 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. 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.

También se desvela un método en el 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. Como alternativa, el que 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-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 afectos 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.

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., 2^a edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Capítulo 7.

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., 2^a edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Capítulos 10 y 11.

5 Por ejemplo, la sonda de ácido nucleico puede marcarse con, por ejemplo, un radionúclido, tal como ³H, ³²P, ³³P, ¹⁴C o ³⁵S; 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.

10 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 ³²P 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 ³²P con una actividad específica bastante mayor de 10⁸ 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 transcripto génico de miR. Usando otro enfoque, los niveles de transcripto 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.

25 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.

30 Además de Northern y otras técnicas de hibridación de ARN, la determinación de los niveles de transcriptos 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 Nº 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 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% o completa con un producto génico de miR de interés, como se ha descrito anteriormente.

40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100
El número relativo de transcriptos génicos de miR en células también puede determinarse por transcripción inversa de transcriptos génicos de miR, seguido de amplificación de los transcriptos de transcripción inversa por reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). Los niveles de los transcriptos 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.

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 transcriptos 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 autoradiográficas que requieren isótopos radiactivos.

Para superar estas limitaciones, puede construirse una oligobiblioteca, en formato de microplaca (es decir, una micromatriz), que contenga un conjunto de sondas oligonucleotídicas (por ejemplo, oligodesoxinucleótidos) que son específicas para un conjunto de genes de miR. Usando dicha micromatriz, 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 micromatriz 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 transcripto inverso del producto génico de miR específico.

- 5 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 10 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 15 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.
- 20 En consecuencia, la invención proporciona métodos para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer sólido, que comprenden transcribir de forma inversa al menos ARN de miR-29b-2 de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana miR-29b-2, hibridar el oligodesoxinucleótido diana con una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN que incluyen al menos un oligonucleótido sonda específico de ARN de miR-29b-2 para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra de 25 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 una alteración de la señal del primer ARN de miR-29b-2 es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer sólido. También se desvelan micromatrizes que comprenden oligonucleótidos sonda específicos de miARN para una parte sustancial de todos los miARN humanos conocidos. La micromatriz puede comprender oligonucleótidos sonda específicos de miARN para uno o más miARN seleccionados 30 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.
- 35 La micromatriz 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 40 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.
- 45 La micromatriz 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 micromatrizes 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 desnaturizan para degradar los moldes de ARN. Los ADNc diana marcados preparados de este modo se hibridan después con la microplaca de micromatriz 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 50 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 micromatriz se procesa después por dirección directa de los transcritos que 55 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.
- 60 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 micromatriz 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.

5 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.

10 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 micromatriz 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 micromatriz. 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.

15 20 25 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.

30 35 40 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 micromatriz 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.

45 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.

50 55 60 65 En consecuencia, la presente divulgación abarca métodos para inhibir la tumorogénesis 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, 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 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.

5 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 10 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, 15 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%, 20 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 25 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 30 (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 35 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 40 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 45 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.

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 55 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 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 60 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 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.

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.

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 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.

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 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).

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 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).

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 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. 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 en 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 genético de miR se localizan 3' del promotor, de modo que el promotor puede iniciar la transcripción de las secuencias codificantes del producto genético 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 aislar 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, Dornburg (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 Nº 5.252.479; Patente de Estados Unidos Nº 5.139.941; Solicitud de Patente Internacional Nº WO 94/13788; y Solicitud de Patente Internacional Nº 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 genético 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 transcripto 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 genético 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 compuestos 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 peptidónucleico, 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 peptidónucleico (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 genéticos 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 bicanarios, 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 genéticos 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 Nº 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 genéticos 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 Nº 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 genéticos 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 genéticos 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 genéticos 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 transfecan 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

10 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 intratísular (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 15 colocación (por ejemplo, un gránulo retinal o un suppositorio 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 20 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; 25 lipofectamina; celfectina; policationes (por ejemplo, polilisina) y liposomas.

25 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.

30 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 esterol, tal como colesterol. La selección de lípidos generalmente se guía 35 por la consideración de factores, tales como el tamaño de liposoma deseado y la semivida de los liposomas en el torrente sanguíneo. Se conocen una diversidad de 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 Nº 4.235.871, 4.501.728, 4.837.028 y 5.019.369.

40 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.

45 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.

50 Los restos inhibidores de la opsonización para su uso en la preparación de los liposomas son típicamente 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 Nº 4.920.016.

55 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 polietilenenglicol (PEG) o polipropilenenglicol (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 dendriméricas; 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 pectico, ácido neuramínico, ácido algínico, 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.

5 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 10 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 Na(CN)BH₃ y una mezcla de disolvente, tal como tetrahidrofurano y agua en una relación 30:12 a 60 °C.

15 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., 85: 6949-53. Además, la captación reducida por el RES reduce la toxicidad de los liposomas sigilosos evitando la acumulación 20 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.

25 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 genético de miR aislado, o una variante aislada o fragmento biológicamente activo del mismo, y un vehículo 30 farmacéuticamente aceptable. El al menos un producto genético de miR puede corresponder a un producto genético de miR que tiene un nivel reducido de expresión en células de cáncer sólido en relación con células de control adecuadas. El producto genético de miR aislado puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 o combinaciones de los mismos.

35 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, miRs-24-1, miR-24-2, miR-40 146, 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.

45 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, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1985).

50 Las presentes composiciones farmacéuticas comprenden al menos un producto genético 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 genético de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica 55 de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los codifican), que están encapsulados por liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender un gen o producto genético 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.

60 65 Las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un producto genético 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 modifian en la posición 2' en el producto genético 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 genético 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 genético 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 propelso. También puede incluirse un vehículo según se deseé; por ejemplo, lecitina para suministro intranasal.
- Las composiciones farmacéuticas pueden comprender además uno o más agentes antineoplásicos. Las composiciones comprenden al menos un producto genético 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 metaloproteinasa, ácidos nucleicos antisentido, ADN de triple hélice, aptámeros de ácidos nucleicos y agentes virales, bacterianos y exóticos 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, estreptozocina, CPT-11, taxol, tamoxifeno, dacarbacina, rituximab, daunorrubricina, 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 genético 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 genético de miR asociado con niveles de expresión reducidos en células cancerosas. Un aumento del nivel del producto genético 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 genético 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 genético de miR asociado con niveles de expresión aumentados en células cancerosas. Una reducción del nivel del producto genético de miR en la célula después de que se proporciona 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 tumorogénesis. Al menos un producto genético 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 genético 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:

5 *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 10 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 15 5 tejidos normales no relacionados. El ARN total se aisló de tejidos usando reactivo TRIzol™ (Invitrogen), de acuerdo con las instrucciones de fabricante.

15 *Micromatrices de microARN*

Se realizó análisis de micromatrices 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 20 micromatrices 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 micromatrices 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 25 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 micromatrices (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)).

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

Tipo de tumor	Muestras de cáncer	Muestras Normales
Cárcinoma de pulmón	123	123
Cárcinoma de mama	79	6*
Cárcinoma de colon	46	8
Cárcinoma 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 micromatrices 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 35 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 veces el 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 40 ensayo de t dentro de análisis significativo de micromatrices (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 45 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 50 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

- 5 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)).
- 10 15 Como una alternativa al ensayo de T, se usó análisis de significación de micromatrizes (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 micromatrizes). 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.
- 20 25 Resultados
- 30 35 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).

- 40 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-29h-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

ES 2 490 995 T3

miR-199a-3	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-34a	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-7c	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	0,049828

* - 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 micromatrices)*.

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	-3117	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	n	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	-1,734	0,2	0	0	0,46
prec						

ES 2 490 995 T3

miR-199a-2	Nº 192	1,721	0,196	0	0	1,838
miR-128b	Nº 115	1,674	0,228	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 micromatriz) 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	-0,2043
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

ES 2 490 995 T3

miR-199a-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.

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.

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 micromatrices (PAM) identifica los genes que caracterizan mejor cánceres y tejidos normales, mientras que el análisis de significación de micromatrices (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 micromatriz (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.

Tabla 9. MicroARN seleccionados por análisis de predicción de micromatriz (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-1285 (Nº 115)	0,0177	-0,102
miR-23 (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
miRs-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 micromatriz (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-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 micromatriz (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

ES 2 490 995 T3

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)	0,0984	-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-27a (Nº 59)	0,0405	-0,1351
miRs-92-1 (Nº 81)	0,0332	-0,1106
miRs-21 (Nº 47)	0,0288	-0,0959
miR-129-1/2 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 micromatriz (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-17-5p (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 (Nº 83)	0,0039	-0,0312
miR-223 (Nº 227)	0,0038	-0,0308
miR-16-1 (Nº 38)	0,0028	-0,0226
miR-101-1 prec (Nº 92)	0,0015	-0,0123
miR-124a-1 (Nº 104)	0,0015	-0,0119
miR-26a-1 (Nº 56)	0,0015	-0,0119
miR-214 (Nº 212)	0,0013	-0,0105
miR-27a (Nº 59)	0,0011	-0,0091
miR-24-1 (Nº 53)	-8,00E-04	0,0067
miR-106a (Nº 99)	7,00E-04	-0,0057
miR-199a-1 (Nº 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 micromatriz (PAM) en cáncer de estómago (cáncer frente a tejidos normales)*.

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-223 (Nº 227)	0,1896	-0,1806
miR-21 (Nº 47)	0,1872	-0,1783
miR-218-2 (Nº 221)	-0,1552	0,1478
miR-103-2 (Nº 96)	0,1206	-0,1148
miR-92-2 (Nº 82)	0,1142	-0,1088
miR-25 (Nº 55)	0,1097	-0,1045
miR-136 (Nº 130)	-0,1097	0,1045
miR-191 (Nº 177)	0,0946	-0,0901
miR-221 (Nº 224)	0,0919	-0,0876
miR-125b-2 (Nº 111)	0,0913	-0,0869
miR-103-1 (Nº 97)	0,0837	-0,0797
miR-214 (Nº 212)	0,0749	-0,0713
miR-222 (Nº 225)	0,0749	-0,0713
miR-212 prec (Nº 209)	-0,054	0,0514
miR-125b-1 (Nº 109)	0,0528	-0,0503
miR-100 (Nº 91)	0,0526	-0,0501
miR-107 (Nº 100)	0,0388	-0,0369
miR-92-1 (Nº 81)	0,0369	-0,0351
miR-96 (Nº 86)	-0,0306	0,0291
miR-192 (Nº 178)	0,0236	-0,0224
miR-23a (Nº 50)	0,022	-0,021
miR-215 (Nº 213)	0,0204	-0,0194
miR-7-2 (Nº 21)	0,0189	-0,018
miR-138-2 (Nº 133)	-0,0185	0,0176
miR-24-1 (Nº 52)	0,0151	-0,0144
miR-99b (Nº 89)	0,0098	-0,0093
miR-33b (Nº 76)	-0,0049	0,0046
miR-24-2 (Nº 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 = $2,5 \times 10^{-3}$).

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).

- 5 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).
 10 Este árbol claramente muestra qué miARN están asociados con un histotipo de cáncer particular.

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 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 cánceres de colon, estómago, próstata y páncreas, pero no en carcinomas de pulmón y mama.

25 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 tumorogénesis humana. En tercer lugar, los datos de micromatrizes 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 micromatrizes.

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

Materiales y métodos:

40 *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 Lexis 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.

5 *Ensayos in vitro de diana*

Para experimentos de indicador de luciferasa, se amplificaron segmentos UTR 3' de Rb1, TGFB2 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 cotransfектaron 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, 10 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).

15

20 *Transferencia de Western para RB1*

20 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).

25 *Resultados*

30 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, 35 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 micromatriz) 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 recessivos (por ejemplo, supresores de tumores) o dominantes (por ejemplo, oncogenes). Para 40 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).

45 Las predicciones informáticas para tres genes de cáncer diferentes, Retinoblastoma (Rb), receptor de TGF-beta-2 (TGFB2) 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 50 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 TGFB2 se expresa en el epitelio de 55 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 TGFB2, además de inactivación mutacional (Biswas, S., *et al.*, Cancer Res. 64: 687-692 (2004)).

60 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))

- 5 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.

10 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 marino 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, miR-155 miR-138, miR-92	BCL11A	CLL de linfocitos B/linfoma 11A
miR-20	BCL11B	CLL de linfocitos B/linfoma 11B (CTIP2)
miR-21	BCL2	CLL de linfocitos B/linfoma 2
miR-26a, miR-26a miR-20, miR-92	BCL6	CLL de linfocitos B/linfoma 6 (proteína de dedo de cinc 51)
miR-26a, miR-223 miR-221, miR-125b	BCL9	CLL de linfocitos B/linfoma 9
miR-218	CBFB	subunidad beta del factor de unión al núcleo
miR-20	CCDC6	que contiene dominio superenrollado 6
miR-26a, miR-20	CCND1	ciclina D1 (PRAD1:adenomatosis paratiroides 1)
miR-26a, miR-107, miR-92	CCND2	ciclina D2
miR-20	CDK6	quinasa dependiente de ciclina 6
miR-221, miR-92	CDKN1A	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A (p21, Cip1)
miR-24	CDKN1C	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1C (p57, Kip2)
miR-92	CDX2	factor de transcripción de caja homeótica de tipo caudal 2
miR-26a	CEBPA	CCAAT/proteína de unión potenciadora (C/EBP), alfa
miR-218	CLTC	clatrina, polipéptido pesado (Hc)
miR-26a	COL1A1	colágeno, tipo I, alfa 1
miR-20	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 FB1
miR-92	FOXP1B	G1B de caja forkhead

ES 2 490 995 T3

miR-223	FOXO3A	03A 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	HMG A1	gancho AT de grupo de alta movilidad 1
miR-20	HEXA13	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 musculoaponeurótico (aviar) v-maf
miR-92	MAP2K4	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 4
miR-146, miR-20	MAP3K8	proteína quinasa 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 mieloide/linfoide 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 mielocitomatosis 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/queixina tipo 7
miR-24, miR-146	PER1	homólogo de periodo 1 (<i>Drosophila</i>)
miR-146, miR-125b, miR-138, miR-155	PHOX2B	homeocaja de tipo emparejado 2b
miR-24, miR-26a	PICALM	proteína de ensamblaje de clatrina de unión a fosfatidilinositol (CALM)
miR-24, miR-26a, miR-21, miR-107, miR-20, miR-155	PIM1	oncogén pim-1
miR-218	PLAG1	gen de adenoma pleiomórfico 1
miR-24, miR-221	RAB8A	RAB8A, miembro de la familia de oncogén RAS
miR-138	RALA	homólogo A del oncogén viral de leucemia de simio v-ras (relacionado con ras)
miR-20, miR-192	RARA	receptor de ácido retinoico, alfa
miR-20,	RB1	retinoblastoma 1 (incluyendo osteosarcoma)
miR-20,	RBL1	tipo retinoblastoma 1 (p107)
miR-155, miR-138	RBL2	tipo retinoblastoma 2 (p130)
miR-20, miR-138	REL	homólogo de oncogén viral de reticuloendoteliosis aviar v-rel
miR-20, miR-192	RHO C	familia del gen homólogo de ras, miembro C
	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) <i>spi1</i>
miR-125b	SS18	translocación de sarcoma sinovial, cromosoma 18
miR-107, miR-155	SUFU	supresor de homólogo fusionado (<i>Drosophila</i>)
miR-92	TAF-15	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 (HLF4, 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	WNTSA	familia del sitio de integración de MMTV 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 (Ikars)

* - 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.

5

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> CROCE, CARLO M.

CALIN, GEORGE A.

