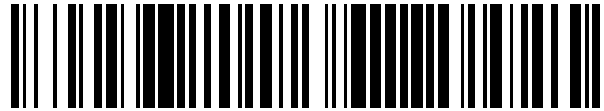


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 526 787**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/68** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2007 E 12154332 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.10.2014 EP 2487258**

54 Título: **Métodos basados en microARN para el diagnóstico de cánceres de colon, páncreas y estómago**

30 Prioridad:

**05.01.2006 US 756585 P**

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

**15.01.2015**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 526 787 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 para el diagnóstico de cánceres de colon, páncreas y estómago

## 5 APOYO DEL GOBIERNO

La presente invención fue apoyada, en su totalidad o en parte, por las Subvenciones del Proyecto de Programa N° P01CA76259, P01CA81534 y P30CA56036 del Instituto de Cáncer Nacional.

10 **Antecedentes de la invención**

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

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

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

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](http://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).

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](http://www.cancer.org/docroot/STT/stt_0_2004.asp), accedida el 21 de agosto de 2005). Los pacientes con cáncer pancreático localmente avanzado y metastásico tienen diagnósticos negativos, y el diagnóstico generalmente se realiza demasiado tarde para que la cirugía o la radioterapia sea curativa (Burr, H. A., *et al.*, *The Oncologist* 10(3): 183-190, (2005)). La quimioterapia puede proporcionar alivio de los síntomas para algunos pacientes con cáncer pancreático avanzado, pero su impacto en la supervivencia ha sido moderado hasta la fecha.

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

en [www.cancer.org/docroot/STT/stt\\_0\\_2004.asp](http://www.cancer.org/docroot/STT/stt_0_2004.asp), accedida el 21 de agosto de 2005). Debido a que el cáncer de estómago puede aparecer sin síntomas, puede estar en estadios avanzados en el momento en que se realice el diagnóstico. Después el tratamiento se dirige a aumentar la comodidad del paciente y mejorar su calidad de vida.

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

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

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

30 Los microARN son una clase de ARN no codificantes, pequeños que controlan la expresión génica hibridando con y desencadenando la represión de la traducción o, menos frecuentemente, la degradación de una diana de ARN mensajero (ARNm). El descubrimiento y estudio de los miARN ha revelado mecanismos reguladores de genes mediados por miARN que desempeñan papeles importantes en el desarrollo de los organismos y diversos procesos  
35 celulares, tales como diferenciación celular, crecimiento celular y muerte celular (Cheng, A. M., *et al.*, Nucleic Acids Res. 33: 1290-1297 (2005)). Estudios recientes sugieren que la expresión aberrante de los miARN particulares puede estar implicada en enfermedades humanas, tales como trastornos neurológicos (Ishizuka, A., *et al.*, Genes Dev. 16: 2497-2508 (2002)) y cáncer. En particular, se ha descubierto expresión errónea de miR-16-1 y/o miR-15a en leucemias linfocíticas crónicas humanas (Calin, G. A., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99: 15524-15529 (2002)).

40 El documento WO 2005/078139 divulga un método para diagnosticar cáncer, que incluye cáncer de colon, páncreas y estómago, detectando alteraciones en los niveles de expresión de miARN.

45 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 y composiciones para el diagnóstico y tratamiento de cánceres sólidos.

### Sumario de la invención

50 La presente invención se basa, en parte, en la identificación de miARN específicos que tienen niveles de expresión alterados en cánceres sólidos particulares. La invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

55 En consecuencia, la divulgación abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar un cáncer sólido. El nivel de al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo de tejido estomacal del sujeto se compara con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control. Una alteración (por ejemplo, un aumento, una reducción) en el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo, en relación con el nivel del producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar, un cáncer sólido. El cáncer sólido puede ser cualquier cáncer que  
60 surja en los órganos y tejidos sólidos. En determinadas realizaciones, el cáncer sólido es cáncer de estómago, cáncer de mama, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer de pulmón o cáncer de próstata. En realizaciones particulares, el cáncer sólido no es cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático o cáncer gastrointestinal.

65 En una realización de esta divulgación 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. En otra

realización, 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.

5 En una realización, 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 En otra realización 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.

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

25 En otra realización más, 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 se usa para diagnosticar cáncer de pulmón.