10

VOLINIA, STEFANO

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

15

<130> 1-28349

<140> 12/160.061

<141> 03-01-2008

20

<150> PCT/US07/000159

<151> 03-01-2007

<150> 60/756.585

<151> 05-01-2006

25

<160> 498

<170> PatentIn versión 3.5

	<210> 1	
	<211> 90	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 1	
	cacuguggga ugagguagua gguuguauag uuuuaggguc acacccacca cugggagaua	60
	acuauacaau cuacugucuu uccuaacgug	90
10	<210> 2	
	<211> 72	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 2	
	aggugaggua aguaggugua auaguuuaga auuacaucaa gggagauaac uguacagccu	60
	ccuagcnuuc cu 72	
20	<210> 3	
	<211> 74	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 3	
	gggugaggua guagguugua uaguuugggg cucugccug cuaugggaua acuauacaau	60
	cuacugucuu uccu	74
30	<210> 4	
	<211> 107	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 4	
	gugacugcau gcucccaggu ugagguagua gguuguauag uuuagaauua cacaaggag	60
35	auaacuguac agccuccuag cuuuuccuugg gucuugcacu aaacaac	107
	<210> 5	
	<211> 85	
	<212> ARN	
40	<213> Homo sapiens	
	<400> 5	
	ggcgggguga gguaguaggua ugugugguuu cagggcagug auguugcccc ucggaagaua	60
	acuauacaac cuacugccuu cccug	85
45	<210> 6	
	<211> 84	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
50	<400> 6	

	gcauccgggu ugagguagua gguuguaugg uuuagaguua cacccuggga guuaacugua	60
	caaccuucua gcuuuuccuug gago	84
	<210> 7	
5	<211> 87	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 7	
	ccuaggaaga gguaguagg gucauaguuu uagggcaggg auuuugccca caaggaggua	60
10	acuauacgac cugcugccuu ucuuagg	87
	<210> 8	
	<211> 85	
15	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 8	
	cuaggaagag guaguaguuu gcauaguuu aggccaaga uuuugcccac aaguaguuag	60
	cuauacgacc ugcagccuuu uguag	85
20	<210> 9	
	<211> 85	
	<212> ARN	
25	<213> Homo sapiens	
	<400> 9	
	cuggcugagg uaguaguuug ugcuuguuggu cggguuguga cauugccccgc uguggagaua	60
	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
30	<210> 10	
	<211> 79	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 10	
	ccccggcuga gguaggaggu uguauaguuu aggaggacac ccaaggagau cacuauacgg	60
	ccuccuacgu uuccccagg	79
40	<210> 11	
	<211> 87	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 11	
45	ucagagugag guaguagauu guauaguugu gggguaguga uuuuacccug uucaggagau	60
	aacuauacaa ucuauugccu ucccuga	87
	<210> 12	
	<211> 89	

	<212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 12	
	cugugggaug agguaguaga uuguauaguu gugggguaqu gauuuuaccc uguucaggag	60
	auaacuauac aaucuauugc cuucccuga	89
10	<210> 13 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 13	
	cugugggaug agguaguaga uuguauaguu uuagggucau accccaucuu ggagauaacu	60
15	auacagucua cugucuuucc cacgg	85
20	<210> 14 <211> 108 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 14	
	uugccugauu ccaggcugag guaguaguuu guacaguuug agggucuaug auaccacccg	60
	guacaggaga uaacuguaca ggcacugcc uugccaggaa cagcgcc	108
25	<210> 15 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 15	
	cuggcugagg uaguaguuug ugcuguuggu cggguuguga cauugcccgc uguggagaua	60
	acugcgcaag cuacugccuu gcuaq	85
35	<210> 16 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 16	
	accuacucag aguacauacu ucuuuaugua cccauaugaa cauacaugc uauggaaugu	60
	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85
45	<210> 17 <211> 108 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 17	

	cagcuaacaa cuuaguaua ccuacucaga guacauacuu cuuuauguac ccauaugaac	60
	auacaauugcu auggaaugua aagaaguaug uauuuuuuggu aggcaaua	108
	<210> 18	
	<211> 85	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 18	
	gccugcuugg gaaacauacu ucuuuauaug cccauaugga ccugcuaggc uauggaaugu	60
10	aaagaaguau guaucucagg ccgggg	85
	<210> 19	
	<211> 71	
	<212> ARN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 19	
	ugggaaacau acuucuuau augcccauau ggaccugcua agcuauggaa uguaaagaag	60
	uauguaucuc a	71
20	<210> 20	
	<211> 85	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 20	
	accuacucag aguacauacu ucuuuaugua cccauauggaa cauacaaugc uauggaaugu	60
	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85
30	<210> 21	
	<211> 108	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 21	
	uggauuguugg ccuaguucug uguggaagac uagugauuuu guuguuuuua gauaacuaaa	60
	ucgacaacaa aucacaguucu gccauauggc acaggccaug ccucuaca	108
	<210> 22	
40	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 22	
45	uuggauguug gccuaguucu guguggaaga cuagugauuu uguguuuuu agauaacuaa	60
	aucgacaaca aaucacaguc ugccauaugg cacaggccau gccucuacag	110
	<210> 23	
	<211> 110	
50	<212> ARN	

	<213> Homo sapiens	
	<400> 23	
	cuggauacag aguggaccgg cuggccccau cuggaagacu agugauuuug uuguugucuu	60
5	acugcgcuca acaacaaauc ccagucuacc uaauggugcc agccaucgca	110
	<210> 24	
	<211> 110	
	<212> ARN	
10	<213> Homo sapiens	
	<400> 24	
	agauuagagu ggcugugguc uagugcugug uggaagacua gugauuuugu uguucugaug	60
	uacuacgaca acaagucaca gccggccuca uagcgcgac uccuuucgac	110
15	<210> 25	
	<211> 89	
	<212> ARN	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 25	
	cgggguuggu uguuaucuuu gguuaucuag cuguaugagu gguguggagu cuucauaag	60
	cuagauaacc gaaaguaaaa auaacccca	89
25	<210> 26	
	<211> 87	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 26	
	ggaagcgagu uguuaucuuu gguuaucuag cuguaugagu guauuggucu ucauaaagcu	60
	agauaaccga aaguaaaaac uccuuca	87
35	<210> 27	
	<211> 90	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 27	
40	ggaggccccgu uucucucuuu gguuaucuag cuguaugagu gcccacagagc cgucauaaag	60
	cuagauaacc gaaaguagaa augauuucuca	90
	<210> 28	
	<211> 110	
	<212> ARN	
45	<213> Homo sapiens	
	<400> 28	
	gaucugucug ucuucugua auacccugua gauccgaaau uguaguaagga auuuuguggu	60
50	cacaaauucg uaucuagggg aauauguagu ugacauaaac acuccggcucu	110

	<210> 29 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 29	
	ccagaggug uaacguuguc uauauauacc cuguagaacc gaauuuugug gguauccgua	60
	uagucacaga uucgauucua gggaaauua ugugucgaugc aaaaacuuca	110
10	<210> 30 <211> 108 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 30	
	gcgcgaaugu guguuuaaaa aaaaussaac cuuggaguua aguaggcagca cauaauugguu	60
	uguggauuuu gaaaaggugc aggccauuu gugcugccuc aaaaauac	108
20	<210> 31 <211> 83 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 31	
	ccuuggagua aaguagcagc acauaauggu uuguggauuu ugaaaaggug caggccauau	60
	ugugcugccu caaaaauaca agg	83
30	<210> 32 <211> 64 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 32	
	cuguagcagc acaucauggu uuacaugcua cagucaagau gcgaaucuu auuugcugcu	60
	cuag	64
40	<210> 33 <211> 98 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 33	
	uugaggccuu aaaguacugu agcagcacau caugguuuac augcuacagu caagaugcga	60
	aucauuauuu gcugcucuag aaaaauaagg aauuucau	98
50	<210> 34 <211> 89 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 34	

	gucagcagug ccuuagcagc acguaaaaau uggcguaag auucuaaaaau uaucuccagu	60
	auuaacugug cugcugaagu aaggugac	89
	<210> 35	
5	<211> 81	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 35	
	guucccacucu agcagcacgu aaauauuggc guagugaaau auauauuaaa caccaauuu	60
10	acugugcugc uuuaguguga c	81
	<210> 36	
	<211> 81	
15	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 36	
	gcagugccuu agcagcacgu aaauauuggc guuaagauuc uaaaaauuauc uccaguauua	60
	acugugcugc ugaaguaagg u	81
20	<210> 37	
	<211> 84	
	<212> ARN	
25	<213> Homo sapiens	
	<400> 37	
	gucagaauaa ugucaaagug cuuacagugc agguagugau augugcaucu acugcaguga	60
	aggcacuugu agcauuauugg ugac	84
30	<210> 38	
	<211> 71	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 38	
	uguuucuaagg ugcaucuagu gcagauagug aaguagauua gcaucuacug cccuaagugc	60
	uccuucuggc a	71
	<210> 39	
40	<211> 81	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 39	
45	uuuuuuguucu aaggugcauc uagugcagau agugaaguag auuagcaucu acugccuua	60
	gugcuccuuc uggcauaaga a	81
	<210> 40	
	<211> 82	
50	<212> ARN	

ES 2 490 995 T3

	<213> Homo sapiens	
	<400> 40	
	gcaguccucu guuaguuuug cauaguugca cuacaagaag aauguaguug ugcaaaucua	60
5	ugcaaaacug augguggccu gc	82
	<210> 41	
	<211> 80	
	<212> ARN	
10	<213> Homo sapiens	
	<400> 41	
	caguccucug uuaguuuugc auaguugcac uacaagaaga auguaguugu gcaaaucuau	60
	gcaaaacuga ugguggccug	80
15	<210> 42	
	<211> 87	
	<212> ARN	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 42	
	cacuguucua ugguuaguuu ugcaagguuug cauccagcug ugugauauuc ugugugugcaa	60
	auccaugcaa aacugacugu gguagug	87
25	<210> 43	
	<211> 96	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 43	
	acaauugcuac uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcuauauau guauaugugg	60
	cugugcaaa ccaugcaaaa cugauuguga uaaugu	96
35	<210> 44	
	<211> 80	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 44	
40	uucuaugguu aguuuugcag guuugcaucc agcuguguga uauucugcug ugcaaaucua	60
	ugcaaaacug acugugguag	80
	<210> 45	
	<211> 81	
45	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 45	
	uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcuauauau guauaugugg cugugcaaa	60
50	ccaugcaaaa cugauuguga u	81

	<210> 46 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 46	
	guagcacuaa agugcuuaua gugcaggua <u>g</u> uuuuaguua ucuacugcau ua <u>g</u> acacu	60
	ua <u>a</u> aguacug c	71
10	<210> 47 <211> 72 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 47	
	ugucggguag cuuau <u>c</u> ac ugauguug <u>ac</u> uguuga <u>au</u> cu caugg <u>ca</u> aca ccaguc <u>ga</u> ug	60
	gcu <u>gu</u> ucu <u>ga</u> ca	72
20	<210> 48 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 48	
	accuug <u>u</u> cgg guag <u>cu</u> uauc agacug <u>u</u> gu ugacug <u>u</u> u <u>g</u> a <u>u</u> cu <u>u</u> agg <u>g</u> a <u>ac</u> acc <u>u</u> ac <u>u</u> g <u>u</u> cc	60
	gaug <u>gg</u> gcu <u>gu</u> cu <u>g</u> ac <u>au</u> uuuu g	81
30	<210> 49 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 49	
	gg <u>cu</u> u <u>g</u> ag <u>cc</u> g caguagu <u>u</u> cu uc <u>ag</u> ugg <u>ca</u> aa g <u>cu</u> uu <u>u</u> aug <u>u</u> uc cu <u>g</u> ac <u>cc</u> u <u>g</u> ac uaa <u>ag</u> cu <u>g</u> cc	60
	agu <u>u</u> ga <u>ag</u> aa cu <u>g</u> u <u>u</u> g <u>cc</u> cu cu <u>g</u> cc	85
40	<210> 50 <211> 73 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 50	
	gg <u>cc</u> gg <u>cc</u> u <u>gg</u> gg <u>uu</u> cc <u>u</u> gg <u>gg</u> gaug <u>gg</u> auuu g <u>cu</u> uu <u>cc</u> u <u>g</u> uc ac <u>aa</u> u <u>c</u> aca u <u>u</u> g <u>cc</u> agg <u>gg</u> a	60
	uu <u>u</u> cc <u>aa</u> acc <u>g</u> acc	73
50	<210> 51 <211> 97 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 51	

ES 2 490 995 T3

	cucaggugcu cuggcugcuu ggguccugg caugcugauu ugugacuuua gauuzaaauc acaauugccag ggauuaccac gcaaccacga ccuuggc	60 97
5	<210> 52 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 52	
10	ccacggccgg cugggguucc uggggauuggg auuugcuucc ugucacaaa cacauugcca gggauuuucca accegaccug a	60 81
15	<210> 53 <211> 68 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 53	
20	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg aacaggag	60 68
25	<210> 54 <211> 73 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 54	
30	cucuGCCUCC CGUGCCUACU gagcugaaac acaguugguu uguguacacu ggcucaguuc agcaggaaca ggg	60 73
35	<210> 55 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 55	
40	cccugggcuc ugccucccggu gccuacugag cugaaacaca guugguuugu guacacuggc ucaguucagc aggaacaggg g	60 81
45	<210> 56 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 56	
	cccuCCGGUG CCUACUGAGC ugauaucagu ucuauuuua cacacuggcu caguucagca ggaacagcau c	60 71
	<210> 57 <211> 84	

ES 2 490 995 T3

	<212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 57	
	ggccaguguu gagaggcgga gacuugggca auugcuggac gcugccugg gcauugcacu	60
	ugucucgguc ugacagugcc ggcc	84
10	<210> 58 <211> 86 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 58	
	aggccguggc cucguucaag uaauccagga uaggcugugc aggucccaaau ggccuaucuu	60
15	gguuacuugc acggggacgc gggccu	86
20	<210> 59 <211> 77 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 59	
	guggccucgu ucaaguuauc caggauaggc ugugcagguc ccaaugggcc uauucuuggu	60
	uacuuugcacg gggacgc	77
25	<210> 60 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 60	
	ggcuguggcu ggauucaagu aauccaggau aggcuuuuc caucugugag gccuaauucuu	60
	gauuacuugu uucuggaggc agcu	84
35	<210> 61 <211> 77 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 61	
	ccgggaccca guucaaguua uucaggauag guugugugcu guccagccug uucuccauua	60
	cuuggcucgg ggaccgg	77
45	<210> 62 <211> 78 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 62	

ES 2 490 995 T3

	cugaggagca gggcuuagcu gcuugugagc aggguccaca ccaagucgug uucacagugg	60
	cuaaguuccg ccccccag	78
	<210> 63	
	<211> 73	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 63	
	aggugcagag cuuagcugau uguguaacag ugauugguuu ccgcuuuguu cacaguggcu	60
10	aaguucugca ccu	73
	<210> 64	
	<211> 97	
	<212> ARN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 64	
	accucucuaa caaggugcag agcuaagcuq auuggugaac agugauuggu uuccgcuuuug	60
	uucacagugg cuaaguucug caccugaaga gaaggug	97
20	<210> 65	
	<211> 80	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 65	
	ccugaggagc agggcuuagc ugcuugugag caggguccac accaagucgu guucacagug	60
	gcuaaguucc gccccccagg	80
30	<210> 66	
	<211> 86	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 66	
	gguccuugcc cucaaggagc ucacagucua uugaguuacc uuucugacuu ucccacuaga	60
	uugugagcuc cuggagggca ggcacu	86
40	<210> 67	
	<211> 108	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 67	
	ccuucuguga cccuuuagag gaugacugau uuuuuuuggu guucagaguc aaauaaauuu	60
	ucuagcacca ucugaaaucg guuauaauga uuggggaaaga gcaccaug	108
	<210> 68	
	<211> 64	
50	<212> ARN	

ES 2 490 995 T3

	<213> Homo sapiens	
	<400> 68	
	augacugauu ucuuuuggug uucagaguca auauaaauuu cuagcaccau cugaaaucgg	60
5	uuau	64
	<210> 69	
	<211> 81	
	<212> ARN	
10	<213> Homo sapiens	
	<400> 69	
	cuucaggaag cugguuucau auggugguuu agauuuuaau aqugauuguc uagcaccauu	60
	ugaaaaucagu guucuugggg g	81
15		
	<210> 70	
	<211> 81	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 70	
	cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuuucc aucuuuguau cuagcaccau	60
	uugaaaaucag uguuuuuagg g	81
25	<210> 71	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 71	
	accacuggcc caucucuuac acaggcugac cgauuucucc ugguuuucag agucuguuuu	60
	ugucuagcac cauuugaaa cgguuaugau guagggggaa aagcagcagc	110
35	<210> 72	
	<211> 71	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 72	
40	gcgacuguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gauggggcuuu cagucggcug	60
	uuugcagcug c	71
	<210> 73	
	<211> 60	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 73	
	auguaaacau ccuacacuca gcuguaauac auggauuggc ugaggaggugg auguuuacgu	60
50	<210> 74	
	<211> 88	
	<212> ARN	

ES 2 490 995 T3

	<213> Homo sapiens	
	<400> 74	
	accaaguuuc aguucaugua aacauccuac acucagcugu aauacauugga uuggcuggga	60
	ggugggauguu uacuuucagcu gacuugga	88
5		
	<210> 75	
	<211> 72	
	<212> ARN	
10	<213> Homo sapiens	
	<400> 75	
	agauacugua aacauccuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug	60
	uuuacucuuu cu	72
15		
	<210> 76	
	<211> 70	
	<212> ARN	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 76	
	guuguuuguua acauccccga cuggaagcug uaagacacag cuagcuuuc agucagaugu	60
	uugcugcuac	70
25		
	<210> 77	
	<211> 64	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 77	
	cuguaaacau ccuugacugg aagcuguaag guguucagag gagcuuucag ucggauuuu	60
	acag	64
35		
	<210> 78	
	<211> 71	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 78	
40		
	ggagagggagg caagaugcug gcauagcugu ugaacuggga accugcuaug ccaacauuuu	60
	gccaucuuuc c	71
45		
	<210> 79	
	<211> 70	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 79	
50		
	ggagauauug cacauuacua aguugcaugu ugucacggcc ucaaugcaau uuagugugug	60
	ugauauuuuuc	70

	<210> 80 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 80	
	ggggggccgag agaggcgccc ggccccgggg ugcauugcug uugcauugca cgugugugag	60
	gcggggugcag ugccucggca gugcagcccc gagccggccc cuggcaccac	110
10	<210> 81 <211> 88 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 81	
	accaaguuuuc aguucaugua aacaucuac acucagcugu aauacaugga uuggcuggga	60
	ggugggauguu uacuuucagcu gacuugga	88
20	<210> 82 <211> 69 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 82	
	cuguggugca uuguaguugc auugcauguu cuggugguac ccaugcaaag uuucccacagu	60
	gcaucacag	69
30	<210> 83 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 83	
	ggccagcugu gaguguuuucu uuggcagugu cuuagcuggu uguugugage aauaguaagg	60
	aagcaaucag caaguauacu gcccuaagaag ugcuugcacgu uguggggccc	110
40	<210> 84 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 84	
	gugcucgguu uguagggcagu gucauuagcu gauuguacug ugugguuac aaucacuaac	60
	uccacugcca ucaaaacaag gcac	84
50	<210> 85 <211> 77 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 85	

ES 2 490 995 T3

	agucuaaguua cuaggcagug uaguuagcug auugcuaua guaccaaauca cuaaccacac	60
	ggccagguaa aaagauu	77
	<210> 86	
	<211> 82	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 86	
	ucagaaauaa gucaaagugc uuacagugca gguagugaua ugugcaucua cugcagugaa	60
10	ggcacuugua gcauuauggu ga	82
	<210> 87	
	<211> 78	
	<212> ARN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 87	
	cuuucuacac agguugggau cgguugcaau gcuuguguuuc uguauuggau ugcacuuguc	60
	ccggccuguu gaguuugg	78
20	<210> 88	
	<211> 75	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 88	
	ucaucccugg guggggauuu guugcauuac uuguguuucua uauaaaguau ugcacuuguc	60
	ccggccugug gaaga	75
30	<210> 89	
	<211> 80	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 89	
	cugggggcuc caaagugcug uucgugcagg uagugugauu acccaaccua cugcugagcu	60
	agcacuuccc gagccccccgg	80
	<210> 90	
	<211> 81	
	<212> ARN	
40	<213> Homo sapiens	
	<400> 90	
	aacacagugg gcacucaaua aaugucuguu gaauugaaaau gcguuacauu caacgguaau	60
45	uuauugagca cccacucugu g	81

	<210> 91 <211> 78 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 91	
	<u>uggccgauuu uggcacuagc acauuuuuugc uugugucucu ccgcucugag caaucaugug</u>	60
	<u>cagugccaaau auggggaaa</u>	78
10	<210> 92 <211> 80 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 92	
	<u>gugagcgacu guaaacaucc ucgacuggaa gcugugaagg cacagaugggg cuuucagucg</u>	60
	<u>gauguuugca gcugccuacu</u>	80
20	<210> 93 <211> 80 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 93	
	<u>gugagguagu aaguuguauu guugugggggu agggauauua ggcccccaauu agaagauaac</u>	60
	<u>uauacaacuu acuacuuuucc</u>	80
30	<210> 94 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 94	
	<u>ggcacccacc cguagaacct accuugcggg gcuuucgccc cacacaagcu cgugucugug</u>	60
	<u>ggucccguguc</u>	70
40	<210> 95 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 95	
	<u>cccauuggca uaaacccqua gauccgaucu uguggugaag ugaccgcac aagcucgcuu</u>	60
	<u>cuauggguuu gugucagugu g</u>	81
50	<210> 96 <211> 108 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 96	

ES 2 490 995 T3

	aagagagaag auauugaggc cuguugccac aaacccguag auccgaacuu gugguaauag	60
	uccgcacaag cuuguaucua uagguauugug ucuguuaggc aaucucac	108
	<210> 97	
5	<211> 80	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 97	
	ccuguugcca caaacccgua gauccgaacu ugugguaaua guccgcacaa gcuuguaucu	60
10	auagguaugu gucuguuagg	80
	<210> 98	
	<211> 110	
15	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 98	
	aggcugccu ggcucaguua ucacagugcu gaugcugucu auucuaagg uacaguacug	60
20	ugauuaacuga aggauggcag ccaucuuacc uuccaucaga ggagccucac	110
	<210> 99	
	<211> 57	
25	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 99	
	ucaguuauca cagugcugau gcuguccauu cuaaagguac aguacuguga uaacuga 57	
30	<210> 100	
	<211> 75	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 100	
35	ugcccuaggcu caguuaucac agugcugaug cugucuaauuc uaaagguaca guacugugau	60
	aacugaagga uggca	75
	<210> 101	
	<211> 79	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 101	
	acuguccuuu uucgguuauc augguaccga ugcuguaaua cugaaaggua caguacugug	60
45	auaacugaag aaugguggu	79
	<210> 102	
	<211> 75	
50	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 102	

ES 2 490 995 T3

	uguccuuuuu cgguaaucau gguaccgaug cuguauaucu gaaagguaaca guacugugau	60
	aacugaagaa ugugug	75
	<210> 103	
	<211> 81	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 103	
	cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuuucc aucuuugua cuagcaccau	60
10	uugaaaucag uguuuuagga g	81
	<210> 104	
	<211> 81	
	<212> ARN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 104	
	cuucaggaag cugguuucau auggugguuu agauuuaaaau agugauuguc uagcaccauu	60
	ugaaaaucagu guucuugggg g	81
20	<210> 105	
	<211> 78	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 105	
	uugugcuuuc agcuucuuua cagugcugcc uuguagcauu caggucaagc aacauuguac	60
	agggcuauga aagaacca	78
30	<210> 106	
	<211> 78	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 106	
	uacugcccuc ggcuucuuua cagugcugcc uuguugcaua uggaucagc agcauuguac	60
	agggcuauga aggcauug	78
	<210> 107	
40	<211> 78	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 107	
45	aaaugucaga cagcccaucg acuggugug ccaugagauu caacagucaa caucagucug	60
	auaagcuacc cgacaagg	78
	<210> 108	
	<211> 81	

ES 2 490 995 T3

	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 108	
	ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cucaugcacc acggauguuu	60
	gagcaugugc uacggugucu a	81
10	<210> 109	
	<211> 81	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 109	
	ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cuuaugcacc acggauguuu	60
	gagcaugugc uauggugu<u>c</u> a	81
15	<210> 110	
	<211> 81	
	<212> ARN	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 110	
	ccuuggccau guaaaagugc uuacagugca gguagcuuuu ugagaucuac ugcaauguua	60
	gcacuucuuu cauuaccaug g	81
25	<210> 111	
	<211> 82	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 111	
	ccugccgggg cuaaagugcu gacagugcag auaguggucc ucuccgugcu accgcacugu	60
	ggguacuuggc ugcuccagca gg	82
35	<210> 112	
	<211> 81	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 112	
	cucucugcuu ucagcuccuu uacaguguuug ccuuguggca ugagagucaa gcagcauugg	60
	acagggcuaa caaagcacag a	81
45	<210> 113	
	<211> 90	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
50	<400> 113	

ES 2 490 995 T3

	acacugcaag aacaauaagg auuuuuuaggg gcauuauugac ugagucagaa aacacagcug	60
	ccccugaaag ucccucauuu uucuuggcugu	90
	<210> 114	
	<211> 80	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 114	
	acugcaagag caauaaggau uuuuaggggc auuaugauag uggaauuggaa acacaucugc	60
10	ccccaaaagu cccucauuuu	80
	<210> 115	
	<211> 85	
	<212> ARN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 115	
	ccuuuagcaga gcuguggag u gugacaugg ug uuuuguguc uaaacua uca aacgccauua	60
	ucacacuaaa uagcuacugc uaggc	85
20	<210> 116	
	<211> 66	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 116	
	agcuguggag ugugacaau guguuugugu ccaaacua uc aaacgccau uca cacacu aa	60
	auagcu	66
30	<210> 117	
	<211> 61	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 117	
	acaauauuac uuuugguacg cgcuugugaca cuucaa acu c guaccgugag uaauaaugcg	60
	c	61
	<210> 118	
40	<211> 85	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 118	
45	aggccucucu cuccguguuc acagcg gacc uugauuuaaa uguccauaca auuaaggcac	60
	gcggugaaug ccaagaauugg ggcug	85
	<210> 119	
	<211> 110	
50	<212> ARN	

ES 2 490 995 T3

	<213> Homo sapiens	
	<400> 119	
	aucaagauua gaggcucugc ucuccguguu cacagcggac cuugauuuaa ugucauacaa	60
5	uuuaggcacg cggugaaugc caagagcgga gccuacggcu gcacuugaag	110
	<210> 120	
	<211> 87	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 120	
	ugagggcccc ucugcguguu cacagcggac cuugauuuaa ugucuauaca auuaaggcac	60
15	gcggugaaug ccaagagagg gcccucc	87
	<210> 121	
	<211> 68	
	<212> ARN	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 121	
	cucugcgugu ucacagcgga ccuugauuuua augucuauac aaauuaaggca cgccggugaa	60
	gccaagag	68
25	<210> 122	
	<211> 67	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 122	
	cucuccgugu ucacagcgga ccuugauuuua augucuauaca aaauuaaggcac gcggugaaug	60
	ccaagag	67
35	<210> 123	
	<211> 86	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 123	
40	ugccagucuc uagguccug agacccuuua accugugagg acauccaggg ucacagguga	60
	gguucuuggg agccuggcgu cuggcc	86
	<210> 124	
	<211> 65	
45	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 124	
	gguccugag acccuuuuac cugugaggac auccaggugc acaggugagg uuucuugggag	60
50	ccugg	65

	<210> 125 <211> 88 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 125	
	ugcgccuccuc ucagucccug agacccuaac uuugugauuu uaccguuuua auccacgggu	60
	uaggcucuug ggagcugcga gucgugcu	88
10	<210> 126 <211> 89 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 126	
	accagacuuu uccuaquccc ugagacccua acuuugugagg uauuuuagua acaucacaag	60
	ucaggcucuu gggaccuagg cggaggggga	89
20	<210> 127 <211> 85 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 127	
	cgcuggcgac gggacauuaau uacuuuuuggu acgogcuuq acacuucaaa cucguaccgu	60
	gaguuaauaa gcgccgucca cggca	85
30	<210> 128 <211> 61 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 128	
	acauuauuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uaaaaaugcg	60
	c	61
40	<210> 129 <211> 97 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 129	
	ugugaucacu gucuccagcc ugcugaagcu cagagggcuc ugauucagaa agaucaucgg	60
	auccgucuga gcuuggcugg ucggaagucu caucauc	97
50	<210> 130 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 130	

ES 2 490 995 T3

	ccagccugcu gaagcucaga gggcucugau ucagaaagau caucggaucc gucugagcuu	60
	ggcugggucgg	70
	<210> 131	
	<211> 82	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 131	
	ugagcuguuug gauucggggc cguagcacug ucugagaggu uuacauuuuuu cacagugaac	60
10	cggucucuuu uucagcugcu uc	82
	<210> 132	
	<211> 110	
	<212> ARN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 132	
	gccccggcagc cacugugcaag ugaaaagggg ggccgauaca cuguacgaga gugaguagca	60
	ggucucacag ugaaccgguc ucuuuuccua cugugucaca cuccuaugg	110
20	<210> 133	
	<211> 70	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 133	
	guuggauucg gggccguagc acugucugag agguuuuacau uucucacagu gaaccggucu	60
	cuuuuuucagc	70
30	<210> 134	
	<211> 74	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 134	
	uggaucuuuu ugccccucagg gcuucgcuguu ccucucaaca guagucagga agccuuuacc	60
	ccaaaaagua ucua	74
40	<210> 135	
	<211> 90	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 135	
	ugccuuucgc gaaucuuuuu gcgguccuggg cuugcuguac auaacucaa agccggaaagc	60
	ccuuuacccca aaaagcauuu gcggaggccg	90
	<210> 136	
	<211> 89	
50	<212> ARN	

ES 2 490 995 T3

	<213> Homo sapiens	
	<400> 136	
	ugcugcuggc cagagcucuu uucacauugu gcuacugucu gcaccuguca cuagcagugc	60
5	aauguuaaaa gggcauuggc cguguagug	89
	<210> 137	
	<211> 110	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 137	
	gccaggaggc gggguugguu guuaucuuug guuaucuagc uquaugagug guguggaguc	60
15	uucauuaagc uagauaaccg aaaguuaaaa uaaccccaua cacugcgca	110
	<210> 138	
	<211> 110	
	<212> ARN	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 138	
	cacggcgcg cagcgccacu ggcuaaggga ggcccguuuc ucucuuuggu uaucuagcug	60
	uaugagugcc acagagccgu cauaaagcua gauaaccgaa aguagaaaug	110
25	<210> 139	
	<211> 72	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 139	
	guuguuaucu uugguuaucu agcuguauga guguauuggu cuucauaaag cuagauaacc	60
	gaaquaaaa ac	72
35	<210> 140	
	<211> 101	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 140	
	ccgccccccgc gucuccaggg caacccguggc uuucgauugu uacuguggga acuggaggua	60
	acagucuaca gccaugguug ccccgagca cgccccacgca c	101
45	<210> 141	
	<211> 66	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 141	
	gggcaaccgu ggcuuuucgau uguuacugug ggaacuggag guaacagucu acagccauugg	60
50	ucgccc	66