35 En una realización adicional, 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. En una realización relacionada, el cáncer sólido es cáncer pancreático y el producto génico de miR en la muestra de ensayo 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-29b-2, miR-29a, miR-25, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-92-2, miR-199a-1, miR-223, miR-29c, miR-30b, miR-129-1/2, miR-197, miR-17-5p, miR-30c, miR-7-1, miR-93-1, miR-140, miR-30a-5p, miR-132, miR-181b-1, miR-152 prec, miR-23b, miR-20a, miR-222, miR-27a, miR-92-1, miR-21, miR-129-1/2 prec, miR-150, miR-32, miR-106a, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos.

45 En otra realización, 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 En otra realización más, 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.

60 El nivel del al menos un producto génico de miR puede medirse usando diversas técnicas que se conocen bien por los expertos en la materia (por ejemplo, RT-PCR cuantitativa o semicuantitativa, análisis de transferencia de Northern, detección de hibridación en solución). En una realización particular, el nivel al menos un producto génico de miR se mide por transcripción inversa de ARN de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar un conjunto de oligodesoxinucleótidos diana, hibridando los oligodesoxinucleótidos diana con uno o más oligonucleótidos sonda específicos de miARN (por ejemplo, hibridando con una micromatriz que comprende varios 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 al menos miARN en la muestra de ensayo en relación con la muestra de control es indicativa de que el sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar un cáncer sólido. En una realización particular, los

oligonucleótidos diana se hibridan 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.

5 La divulgación también abarca métodos para inhibir tumorigénesis en un sujeto que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon), en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado negativamente, regulado positivamente) en las células de cáncer del sujeto. Cuando el al menos un  
10 producto génico de miR aislado está regulado negativamente en las células de cáncer, el método comprende administrar una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado, una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del producto génico de miR o variante, de modo que se inhiba la proliferación de células cancerosas en el sujeto. En una realización adicional, el al menos un producto génico de miR aislado se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos. En una realización  
15 particular, el producto génico de miR no es 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 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 un “compuesto de inhibición de la expresión de miR”), de modo que se inhibe la proliferación de células cancerosas en el sujeto. En una realización particular, el al menos un compuesto de  
20 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.

25 En una realización relacionada, los métodos para inhibir la tumorigénesis en un sujeto comprenden 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  
30 cantidad del al menos un producto génico de miR expresado en las células cancerosas. En una realización, la cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas es 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 para esta realización  
35 incluyen miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos, entre otros. En una realización particular, el producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1. En otra realización, la cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas es mayor que la cantidad del producto génico de miR expresado en la célula de control (por ejemplo, células de control), y se administra 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  
40 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.

45 La 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). En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden al menos un producto génico de miR aislado y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el al menos un producto génico de miR  
50 corresponde a un producto génico de miR que tenga una nivel reducido de expresión en células cancerosas en relación con las células de control. En determinadas realizaciones, el producto génico de miR aislado se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

En otra realización, las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el al  
55 menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR es específico de un producto génico de miR cuya expresión es mayor en células cancerosas que en células de control. En determinadas realizaciones, el compuesto de inhibición de la expresión de miR es específico para uno o más productos génicos de miR seleccionados del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-  
60 106a y combinaciones de los mismos.

La invención también abarca métodos para identificar un inhibidor de tumorigénesis, 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. En una  
65 realización, el método comprende proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión reducidos en 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 tumorigénesis. En una realización particular, el al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión reducidos en células de cáncer sólido se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

5 En otras realizaciones, el método comprende proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con 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 tumorigénesis. En una realización particular, el al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión aumentados en células de cáncer sólido 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.

## 15 Breve descripción de los dibujos

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

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

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

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

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

La FIGURA 6A representa gráficas de barra que indican que las UTR 3' de diferentes genes que codifican proteína de cáncer permiten la regulación del cáncer por microARN. La represi3n relativa de expresi3n de luciferasa de luci3rnaga (Factor de Cambio) se normalizó a un control de luciferasa de renilla. PLAG1, gen de adenoma pleiom3rfico 1; TGFBR2, receptor de factor de crecimiento transformante beta II; Rb, gen de retinoblastoma. Se us3n pGL-3 (Promega) como el vector vaci3n. 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).

La FIGURA 6B representa transferencias de Western que indican que, en ciertos cánceres (por ejemplo, pulm3n, mama, colon, g3strico), los niveles de prote3na RB1 (Rb) presentan una correlaci3n inversa con el nivel de expresi3n de *miR-106a*. Se us3n  $\beta$  actina como un control para normalizaci3n. N1, muestra normal; T1 y T2, muestra tumoral.