	<210> 142 <211> 88 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 142	
	acaaugcuuu gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuucaaung gauuuggucc	60
	ccuucaacca gcuguagcua ugcauuga	88
10	<210> 143 <211> 102 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 143	
	gggagccaaa ugeuuuugcua gagcugguaa aauggaacca aaucgacugu ccaauggauu	60
	ugguccccuu caaccagcug uagcugugca uugauggcgc cg	102
20	<210> 144 <211> 68 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 144	
	gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuucaaung gauuuggucc ccuucaacca	60
	gcuguagc	68
30	<210> 145 <211> 119 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 145	
	ccucagaaga aagaugcccc cugcucuggc uggucaaacg gaaccaaguc cgucuuccug	60
	agagguuugg uccccuucaa ccagcuacag cagggcuggc aaugcccagu ccuuggaga	119
35	<210> 146 <211> 80 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 146	
	gccccugcu cuggcugguc aaacggaacc aaguccgucu uccugagagg uuuggucccc	60
	uucaaccagc uacagcaggg	80
45	<210> 147 <211> 73 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 147	

	caggugugugu gacugguuga ccagaggggc augcacugug uucacccugu gggccaccua	60
	gucaccaacc cuc	73
	<210> 148	
	<211> 71	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 148	
	agggugugug acugguugac cagagggca ugcacugugu ucacccugug ggccaccuag	60
10	ucaccaaccc u	71
	<210> 149	
	<211> 90	
	<212> ARN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 149	
	aggccucgcu guucucuaug gcuuuuuuauu ccuaugugau ucuacugcuc acuauauag	60
	ggauuggagc cguggcgcac ggcggggaca	90
20	<210> 150	
	<211> 100	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 150	
	agauaaaauc acucuagugc uuuuaggcuu uuuauuccua ugugauagua auaaagucuc	60
	auguagggau ggaagccaug aaaaacauug ugaaaaauca	100
30	<210> 151	
	<211> 60	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 151	
	cuauggcuuu uuauuccuaug gugauucuac ugcucacuca uauagggau ggagccgugg	60
	<210> 152	
	<211> 97	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 152	
	cacucugcug ugcccuaugg cuuuucaauuc cuauugugauu gcugucccaa acuauag	60
	ggcuaaaagc caugggcuac agugaggggc gagcucc	97
45		
	<210> 153	
	<211> 82	
	<212> ARN	
50	<213> Homo sapiens	

ES 2 490 995 T3

	<400> 153	
	ugagccucg gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc	60
	aaaugagucu ucagaggguu cu	82
5	<210> 154 <211> 62 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 154	
	gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc aaaugagucu	60
	uc	62
15	<210> 155 <211> 73 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 155	
	cuucggugac ggguaauucuu ggguggauaa uacggauuac guuguuauug cuuaagaaua	60
	cgcguagucg agg	73
25	<210> 156 <211> 99 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 156	
	cccuuggcaug gugugguggg gcagcuggug uugugaaauca ggccguugcc aaucagagaa	60
30	cggcuacuuc acaacaccag gcccacacca cacuacagg	99
	<210> 157 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 157	
	cguugcugca gcugguguug ugaaucaggc cgacgagcag cgcauccucu uacccggcua	60
	uuucacgaca ccaggguuuc auca	84
40	<210> 158 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 158	
	cagcuggugu ugugaaucag gccgacgagc agcgcauccu cuuacccggc uauuuucacga	60
	caccaggguu g	71

ES 2 490 995 T3

	<210> 159 <211> 68 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 159	
	guguaauucua cagugcacgu gucuccagug ugguucggag gcuggagacg cggcccuuu	60
	ggaguaac	68
10	<210> 160 <211> 100 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 160	
	ugugucucuc ucuguguccu gccagugguu uuaccuaua guagguaacg ucaugcuguu	60
	cuaccacagg guagaaccac ggacaggaua cgggggcacc	100
20	<210> 161 <211> 72 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 161	
	uccugccagu gguuuuaccc uaugguaggu uacgucaugc uguucuacca caggguagaa	60
	ccacggacag ga	72
30	<210> 162 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 162	
	ccugccagug guuuuacccu augguagguu acgucaugc guucuaccac aggguagaac	60
	cacggacagg	70
35	<210> 163 <211> 95 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 163	
	cggccggccc ugguuccauc uuccaguaca guguuggaung guuaauugu gaagcuccua	60
	acacugucug guaaagaugg cucccggtug gguuc	95
45	<210> 164 <211> 72 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 164	

ES 2 490 995 T3

	ggguccaucu uccaguacag uguuggaugg ucuaauugug aagcuccuaa cacugucugg	60
	uaaagauggc cc	72
	<210> 165	
	<211> 64	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 165	
	acccauaaag uagaaagcac uacuaacagc acuggagggu guaguguuuc cuacuuuaug	60
10	gaug	64
	<210> 166	
	<211> 106	
	<212> ARN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 166	
	gcgcagcgcc cugucuccca gccugaggug cagugcuqca ucucugguca guugggaguc	60
	ugagaugaag cacuguagcu caggaagaga gaaguuguuc ugca	106
20	<210> 167	
	<211> 63	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 167	
	ccugagggugc agugcugcau cucuggucag uugggagucu gagauaagc acuguagcuc	60
	agg	63
30	<210> 168	
	<211> 86	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 168	
	uggggcccug gcugggauau caucauauac uguauuuug cgaugagaca cuacaguaua	60
	gaugauguac uaguccgggc accccc	86
40	<210> 169	
	<211> 66	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 169	
45	ggcugggaua ucaucauaua cuguaaguuu gctgaugagac acuacaguau agauga	60
	cuaguc	66
	<210> 170	
	<211> 88	
	<212> ARN	
50	<213> Homo sapiens	

ES 2 490 995 T3

	<400> 170		
	caccuuugucc ucacggucca guuuuucccag gaauccuuua gaugcuaaga ugaaaaauucc	60	
	uggaaaauacu guucuugagg ucaugguu	88	
5	<210> 171		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
10	<400> 171		
	euacacggucc aguuuuccca ggaauccuu agauggcuaag auggggauuc cuggaaauac	60	
	uguucuugag	70	
15	<210> 172		
	<211> 99		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
20	<400> 172		
	ccgaugugua uccucagcuu ugagaacuga auuuccauggg uugugucagu gucagaccuc	60	
	ugaaaaucag uucuucagcu gggauaucuc ugucaucgu	99	
25	<210> 173		
	<211> 65		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 173		
	agcuuuugaga acugaaaucc auggguugug ucagugucag accugugaaa uucaguucuu	60	
30	cagcu	65	
	<210> 174		
	<211> 72		
	<212> ARN		
35	<213> Homo sapiens		
	<400> 174		
	aaucuaaaga caacauuucu gcacacacac cagacuaugg aagccagugu guggaaaugc	60	
	uucugcuaga uu	72	
40	<210> 175		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 175		
	gaggcaaagu ucugagacac uccgacucug aguaugauag aagucagugc acuacagaac	60	
	uuuugucuc	68	

ES 2 490 995 T3

	<210> 176 <211> 99 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 176	
	caagcacgau uagcauuuuga ggugaaguuc uguuuauacac ucaggcugug gcucucugaa	60
	aguca<u>g</u>ug<u>c</u>a ucacagaacu uu<u>g</u>ucucgaa agc<u>uu</u>ucua	99
10	<210> 177 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 177	
	aagcacgauu agcauuugag gugaaguucu guuauacacu caggcugugg cucucugaaa	60
	gu<u>ca</u>gug<u>ca</u>u	70
20	<210> 178 <211> 89 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 178	
	gccggcgccc gagcucuggc uccgugucuu cacucccgug cuuguccgag gagggaggga	60
	gg<u>gac</u>gggggg cugugcuggg gc<u>agc</u>ugga	89
30	<210> 179 <211> 53 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 179 gcucuggcuc cgugucuuca cucccgugcu uguccgagga gggagggagg gac	53
40	<210> 180 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 180	
	cu<u>cccc</u>caugg cccugucucc caacc<u>ccu</u>gu acc<u>agug</u>cug ggcucagacc cugguacagg	60
	cc<u>uggg</u>ggac agg<u>gacc</u>ugg ggac	84
50	<210> 181 <211> 64 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 181	
	cc<u>ugug</u>cucc caacc<u>ccu</u>gu acc<u>agug</u>cug ggcucagacc cugguacagg cc<u>uggg</u>ggac	60
	agg<u>g</u>	64

	<210> 182 <211> 72 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 182	
	uuuccugccc ucgaggagcu cacagucuag uaugucuau cccuacuag acugaagcuc	60
	cuuaggaca gg	72
10	<210> 183 <211> 69 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 183	
	ccuguccuca aggagcuuca gucuaguagg ggaugagaca uacuagacug ugagcuccuc	60
	gagggcagg	69
20	<210> 184 <211> 87 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 184	
	uguccccccc ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucagugc	60
	augacagaac uuggggcccg aaggacc	87
30	<210> 185 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 185	
	ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucagugc augacagaac	60
	uuggggcccg g	71
40	<210> 186 <211> 90 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 186	
	cucacagcug ccaguguau uuuugugauc ugcagcuagu auucucacuc caguugcaua	60
	gucacaaaag ugaucauugg cagguguggc	90
50	<210> 187 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 187	

ES 2 490 995 T3

	ucucucucuc ccucacagcu gccaguguca uugucacaaa agugaucauu ggcaggugug	60
	gcugcugcau g	71
	<210> 188	
	<211> 87	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 188	
	agcgugggcc agugucauuu uugugugaugu gcagcuagua auaugagccc aguugcauag	60
10	ucacaaaagu gaucauugga aacugug	87
	<210> 189	
	<211> 69	
	<212> ARN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 189	
	cagugucauu uuugugugaugu ugcaagcuagu aauaugagcc caguugcaua gucacaaaag	60
	ugaucauug	69
20	<210> 190	
	<211> 84	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 190	
	gugguacuug aagauagguu auccguguug cciuucgcuuu auuugugacg aaucauacac	60
	gguuugaccua uuuuuucaqua ccaa	84
30	<210> 191	
	<211> 66	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 191	
	gaagauagggu uauccguguu gccuucgcuu uauuugugac gaaucauaca cgguugaccu	60
	auuuuuu	66
40	<210> 192	
	<211> 65	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 192	
	cuguuuaugc uaaucgugau agggguuuuu gccuccaacu gacuccuaca uauuagcauu	60
	aacag	65

	<210> 193	
	<211> 82	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 193	
	ccuaacacug ucugguaaag auggcucccg gguggguuucu cucggcagua accuucaggg	60
	agcccugaag accauggagg ac	82
10	<210> 194	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 194	
	gccgagaccc agugcacagg gcucugaccu augaaauugac agccagugcu cucgucuccc	60
	cucuggcugc caauuccaua ggucacaggu auguucgccc caaugccagc	110
20	<210> 195	
	<211> 80	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 195	
	ucccgcccc uguaacagca acuccauggug gaagugccca cugguuccag ugaaaaugcu	60
	guuaucuggg gcgaggccca	80
30	<210> 196	
	<211> 70	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 196	
	aaagcugggu ugagaggqcg aaaaaggaug aggugacugg ucugggcuac gcuauugcugc	60
35	ggcgccucggg	70
	<210> 197	
	<211> 64	
	<212> ARN	
40	<213> Homo sapiens	
	<400> 197	
	cauuggccuc cuaagccagg gauugugggu ucgaguccca cccgggguaa agaaaggccg	60
	aauu	64
45	<210> 198	
	<211> 70	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
50	<400> 198	

ES 2 490 995 T3

	ccuaagccag ggauuguggg uucgaguccc accuggggua gaggugaaag uuccuuuuac	60
	ggaa<u>uuuuuuu</u>	70
	<210> 199	
	<211> 108	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 199	
	caaugucagc agugccuuag cagcacqua aua<u>uuggcgu uaagauucua aaauuaucuc</u>	60
10	caguauuaac ugugcugcug aaguaagguu gaccauacuc uacaguug	108
	<210> 200	
	<211> 81	
15	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 200	
	gggcuuucaa gucacuagug guuccguuuu guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
	gcccuauguga cuacaaagcc c	81
20	<210> 201	
	<211> 70	
	<212> ARN	
25	<213> Homo sapiens	
	<400> 201	
	acgcaagugu ccuaagguga gcucaggag cacagaaacc uccaguggaa cagaaggca	60
	aaagcu<u>cauu</u>	70
30	<210> 202	
	<211> 70	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 202	
	caugugucac uu<u>caggugg aguuucaaga guccuuuccu gguucaccgu cuccuuugcu</u>	60
	cuuccacaac	70
	<210> 203	
40	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 203	
45	agaagggcua ucaggccagc cuucagagga cuccaaggaa cau<u>ucaacgc ugucggugag</u>	60
	uuugggauuu gaaaaaacca cugaccguug acuguaccuu gggguccuuu	110
	<210> 204	
	<211> 110	

ES 2 490 995 T3

	<212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 204	
	ccugugcaga gauuuuuuuu uaaaaggguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug aacugugugg acaagcuac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu	60 110
10	<210> 205 <211> 89 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 205	
	cugauuggcug cacucaacau ucauugcugu cgguggguuu gagucugaau caacucacug aucaaugaau gcaaacugcg gaccaaaca	60 89
15		
20	<210> 206 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 206	
	cggaaaauuu gccaaaggguu ugaaaaaaca uucaaccugu cggugaguuu gggcagcuca ggcaaaccau cgaccguuga guggacccug aggccuggaa uugc当地	60 110
25	<210> 207 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 207	
	gagcugcuug ccuccccccg uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg auccgguggu ucuagacuug ccaacuaugg ggcgaggacu cagccggcac	60 110
35	<210> 208 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 208	
	uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg auccgguggu ucuagacuug ccaacuaugg	60 70
45	<210> 209 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 209	

	ccgcagagug ugacuccugu ucuguguaug gcacugguag aauucacugu gaacagucuc	60
	agucaugaa uuaccgaagg gc当地aaaca gagcagagac agauccacga	110
	<210> 210	
5	<211> 84	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 210	
	ccagucacgu cccc当地auca cuuuuccagc cc当地uuugu gacuguaagu guuggacgga	60
10	gaacugauaa ggguagguga uuga	84
	<210> 211	
	<211> 65	
15	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 211	
	ccuuaucacu uuuccagccc agcuuuguga cuguaagugu uggacggaga acugauaagg	60
	guagg	65
20	<210> 212	
	<211> 82	
	<212> ARN	
25	<213> Homo sapiens	
	<400> 212	
	agggggcgag ggauuggaga gaaaggcagu uccugauggu ccccuccccca ggggcuggcu	60
	uuccucuggu ceuucuccucc ca	82
30	<210> 213	
	<211> 66	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 213	
	agggaauugga gagaaaggca guuccugaug gucccccuccc cagggcugg cuuuccucug	60
	guccuu	66
40	<210> 214	
	<211> 86	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 214	
	ugcuuguaac uuuccaaaga auucuccuuu ugccc当地u gguuuuuuuuaaagccaaa	60
	ggugaaauuuu uugggaaguu ugagcu	86
	<210> 215	
50	<211> 71	
	<212> ARN	

	<213> Homo sapiens	
	<400> 215	
	acuuuccaaa gaauucuccu uuugggcuuu cugguuuua uuuuagccc aaggugaauu	60
5	uuuuugggaag u	71
	<210> 216	
	<211> 109	
	<212> ARN	
10	<213> Homo sapiens	
	<400> 216	
	ggucgggcu accaugacac agugugagac ucgggcuaca acacaggacc cggggcgug	60
	cucugacccc ucgugucuug uguugcagcc ggagggacgc agguccgca	109
15	<210> 217	
	<211> 86	
	<212> ARN	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 217	
	ugcucccucu cucacauccc uugcauggug gaggugagc uuucugaaaa ccccucccc	60
	augcaggguu ugcaggaugg cgagcc	86
25	<210> 218	
	<211> 68	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 218	
	ucucacaucc cuugcauggu ggagggugag cuuucugaaa accccuucca caugcaggg	60
	uugcagga	68
35	<210> 219	
	<211> 102	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 219	
40	cugucgauug gacccgccc ccggugccua cugagcugau aucaaguucu auuuuacaca	60
	cuggcucagu ucagcaggaa caggagucga gcccungagc aa	102
	<210> 220	
	<211> 68	
45	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 220	
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg	60
50	aacaggag	68

	<210> 221	
	<211> 85	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 221	
	ugcaggccuc uguugugauau guuugauaua uuaggguuguu auuuuaucca acuauauauc	60
	aaacauauuc cuacaguguc uugcc	85
10	<210> 222	
	<211> 67	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 222	
	cugugugaua uguuugauau auuaggguugu uauuuuaucc aacuauauau caaacauauu	60
	ccuacag	67
20	<210> 223	
	<211> 92	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 223	
25	cggcuggaca gcgggcaacg gaauccaaagc agcagcuguu gucuccagag cauuccagcu	60
	gcgcuuggau uucguccccu gcucuccugc cu	92
	<210> 224	
	<211> 74	
30	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 224	
	agcgggcaac ggaaucccaa aagcagcugu ugucuccaga gcauuccagc ugcccugga	60
35	uuucgucccc ugcu	74
	<210> 225	
	<211> 108	
	<212> ARN	
40	<213> Homo sapiens	
	<400> 225	
	ccgagaccga gugcacaggg cucugaccua ugaauugaca gccagugcuc ucguccccc	60
	ucuggcugcc aauuccauag gucacaggua uguucgccuc aaugccag	108
45	<210> 226	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
50	<400> 226	

	gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaauugac agccagugcu cucguuccc	60
	cucuggcugc caauuccaua gguacacaggua auguuucgccc caaugccago	110
	<210> 227	
5	<211> 88	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 227	
	cgaggaugggg agcugagggc ugggucuuuug cgggcgagau gagggugugcg gaucaacugg	60
10	ccuacaaagu cccaguucuc ggccccccg	88
	<210> 228	
	<211> 58	
15	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 228	
	gcugggucuu ugcggcgag augagggugu cgaucaacu ggccuacaaa guccag 58	
20	<210> 229	
	<211> 85	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 229	
	augguguuau caaguguaac agcaacucca uguggacugu guaccaauuu ccaguggaga	60
	ugcuguuuacu uuugauqquu accaa	85
30	<210> 230	
	<211> 63	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 230	
	guguaacagc aacuccaugu ggacugugua ccaauuuucca guggagaugc ugguuacuuuu	60
35	gau	63
	<210> 231	
	<211> 87	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 231	
	agcuuuccug gcucuaggcag cacagaaaua uuggcacagg gaagcgaguc ugccaaauuu	60
	ggcugugcug cuccaggcag gguggug	87
45	<210> 232	
	<211> 58	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
50	<400> 232	

	uagcagcaca gaaaauauugg cacaggaaag cgagucugcc aaauauuggcu gugcugcu	58
5	<210> 233 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 233	
	cuagagcuug aauuggaacu gcugagugaa uuagguaguu ucauguuuguu gggccugggu	60
10	uucugaacac aacaacauua aaccacccga uucacggcag uuacugcucc	110
	<210> 234 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 234	
	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc uggguuuucug aacacaacaa cauuaaacca	60
20	cccqauuucac	70
	<210> 235 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 235	
	ugcucgcuca gcugaucugu ggcuuaggua guuucauguu guugggauug aguuuugaac	60
	ucggcaacaa gaaacugccu gaguuuacauc agucgguuuu cguccgggc	110
30	<210> 236 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 236	
	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc uggguuuucug aacacaacaa cauuaaacca	60
	cccgauuucac	70
40	<210> 237 <211> 84 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 237	
	acuggucggu gauuuaggua guuuuccuguu guugggaucc accuuucucu cgacagcacg	60
	acacuugccuu cauuacwuca guug	84
50	<210> 238 <211> 75 <212> ARN <213> Homo sapiens	

ES 2 490 995 T3

	<400> 238	
	ggcugugccg gguagagagg gcagugggag guaagagcuc uucacccuuuc accaccuuuc	60
	ccacccagca uggcc	75
5	<210> 239 <211> 60 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 239 gugcaugugu auguaugugu gcaugugcau guguaugugu augagugcau gcguguguc	60
	<210> 240 <211> 62	
15	<212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 240	
	ucauuggucc agagggaga uagguuccug ugauuuuuucc uucuucucua uagaauaaau	60
20	gà	62
	<210> 241 <211> 71	
25	<212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 241	
	gc当地 aaccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac	60
	auugguuagg c	71
30	<210> 242 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 242	
	aggaagcuuc uggagauccu gcuccgucgc cccaguguuc agacuaccug uucaggacaa	60
	ugccguugua caguagucug cacauugguu agacugggca agggagagca	110
40	<210> 243 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 243	
	ccagaggaca ccuccacucc gucuacccag uguuuagacu aucuguucag gacuccaaaa	60
	uuguacagua gucugcacau ugguuaggcu gggcuggguu agaccccucgg	110
50	<210> 244 <211> 71 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 244	

ES 2 490 995 T3

	gccaacccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac auugguuagg c	60 71
5	<210> 245 <211> 70 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 245	
10	gccguggcca ucuuacuggg cagcauugga ugtagucagg ucucuaauac ugcuugguaa ugaugacggc	60 70
	<210> 246 <211> 95 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 246	
	ccagcucggg cagccguggc caucuuacug ggcagcauug gauggaguca ggucucuaau acugccuggu aaugaugacg gcgagccu gcacg	60 95
20	<210> 247 <211> 68 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 247	
	cccucgucuu acccagcagu guuugggugc gguugggagu cucuaauacu gccggguau gauggagg	60 68
30	<210> 248 <211> 72 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 248	
	guuccuuuuu ccuaugcaua uacuucuuuug aggaucuggc cuaaagaggua auagggcaug ggaagaugga gc	60 72
40	<210> 249 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 249	
	guguuugggga cucgcgcgcu ggguccagug guucuuaca guucaacaqu ucuguagcgc zaauugugaaa uguuuaggac cacuagaccc ggccccccccq ggcacagcga	60 110
	<210> 250 <211> 110	

ES 2 490 995 T3

<212> ARN
<213> Homo sapiens

5 <400> 250

ggcuacaguc uuuuuucaug ugacucgugg acuuuccuuu gucauccuaau gcccugagaau 60
auauugaagga ggcuggggaaag gcaaaggac guucaauugu caucacuggc 110

<210> 251
<211> 110
10 <212> ARN
<213> Homo sapiens

<400> 251

aaagauccuc agacaauccca ugugcuucuc uuguccuuca uuuccaccgga gucugucuca 60
uacccaacca gauuuucaugug gagugaaguu caggaggcau ggagcugaca 110

<210> 252
<211> 86
20 <212> ARN
<213> Homo sapiens

<400> 252

ugcuuuccga ggccacacuugc uucuuuauau ccccauaugg auuacuuugc uauggaaugu 60
aaggaagugu gugguuucgg caagug 86

<210> 253
<211> 69
25 <212> ARN
<213> Homo sapiens

30 <400> 253

aggccacacuug cuucuuuaua ucuccauaugg gauuacuuuug cuauuggaaug uaaggaagug 60
ugugguuuu 69

<210> 254
<211> 71
35 <212> ARN
<213> Homo sapiens

40 <400> 254

ugacggggcga gcuuuuuggcc cggguuauac cugaugcuca cguauaagac gagcaaaaag 60
cuugguugguc a 71

<210> 255
<211> 110
45 <212> ARN
<213> Homo sapiens

<400> 255

50

	acccggcagu gccuccaggc gcagggcagc cccugcccac cgcacacugc gcugccccag	60
	acccacugug cgugugacag cggcugaucu gugccugggc agcgcgaccc	110
	<210> 256	
5	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 256	
	ucaccuggcc augugacuuug ugugguuuccc uuugucaucc uucgcuuagg gcucugagca	60
10	gggcagggac agcaaagggg ugcucaugug ucacuuuccca cagcacggag	110
	<210> 257	
	<211> 110	
15	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 257	
	cggggcaccc cgcccggaca gcgcgcggc accuuggcuc uagacugcuu acugcccgaa	60
	ccgcccucag uaacagucuc cagucacggc caccgacgcc ugccccggcc	110
20	<210> 258	
	<211> 110	
	<212> ARN	
25	<213> Homo sapiens	
	<400> 258	
	ccugugcaga gauuaauuuuu uaaaaggguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguuug	60
	aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu	110
30	<210> 259	
	<211> 108	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 259	
	gaguuuugag guugcucag ugaacauuca acgcugucgg ugaguuugga auusaaaauca	60
	aaaccaucga cccguugauug uacccuaugg cuaaccauca ucuacucc	108
40	<210> 260	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 260	
45	ggccugggcug gacagaguuug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc	60
	gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aacccagccu	110
	<210> 261	
	<211> 110	

<212> ARN
<213> Homo sapiens

5 <400> 261

aucauucaga aaugguauc acggaaauga ccuaugaauu gacagacaau auagcugagu 60
uugucuguca uuuuuuagg ccaauuuucu guaugacugu gcuacuucaa 110

10 <210> 262
<211> 110
<212> ARN
<213> Homo sapiens

<400> 262

gauggcugug aguuggcuua aucucagcug gcaacuguga gauguucaua caauccuca 60
caguggucuc uggaauuaug cuaacagag caauuuccua gccucacga 110

15 15 <210> 263
<211> 110
<212> ARN
20 <213> Homo sapiens

<400> 263

aguauaaauua uuacauaguu uuugauguug cagauacugc aucaggaacu gauuggauaa 60
gaaucaguca ccaucaguuc cuaaugcauu gccuucagca ucuaaacaag 110

25 25 <210> 264
<211> 110
<212> ARN
30 <213> Homo sapiens

<400> 264

gugauaaugt agcgagauuu ucuguugugc uugaucuaac caugugguug cgagguauga 60
guaaaacaug guuccgucaa gcaccaugga acguacacgca gcuuucuaca 110

35 35 <210> 265
<211> 110
<212> ARN
40 <213> Homo sapiens

<400> 265

gaccagucgc ugccccccuu uccuuugugc uugaucuaac caugugguug aacgauggaa 60
acggaacaug guucugucaa gcacccggaa aagcacccugc cucuccugca 110

45 45 <210> 266
<211> 110
<212> ARN
50 <213> Homo sapiens

<400> 266

ES 2 490 995 T3

	ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuaau ggcuccggcc	60
	gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gcAAAAAAAC cucgagcggg	110
	<210> 267	
	<211> 110	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 267	
	ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuaau ggcuccggcc	60
10	gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gcAAAAAAAC cucgagcggg	110
	<210> 268	
	<211> 97	
15	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 268	
	acucaaggggc uucgccacug auuguccaaa cgcaauucuu guacgagucu gggccaaacc	60
20	gagaauugug gcuggacauc uguggcugag cuccggg	97
	<210> 269	
	<211> 110	
25	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 269	
	gacagugugg cauuguaggg cuccacacccg uaucugacac uuuggcgag ggcaccaugc	60
30	ugaagguguu caugaugcgg ucugggaacu ccucacggau cuuacugau	110
	<210> 270	
	<211> 110	
35	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 270	
	ugaacaucca ggucuggggc augaaccugg cauacaaugu agauuuucugu guucguuagg	60
40	caacagcuac auugucugcu ggguuucagg cuaccuggaa acauguucuc	110
	<210> 271	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 271	
	gcugcuggaa gguguaggua cccucaaugg cucaguagcc aguguagauc cugucuuucg	60
	uaaucagcag cuacaucugg cuacuggguc ucugauggca ucuucuagcu	110

	<210> 272 <211> 110 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 272	
	ccuggccucc ugcagugcca cgcuccgugu auuuagacaag cugaguugga cacucccaugu	60
	gguagagugu caguuuuguca aaauacccaa gugcggcaca ugcuuaccag	110
10	<210> 273 <211> 81 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 273	
	gggcuuucaa gucacuagug guuccguuuua guagauugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
	gccccuaguga cuacaaagcc c	81
20	<210> 274 <211> 60 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 274 caaucuuccu uuaucuaggua auugauuuuu cagugcuucc cuuuugugug agagaagaua	60
	<210> 275 <211> 80 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 275 aggacccuuc cagagggccc ccccucaauc cuguuugugcc uaauucagag gguugggugg	60
	aggcucuccu gaagggcucu	80
35	<210> 276 <211> 63 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 276	
	aagaaauggu uuacccguccc acauacauuu ugaauauugua ugugggauug uaaaccgcuu	60
	cuu	63
45	<210> 277 <211> 86 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 277	
	acugcuaacg aaugcucuuga cuuuauugca cuacuguacu uuacagcuaq cagugcaaua	60
	guauugucaa agcaucugaa agcagg	86
	<210> 278	

	<211> 69	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 278	
	ccaccacuuua aacgugggaug uacuuugcuuu gaaacuaaag aaguaagugc uuccauuuu	60
	uggugaugg	69
10	<210> 279	
	<211> 73	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 279	
	gcucccuuca acuuuaacau ggaagugcuu ucugugacuu uaaaaguaag ugcuuuccaug	60
	uuuuuaguagg agu	73
20	<210> 280	
	<211> 68	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 280	
	ccuuuugcuuu aacauggggg uaccugcugu gugaaacaaa aguaagugcu uccauuuuc	60
25	aguggagg	68
30	<210> 281	
	<211> 68	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 281	
	ccucuacuuu aacauggagg cacuugcugu gacaugacaa aaauaagugc uuccauuuu	60
	gagugugg	68
35	<210> 282	
	<211> 82	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 282	
	gcuuucgcucc ccuccggcuu cucuuuccgg uuucuucccgg agucgggaaa agcuggguug	60
	agagggcgaa aaaggaugag gu	82
45	<210> 283	
	<211> 59	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
50	<400> 283	
	uuggccuccu aagccaggga uugugguuc gagucccacc cggguuaag aaaggccga	59

	<210> 284 <211> 86 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 284	
	uuggguacuuug gagagaggug guccguggcg cguucgcuuu auuuauggcg cacauuacac	60
	ggucgaccuc uuugcaguau cuaauc	86
10	<210> 285 <211> 83 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 285	
	cugacuauugc cuccccgcau ccccuagggc auugguguuaa agcugggagac ccacugcccc	60
	aggugcugcu gggggguugua guc	83
20	<210> 286 <211> 98 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 286	
	auacaqugcu ugguuccuag uaggugucca guaaguguuu gugacauuaau uuguuuuauug	60
	aggaccuccu aucaauchaag cacugugcua ggcucuagg	98
30	<210> 287 <211> 95 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 287	
	cucaucuguc uguugggcug gaggcagggc cuuugugaag gcggguggug cucagaucgc	60
	cucugggccc uuccuccaagc cccgaggcg gg auuca	95
40	<210> 288 <211> 75 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 288	
	uggaguggggg gggcaggagg ggcucaggga gaaagugcau acagccccug gcccucucug	60
	cccuuuccguc cccug	75
50	<210> 289 <211> 94 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 289	

ES 2 490 995 T3

	cuuuggcgau cacugccucu cuggggcugu gcuuuaggcu cugcaagauc aaccgagcaa	60
	agcacacggc cugcaagag agcagcgccu gccc	94
	<210> 290	
5	<211> 94	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 290	
	gaguuuugguu uuguuuugggu uuguuucuagg uaugguccca gggaucccag aucaaaccag	60
10	gccccugggc cuauccuaga accaaccuaa gcuc	94
	<210> 291	
	<211> 94	
15	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 291	
	uguuuugagc ggggucaag agcaauaacg aaaauguuu gucauuaacc guuuuuucauu	60
	auugcuccug accuccucuc auuugcuaua uuca	94
20	<210> 292	
	<211> 93	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 292	
	guagucagua guugggggggu gggAACGGCU ucäuacagga guugaugcac aguuauccag	60
	cuccuauaug augccuuuucu ucäuccccuu caa	93
30	<210> 293	
	<211> 67	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 293	
	ucuccaaacaa uauccuggug cugagugaua acucaggcga cuccagcauc agugauuuug	60
	uugaaga	67
40	<210> 294	
	<211> 94	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 294	
	cgggggggcc gcuucccug uccuccagga gcucacgugu gccugccugu gagcgccucg	60
	acgacagagc cggcgccugc cccagugucu gcgc	94
	<210> 295	
	<211> 95	

ES 2 490 995 T3

	<212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 295	
	<u>uuguaccugg ugugauuaaua aagcaaugag acugauuguc auaugucguu ugugggaucc</u>	60
	<u>gucucaguua cuuuauagcc auaccuggua ucuua</u>	95
10	<210> 296 <211> 99 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 296	
	<u>gaaacugggc ucaaggugag gggugcuauc ugugauugag ggacauuggu aauggaaauug</u>	60
15	<u>ucucääcacag aaaucgcacc cguacccuug gccuacuua</u>	99
20	<210> 297 <211> 98 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 297	
	<u>acccaaaccc uaggucugcu gacuccuagu ccagggcucg ugauggcugg ugcccuga</u>	60
25	<u>acgagggguc ugaggccug gguuugaaaua ucgacagc</u>	98
30	<210> 298 <211> 86 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 298	
	<u>gucugucugc ccgcaugccu gccucucugu ugcucugaag gagggcagggg cuggggcugc</u>	60
	<u>agcugccugg gcagagcggc uccugc</u>	86
35	<210> 299 <211> 68 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 299	
	<u>ccauuacugu ugcuaauaung caacucuguu gaauauaaaau ugaaauugca cuuuagcaa</u>	60
	<u>ggugaugg</u>	68
45	<210> 300 <211> 66 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 300	

	aaaagguggga uauuccuuucu auguuuaugu uauuuauuggu uaaacauaga ggaaauucca	60
	cguuuuu	66
	<210> 301	
	<211> 70	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 301	
	uugaaggggag aucgaccgug uuauauucgc uuuauugacu ucgaauaaaa caugguugau	60
10	cuuuucucag	70
	<210> 302	
	<211> 75	
	<212> ARN	
15	<213> Homo sapiens	
	<400> 302	
	agacagagaa gccaggucac gucucugcag uuacacagcu cacgagugcc ugeugggug	60
	gaaccugguc ugucu	75
20	<210> 303	
	<211> 67	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 303	
	guggcacuca aacugugggg gcacuuucug cucucugug aaagugccgc caucuuuga	60
	guguuac	67
30	<210> 304	
	<211> 67	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 304	
	guggcacuca aaugugggac acuauucuga uguccaagug gaaagugcug cgacauuuga	60
	gcguacac	67
40	<210> 305	
	<211> 69	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 305	
	gggauacuca aaauggggc gcuuuccuuu uuugucuguac uggaagugc uuugauuuug	60
	ggguguccc	69
	<210> 306	
50	<211> 72	

<212> ARN
<213> Homo sapiens

5 <400> 306
uacaucggcc auuauaaauac aaccugauaa guguuaauagc acuuauacaga uuuguauugua 60
auugucugug ua 72

10 <210> 307
<211> 102
<212> ARN
<213> Homo sapiens

<400> 307
auggagcugc ucacccuugug ggccucaaaau guggaggaaac uauucugaug uccaagugga 60

15 <210> 308
<211> 101
<212> ARN
<213> Homo sapiens

<400> 308
gcauccccuc agccuguggc acucaaacug ugggggcacu uucugcucuc ugugugaaagu 60
gccgccaucu uuugaguguu accgcuugag aagacucaac c 101

20 <210> 309
<211> 102
<212> ARN
<213> Homo sapiens

<400> 309
cgaggagcuc auacugggau acuaaaaug gggggccuuu ccuuuuuuguc uguuacuggg 60
aagugcuucg auuuuugggu guccuuguu gaguagggca uc 102

25 <210> 310
<211> 22
<212> ARN
<213> Homo sapiens

30 <400> 310
ugagguagua gguuguauag uu 22
<210> 311
<211> 22
<212> ARN
<213> Homo sapiens

<400> 311
ugagguagua gguugugugg uu 22

35 <210> 312
<211> 22
<212> ARN
<213> Homo sapiens

40 <400> 312
ugagguagua gguugugugg uu 22

45 <210> 312
<211> 22
<212> ARN
<213> Homo sapiens

50 <400> 312
ugagguagua gguugugugg uu 22

	<400> 312 ugagguagua gguuguaugg uu	22
5	<210> 313 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 313 agagguagua gguugcauag u	21
15	<210> 314 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 314 ugagguagga gguuguauag u	21
25	<210> 315 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 315 ugagguagua gauuguauag uu	22
35	<210> 316 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 316 ugagguagua guuuguacag u	21
45	<210> 317 <211> 19 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 317 ugagguagua guuugugcu	19
55	<210> 318 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 318 uggaauguaa agaaguaugu a	21
65	<210> 319 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 319 uggaagacua gugauuuugu u	21
	<210> 320 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 320 ucuuugguaa ucuagcugua uga	23

	<210> 321	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 321	
	uaaaggcuaga uaaccgaaag u	21
10	<210> 322	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 322	
	uacccuguaag auccgaauuu gug	23
20	<210> 323	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 323	
	uacccuguaag aaccgaauuu gu	22
30	<210> 324	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 324	
	uagcagcacca uaaugguuug ug	22
	<210> 325	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 325	
	uagcagcacca ucaugguuua ca	22
	<210> 326	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 326	
	uagcagcacg uaaaauauugg cg	22
50	<210> 327	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 327	
	caaagugcuu acagugcagg uagu	24
	<210> 328	
	<211> 20	
	<212> ARN	
60	<213> Homo sapiens	
	<400> 328	
	acugcaguga aggcacuugu	20
65	<210> 329	
	<211> 22	

<212> ARN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 329
 uaaggugcau cuagugcaga ua 22

<210> 330
 <211> 23
 <212> ARN
 10 <213> Homo sapiens

<400> 330
 ugugcaaauuc uaugcaaaac uga 23

15 <210> 331
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 331
 ugugcaaauuc caugcaaaac uga 23

<210> 332
 <211> 22
 25 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

<400> 332
 uaaagugcuu auagugcagg ua 22

30 <210> 333
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 333
 uagcuuauca gacugauguu ga 22

<210> 334
 <211> 22
 40 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

<400> 334
 aagcugccag uugaagaacu gu 22

45 <210> 335
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

50 <400> 335
 aucacauugc cagggauuuc c 21

<210> 336
 <211> 23
 <212> ARN
 55 <213> Homo sapiens

<400> 336
 aucacauugc cagggauuac cac 23

<210> 337
 <211> 22
 <212> ARN
 60 <213> Homo sapiens

65

	<400> 337 uggcucaguu cagcaggaac ag	22
5	<210> 338 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 338 cauugcacuu gucucggugu ga	22
15	<210> 339 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 339 uucaaguaau ccaggauagg cu	22
25	<210> 340 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 340 uucaaguaau ucaggauagg u	21
35	<210> 341 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 341 uucacagugg cuaaguuccg cc	22
45	<210> 342 <211> 20 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 342 uucacagugg cuaaguucug	20
55	<210> 343 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 343 aaggagcuca cagucuauug ag	22
65	<210> 344 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 344 cuagcaccau cugaaaucgg uu	22
	<210> 345 <211> 20 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 345 uagcaccauu ugaaaucagu	20

	<210> 346	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 346	
	uagcaccauu ugaaaucggua	22
10	<210> 347	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 347	
	uguaaacauuc cucgacugga agc	23
20	<210> 348	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 348	
	cuuucagucg gauguuugca gc	22
30	<210> 349	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 349	
	uguaaacauuc cuacacucag c	21
	<210> 350	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 350	
	uguaaacauuc cuacacucuc agc	23
	<210> 351	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 351	
	uguaaacauuc cccgacugga ag	22
50	<210> 352	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 352	
	uguaaacauuc cuugacugga	20
	<210> 353	
	<211> 21	
	<212> ARN	
60	<213> Homo sapiens	
	<400> 353	
	ggcaagaugc uggcauagcu g	21
65	<210> 354	
	<211> 21	

	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 354 uauugcacau uacuaaguug c	21
10	<210> 355 <211> 19 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 355 gugcauugua guugcauug	19
20	<210> 356 uggcaguguc uuagcugguu gu	22
25	<210> 357 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 357 aggcaguguc auuagcugau ug	22
35	<210> 358 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 358 aggcagugua guuagcugau ug	22
40	<210> 359 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 359 uauugcacuu gucccgccu gu	22
50	<210> 360 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 360 aaagugcugu ucgugcaggu ag	22
55	<210> 361 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 361 uucaacgggu auuuauugag ca	22
65	<210> 362 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	

ES 2 490 995 T3

	<400> 362 uuuggcacua gcacauuuuu gc	22
5	<210> 363 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 363 ugagguagua aguuguauug uu	22
15	<210> 364 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 364 aacccguaga uccgaucuug ug	22
25	<210> 365 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 365 cacccguaga accgaccuug cg	22
35	<210> 366 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 366 uacaguacug ugauaacuga ag	22
45	<210> 367 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 367 uacaguacug ugauaacuga ag	22
55	<210> 368 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 368 agcagcauug uacagggcua uga	23
65	<210> 369 <211> 20 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 369 ucaaaugcuc agacuccugu	20
	<210> 370 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 370	

	aaaagugcuu acagugcagg uagc	24
5	<210> 371 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 371 uaaagugcug acagugcaga u	21
15	<210> 372 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 372 agcagcauug uacagggcua uca	23
25	<210> 373 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 373 uggaguguga caaugguguu ugu	23
35	<210> 374 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 374 uuaaggcacg cggugaaugc ca	22
45	<210> 375 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 375 ucccugagac ccuuuaaccu gug	23
55	<210> 376 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 376 ucccugagac ccuaacuugu ga	22
65	<210> 377 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 377 cauuauuacu uuugguacgc g	21
	<210> 378 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 378 ucguaccgug aguaauaaug c	21

	<210> 379	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 379	
	ucggauccgu cugagcuugg cu	22
10	<210> 380	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 380	
	ucacagugaa ccggucucuu uu	22
	<210> 381	
	<211> 22	
	<212> ARN	
20	<213> Homo sapiens	
	<400> 381	
	ucacagugaa ccggucucuu uc	22
25	<210> 382	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 382	
	cuuuuugcgg ucugggcuug c	21
	<210> 383	
	<211> 20	
35	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 383	
	cagugcaaug uaaaaaggc	20
40	<210> 384	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 384	
	cagugcaaug augaaaggc au	22
	<210> 385	
50	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 385	
55	uaacagucua cagccauggu cg	22
	<210> 386	
	<211> 22	
	<212> ARN	
60	<213> Homo sapiens	
	<400> 386	
	uugguccccu ucaaccagcu gu	22
65	<210> 387	
	<211> 21	

<212> ARN
 <213> Homo sapiens

5 <400> 387
 uugguccccu ucaaccagcu a 21

10 <210> 388
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

15 <400> 388
 ugugacuggu ugaccagagg g 21

20 <210> 389
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

25 <400> 389
 uauggcuuuu uauuccuaug uga 23

30 <210> 390
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

35 <400> 390
 uauggcuuuu cauuccuaug ug 22

40 <210> 391
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

45 <400> 391
 acuccauuuu uuuugaugau gga 23

50 <210> 392
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

55 <400> 392
 uauugcuaaa gaauacgcgu ag 22

60 <210> 393
 <211> 17
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

65 <400> 393
 agcugguguu gugaauc 17

65 <210> 394
 <211> 18
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

65 <400> 394
 ucuacagugc acgugucu 18

65 <210> 395
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

	<400> 395 agugguuuuua cccuauggua g	21
5	<210> 396 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 396 aacacugucu gguaaagaug g	21
15	<210> 397 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 397 uguaguguuu ccuacuuuau gga	23
25	<210> 398 <211> 20 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 398 cauaaaguag aaagcacuac	20
35	<210> 399 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 399 ugagaugaag cacuguagcu ca	22
45	<210> 400 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 400 uacaguauag augauguacu ag	22
55	<210> 401 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 401 guccaguuuu cccaggaauc ccuu	24
65	<210> 402 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 402 ugagaacuga auuccauggg uu	22
	<210> 403 <211> 20 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 403 guguguggaa augcuucugc	20

	<210> 404 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 404 ucagugcacu acagaacuuu gu	22
10	<210> 405 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 405 ucagugcauc acagaacuuu gu	22
20	<210> 406 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 406 ucuggcuccg ugucuuacu cc	22
30	<210> 407 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 407 ucucccaacc cuuguaccag ug	22
40	<210> 408 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 408 acuagacuga agcuccuuga gg	22
50	<210> 409 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
55	<400> 409 ucagugcaug acagaacuug g	21
60	<210> 410 <211> 20 <212> ARN <213> Homo sapiens	
65	<400> 410 uugcauaguc acaaaaguga	20
	<210> 411 <211> 22 <212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 411 uagguaaucc guguugccuu cg	22
	<210> 412 <211> 22	

	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 412 aaucauacac gguugaccua uu	22
10	<210> 413 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 413 uuaaugcuua ucgugauagg gg	22
20	<210> 414 aacauucaac gcugucggug agu	23
25	<210> 415 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 415 aacauucauu gcugucggug gguu	24
35	<210> 416 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 416 aacauucaac cugucgguga gu	22
40	<210> 417 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 417 uuuggcaaung guagaacuca ca	22
50	<210> 418 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 418 ugguucuaga cuugccaacu a	21
55	<210> 419 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 419 uauggcacug guagaauuca cug	23
65	<210> 420 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	

	<400> 420 uggacggaga acugauaagg gu	22
5	<210> 421 <211> 18 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 421 uggagagaaa ggcaguuc	18
15	<210> 422 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 422 caaagaauuc uccuuuuggg cuu	23
25	<210> 423 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 423 ucgugucuug uguugcagcc g	21
35	<210> 424 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 424 caucccuugc augguggagg gu	22
45	<210> 425 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 425 gugccuacug agcugauauc agu	23
55	<210> 426 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 426 ugauauguuu gauauauuag gu	22
65	<210> 427 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 427 caacggaauc ccaaaagcag cu	22
	<210> 428 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 428 cugaccuaug aauugacagc c	21

	<210> 429 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
5	<400> 429 aacuggccua caaaguccca g	21
10	<210> 430 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 430 uguaacagca acuccaugug ga	22
20	<210> 431 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 431 uagcagcaca gaaaauauugg c	21
30	<210> 432 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 432 uagguaquuu cauguuguug g	21
40	<210> 433 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 433 uagguaquuu ccuguuuguug g	21
50	<210> 434 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
55	<400> 434 uucaccaccu ucuccaccca gc	22
60	<210> 435 <211> 19 <212> ARN <213> Homo sapiens	
65	<400> 435 gguccagagg ggagauagg	19
	<210> 436 <211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 436 cccaguguuc agacuaccug uuc	23
	<210> 437	

ES 2 490 995 T3

	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 437	
	uacaguaguc ugcacauugg uu	22
	<210> 438	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 438	
	cccaguguuu agacuaucug uuc	23
15	<210> 439	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
20	<400> 439	
	uaacacuguc ugguaacgau gu	22
	<210> 440	
25	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 440	
30	cucuaauacu gccugguaau gaug	24
	<210> 441	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 441	
	aauacugccg gguaaugaug ga	22
40	<210> 442	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 442	
	agagguauag ggcauggaa ga	22
	<210> 443	
	<211> 22	
50	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 443	
	gugaaauguu uaggaccacu ag	22
55	<210> 444	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 444	
	uuccuuugu cauccuaugc cu	22
	<210> 445	
65	<211> 22	
	<212> ARN	

	<213> Homo sapiens	
5	<400> 445 uccuucaauuc caccggaguc ug	22
10	<210> 446 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 446 uggaauguaa ggaagugugu gg	22
20	<210> 447 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
25	<400> 447 auaagacgag caaaaagcuu gu	22
30	<210> 448 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
35	<400> 448 cugugcgugu gacagcggcu g	21
40	<210> 449 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 449 uuccuuuugu cauccuucgc cu	22
50	<210> 450 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
55	<400> 450 uaacagucuc cagucacggc c	21
60	<210> 451 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
65	<400> 451 accaucgacc guugauugua cc	22
	<210> 452 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 452 acagcaggca cagacaggca g	21
	<210> 453 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	

	<400> 453 augaccuaug aauugacaga c	21
5	<210> 454 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 454 uaaucucagc uggcaacugu g	21
15	<210> 455 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 455 uacugcauca ggaacugauu ggau 24	
25	<210> 456 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 456 uugugcuuga ucuaaccaug u	21
35	<210> 457 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 457 ugauuugucca aacgcaauuc u	21
45	<210> 458 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 458 ccacaccgua ucugacacuu u	21
55	<210> 459 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 459 agcuacauug ucugcugggu uuc 23	
65	<210> 460 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 460 agcuacaucu ggcuacuggg ucuc 24	
	<210> 461 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 461 ugucaguuug ucaaauuaccc c	21

	<210> 462	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 462	
	caagucacua gugguuccgu uua	23
10	<210> 463	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 463	
	agggcccccc cucaauccug u	21
20	<210> 464	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
25	<400> 464	
	ugguuuacccg ucccacauac au	22
30	<210> 465	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
35	<400> 465	
	cagugcaaua guauugucaa agc	23
40	<210> 466	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
45	<400> 466	
	uaagugcuuc cauguuuugg uga	23
50	<210> 467	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 467	
	acuuuaacau ggaagugcuu ucu	23
60	<210> 468	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
65	<400> 468	
	uaagugcuuc cauguuuugag uag	23
	<210> 469	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 469	
	uuuaacaugg ggguaccugc ug	22
70	<210> 470	
	<211> 23	

ES 2 490 995 T3

	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
5	<400> 470 uaagugcuuc cauguuuucag ugg	23
10	<210> 471 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
15	<400> 471 uaagugcuuc cauguuuugag ugu	23
20	<210> 472 aaaagcuggg uugagagggc gaa	23
25	<210> 473 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 473 uaagccaggg auuguggguu c	21
35	<210> 474 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 474 gcacauuaca cggucgaccu cu	22
40	<210> 475 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
45	<400> 475 cgcauccccu agggcauugg ugu	23
50	<210> 476 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens <400> 476	
55	ccacugcccc aggugcugcu gg <210> 477 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 477 ccuaguagg guccaguaag u	21
65	<210> 478 <211> 20 <212> ARN <213> Homo sapiens	

	<400> 478 ccucugggcc cuuccuccag	20
5	<210> 479 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 479 cuggcccuu cugcccuucc gu	22
15	<210> 480 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 480 gcaaaggcaca cggccugcag aga	23
25	<210> 481 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 481 gccccugggc cuauccuaga a	21
35	<210> 482 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 482 ucaagagcaa uaacgaaaaaa ugu	23
45	<210> 483 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 483 uccagcuccu auaugaugcc uuu	23
55	<210> 484 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 484 uccagcauca gugauuuugu uga	23
65	<210> 485 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 485 ucccuguccu ccaggagcuc a	21
	<210> 486 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 486	

	uccgucucag uuacuuuaaua gcc	23
5	<210> 487 <211> 24 <212> ARN <213> Homo sapiens	
10	<400> 487 ucucacacag aaaucgcacc cguc	24
15	<210> 488 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
20	<400> 488 ugcugacucc uaguccaggc c	21
25	<210> 489 <211> 23 <212> ARN <213> Homo sapiens	
30	<400> 489 ugucugcccg caugccugcc ucu	23
35	<210> 490 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
40	<400> 490 aaauugcacuu uagcaauuggu ga	22
45	<210> 491 <211> 22 <212> ARN <213> Homo sapiens	
50	<400> 491 acaauagagga aaauuccacgu uu	22
55	<210> 492 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
60	<400> 492 aauaauacau gguugaucuu u	21
65	<210> 493 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 493 gccugcuggg guggaaccug g	21
	<210> 494 <211> 21 <212> ARN <213> Homo sapiens	
	<400> 494 gugccgcca uuuugagug u	21

ES 2 490 995 T3

5 <210> 495
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

10 <400> 495
 aaagugcugc gacauuugag cgu 23

15 <210> 496
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

20 <400> 496
 acucaaaaug ggggcgcuuu cc 22

25 <210> 497
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> Homo sapiens

30 <400> 498
 uuauaaauaca accugauaag ug 22

REIVINDICACIONES

1. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer sólido, que comprende:
 - 5 medir el nivel de al menos un producto génico de miR-29b-2 en una muestra de ensayo del sujeto, en el que un aumento del nivel del producto génico de miR-29b-2 en la muestra de ensayo, en relación con el nivel del producto génico de miR-29b-2 en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer sólido que es cáncer de colon o pancreático.
 - 10 2. El método de la reivindicación 1, en el que un aumento en el nivel del producto génico de miR-29b-2 se usa para diagnosticar cáncer de colon.
 - 15 3. El método de la reivindicación 1 o de la reivindicación 2, en el que el producto génico de miR-29b-2 y al menos un producto génico de miR adicional se usan para diagnosticar cáncer de colon,
 - 15 seleccionándose el al menos un producto génico de miR adicional del grupo que consiste en: miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-223, miR-128b, miR-24-1, miR-24-2, miR-155, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-30c, miR-221, miR-106a, miR-10a, miR-203, miR-126*, miR-24-2, miR-99b prec, miR-213, miR-150, miR-9-3 y combinaciones de los mismos.
 - 20 4. El método de la reivindicación 1, en el que un aumento en el nivel del producto génico de miR-29b-2 se usa para diagnosticar cáncer pancreático.
 - 25 5. El método de la reivindicación 1 o de la reivindicación 4, en el que el producto génico de miR-29b-2 y al menos un producto génico de miR adicional se usan para diagnosticar cáncer pancreático, seleccionándose el al menos un producto génico de miR adicional del grupo que consiste en:
 - 30 miR-21, miR-17-5p, miR-191, 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-106a, 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.
 - 35 6. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer sólido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la medición del nivel del al menos un producto génico de miR-29b-2 comprende:
 - (1) transcribir de forma inversa:
 - 40 a) al menos ARN de miR-29b-2 de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de miR-29b-2; y
 - 45 (2) hibridar:
 - 45 el al menos un oligodesoxinucleótido diana de ARN de miR-29b-2 con una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN que incluyen al menos un oligonucleótido sonda específico de ARN de miR-29b-2 para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra de ensayo;
 - 50 y en el que la determinación de si hay una alteración en el nivel del primer producto génico de miR-29b-2 en la muestra de ensayo, en relación con el nivel del primer producto génico de miR-29b-2 en una muestra de control comprende:
 - 55 (3) comparar:
 - 55 el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con un perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control, en el que una alteración en la señal de miR-29b-2 es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer sólido que es cáncer de colon o pancreático.
 - 60 7. El método de la reivindicación 6, en el que el producto génico de miR-29b-2 y al menos un producto génico de miR adicional se usan para diagnosticar cáncer de colon, seleccionándose el al menos un producto génico de miR adicional del grupo que consiste en:
 - 65 miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-223, miR-128b, miR-24-1, miR-24-2, miR-155, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-30c, miR-221, miR-106a, miR-10a, miR-203, miR-126*, miR-24-2, miR-99b prec, miR-213, miR-150, miR-9-3 y combinaciones de los mismos.

8. El método de la reivindicación 6, en el que el producto génico de miR-29b-2 y al menos un producto génico de miR adicional se usan para diagnosticar cáncer pancreático, seleccionándose el al menos un producto génico de miR adicional del grupo que consiste en:

- 5 miR-21, miR-17-5p, miR-191, 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-106a, 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,
10 miR-129-1/2 prec, miR-150, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos.

Mama Colon Pulmón Páncreas Próstata Estómago

[] [] [] [] []

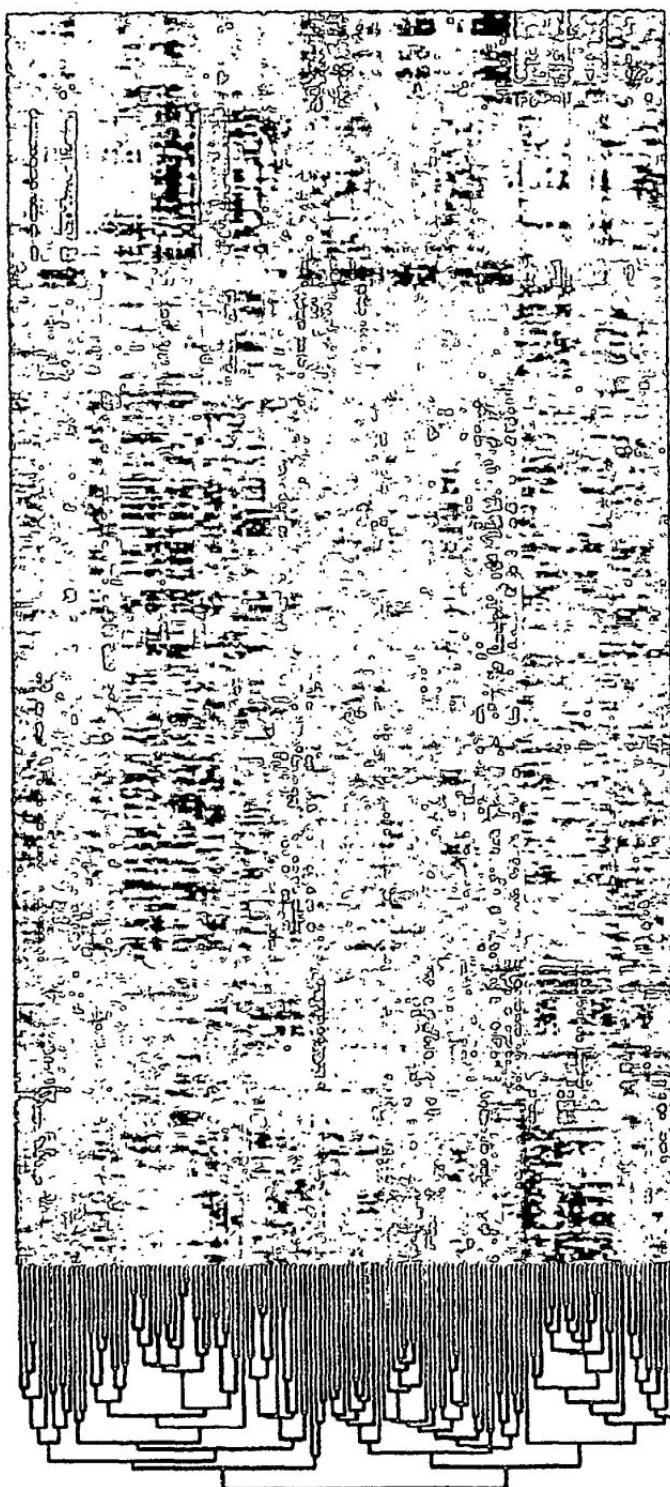


FIG. 1

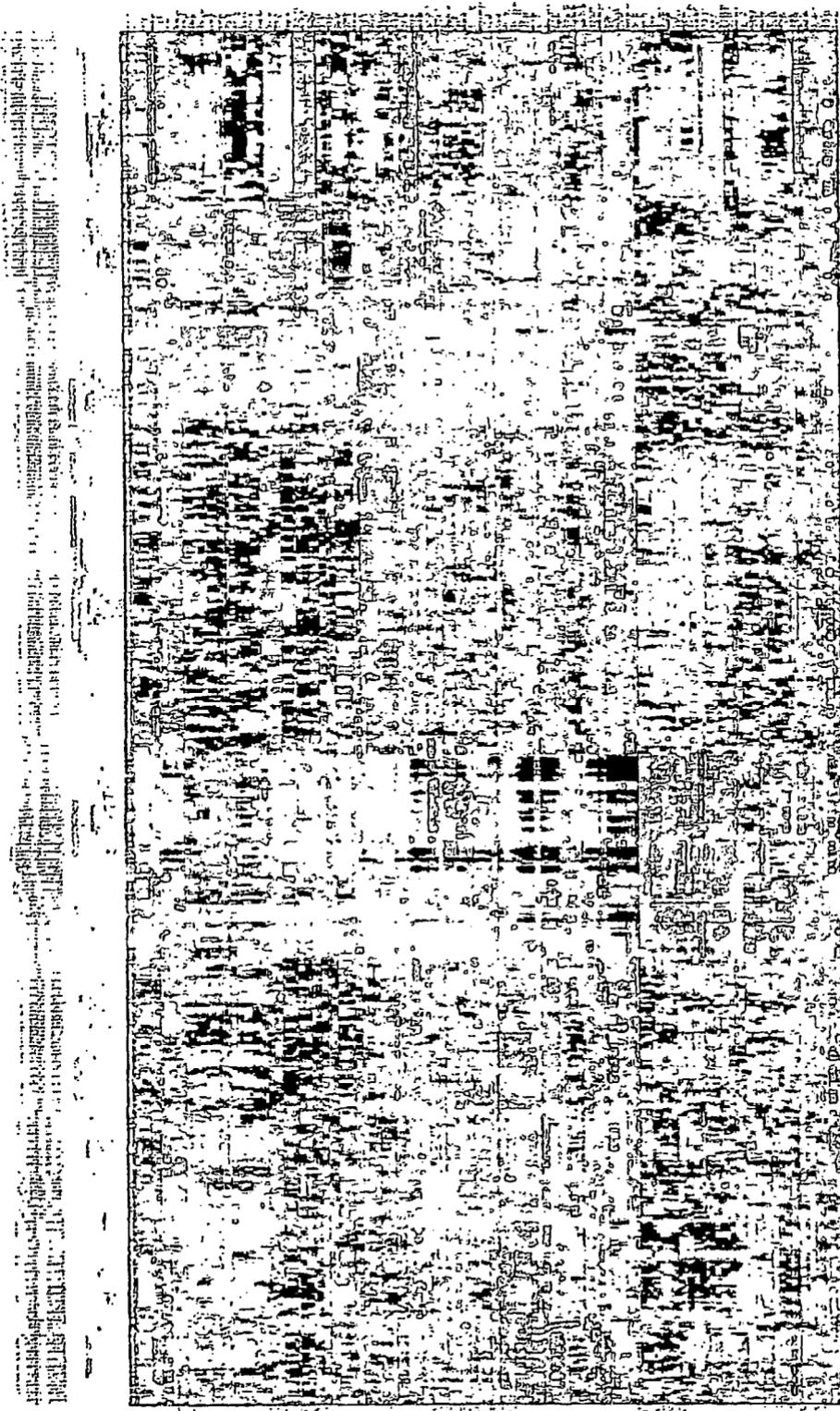
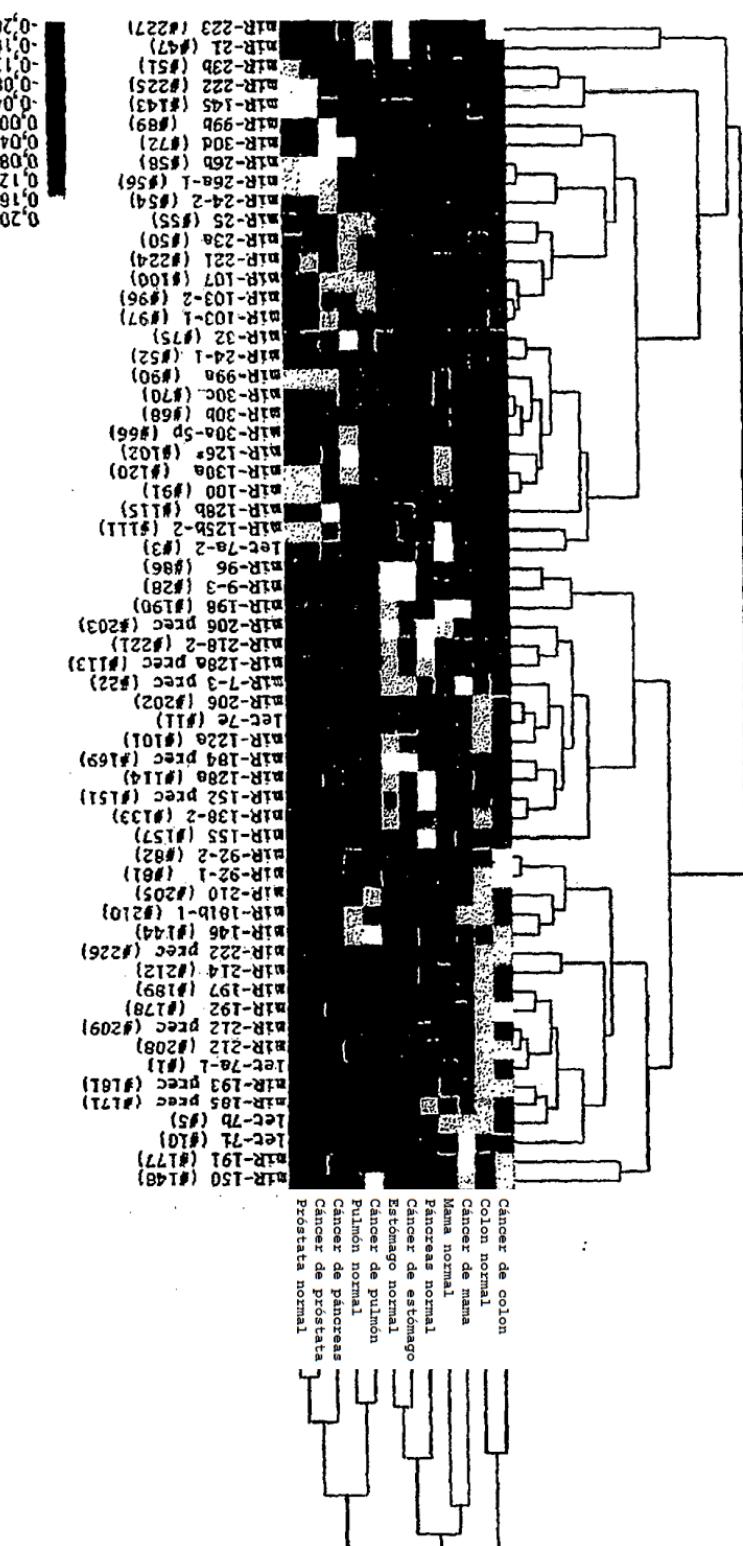


FIG. 2

FIG. 3



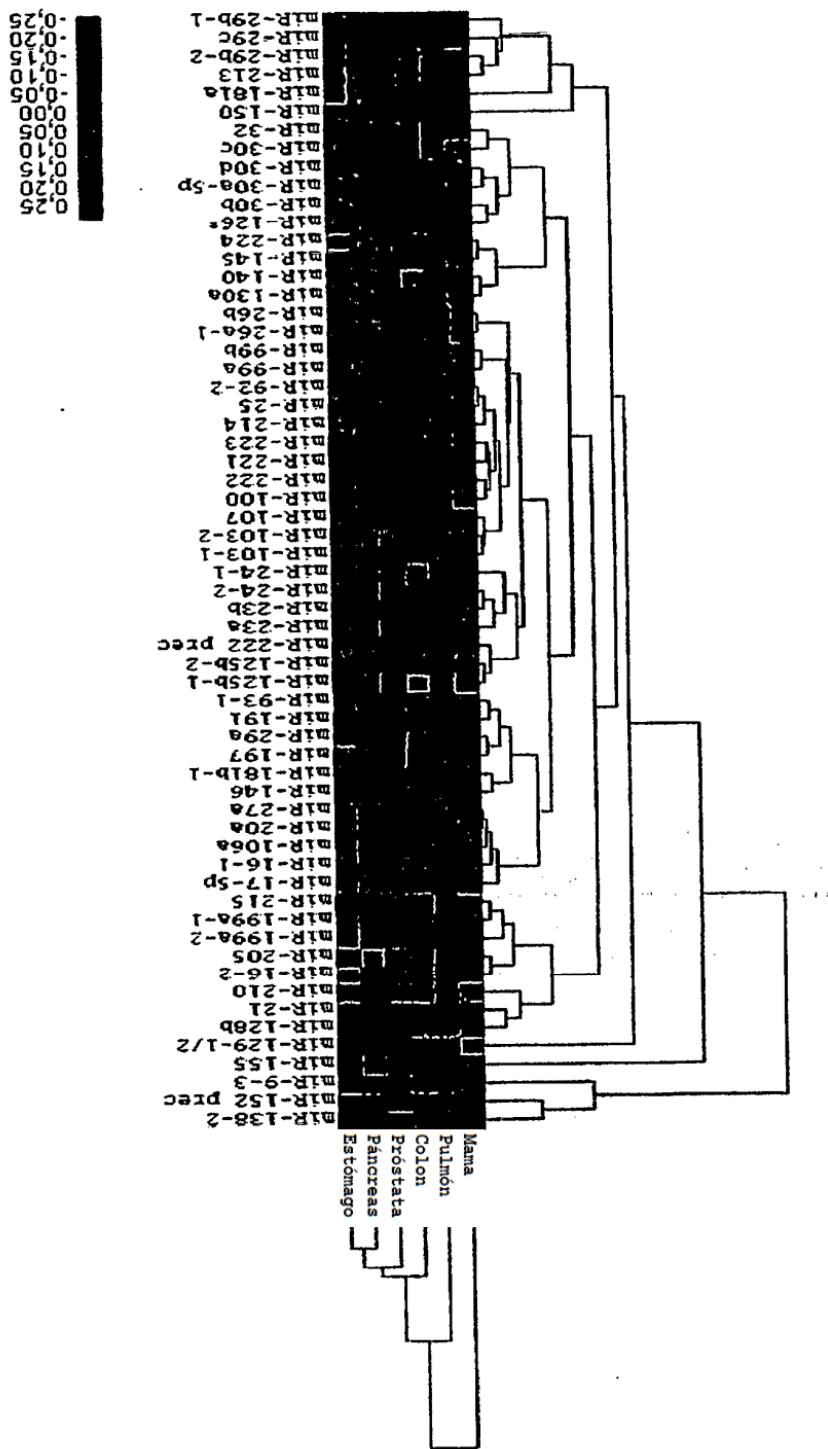


FIG. 4

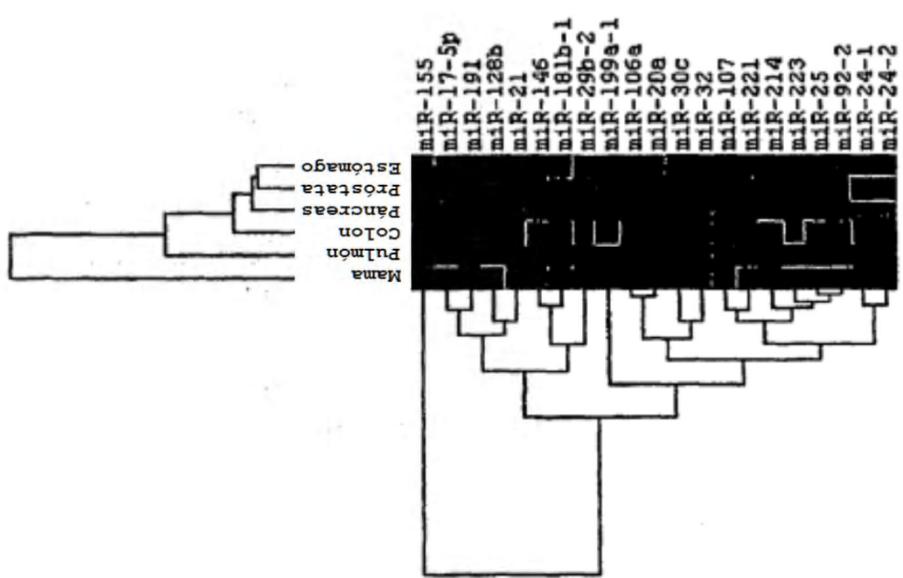


FIG. 5

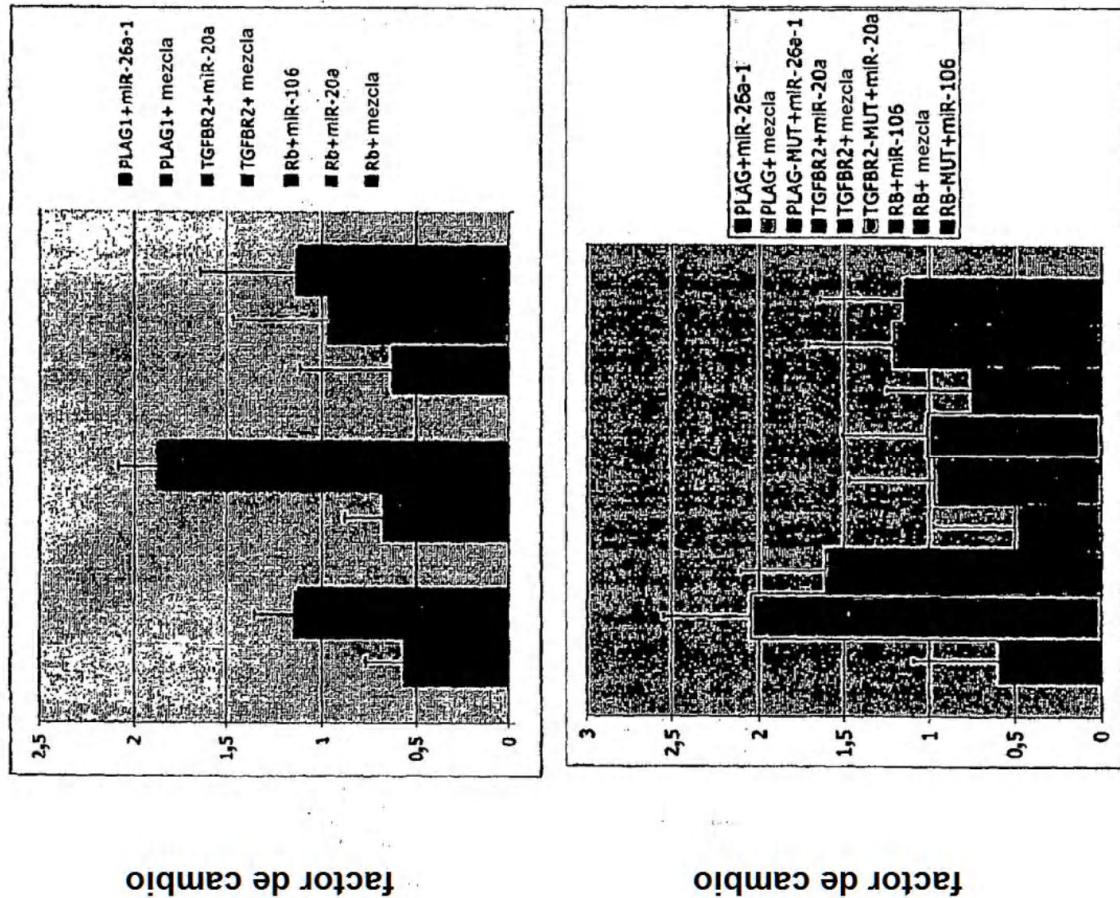


FIG. 6A



FIG. 6B

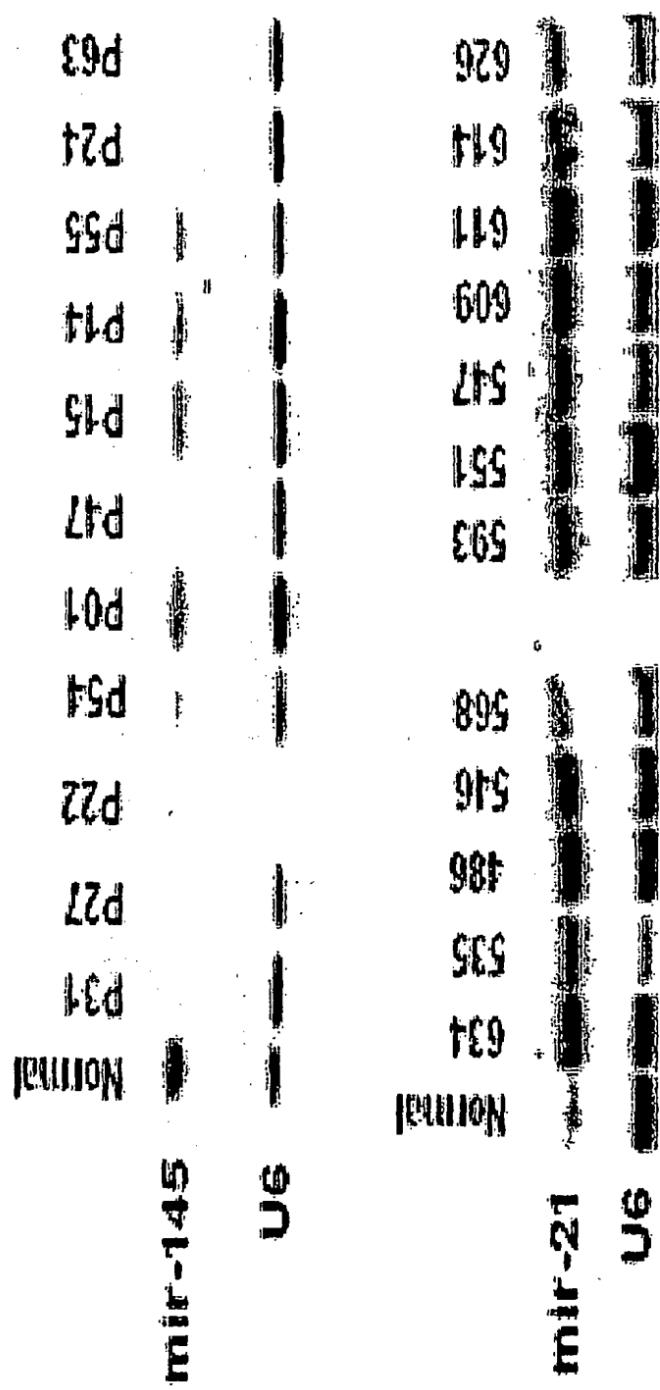


FIG. 7

Normal	WDET	WDEC	WDET	ACC	Normal	Insulinomas	No operativos
K90	K51	K84	F-Q4	F-Q2	F-K69	F-K66	F-Q14
miR-103	miR-155	ARN 5S			F-K20	K86	NF-K76
						K88	NF-K15
							NF-Q12
							NF-K31
							NF-K41

FIG. 8