La FIGURA 7 representa transferencias de Northern que muestran regulaci3n negativa de la expresi3n de miR-145 (parte superior) y regulaci3n positiva de la expresi3n de miR-21 (parte inferior) en muestras de c3ncer de mama (serie P y serie numerada) en relaci3n con muestras normales. Se realiz3n normalizaci3n con una sonda espec3fica de U6.

La FIGURA 8 representa transferencias de Northern que muestran regulaci3n positiva de la expresi3n de miR-103 y regulaci3n negativa de la expresi3n de miR-155 (parte superior) en diferentes muestras de c3ncer

5 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**

10 La presente divulgación 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.

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

25 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.

30 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>	CACUGGGGAUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGUUUAGGGUCAC ACCCACCACUGGGAGUAACUAUAACAUAUCUACUGUCUUUCCU AACGUG	1
<i>let-7a-2</i>	AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUUAUCAUAAAG GGAGUAACUGUAACAGCCUCCUAGCUUUUCCU	2
<i>let-7a-3</i>	GGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUUGGGGCUUCGCCUCCU AUGGGAUAACUAUAACAUCUACUGUCUUUCCU	3
<i>let-7a-4</i>	GUGACUGCAUGCUCGCCAGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU UAGAAUUAACAAGGGAGUAACUGUAACAAGCCUCCUAGCUUU CCUUGGUCUUGCACUAACAAC	4
<i>let-7b</i>	GGCGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUUCAGGGCAGUGA UGUUGCCCCUCGGAAGAUAACUAUAACAACCUACUGCCUUCUCC UG	5
<i>let-7c</i>	GCAUCCGGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAUACA CCUUGGGAGUUAACUGUAACAACCUUCUAGCUUUCUUGGAGC	6
<i>let-7d</i>	CCUAGGAAGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUUUAGGGCAGGGAU UUUGCCCCACAAGGAGGUAACUUAACGACCUUGCUCCUUCUU AGG	7
<i>let-7d-v1</i>	CUAGGAAGAGGUAGUAGUUUGCAUAGUUUAGGGCAAGAAGAU UUUGCCCCACAAGUAGUUAGCUUAACGACCUUGCAGCCUUCUUUGU AG	8



<i>let-7d-v2</i>	CUGGCUGAGGUA <u>GUUUGUCUGUUGGU</u> CGGGUUGGACA UUGCCCCUGUGGAGUAACUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUA G	9
<i>let-7e</i>	CCCGGCUGAGGUA <u>GGUUGUAUAGUUGA</u> GGAGGACACCC AAGGAGUACACUAACGGCCUCCUAGCUUUCGCCAGG	10
<i>let-7f-1</i>	UCAGAGUAGGUA <u>GUAGAUUGUAUAGUUGGGGU</u> AGUGAU UUACCCUUGUACGGAGUAACUAUACAUCUAUUGCCUUC CUGA	11
<i>let-7f-2-1</i>	CUGGGGAUAGGUA <u>GUAGAUUGUAUAGUUGGGU</u> AGUG AUUUACCCUUGCAGGAGUAACUAUACAUCUAUUGCCUU CCCUGA	12
<i>let-7f-2-2</i>	CUGGGGAUAGGUA <u>GUAGAUUGUAUAGUUGG</u> UCAUA CCCCAUCUUGGAGUAACUAUACAGUCUACUGUCUUCUCCAC GG	13
<i>let-7g</i>	UUGCCUGAUUCCAGGCU <u>GAGGUAGUUGUUGACAGU</u> JUGAG GGUCUUGAUACCCCGGUACAGGAGUAACUGUACAGGCC ACUGCCUUGCCAGGACACGGCGC	14
<i>let-7i</i>	CUGGCUGAGGUA <u>GUUUGUCUGUUGGU</u> CGGGUUGGACA UUGCCCCUGUGGAGUAACUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUA G	15
<i>miR-1b-1-1</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUUUUUAUUGUACCCCAUAUGAACA UACA AUGCUAUGGAAUGUAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAG GC	16

<i>miR-1b-1-2</i>	CAGCUAAACAUCUAGUAAUAACCUACUCACAGACAUACUUCU UUUAGUACCCCAUUGAACAUACAUGCUAUGGAAUGUAAAAG AGUAGUUAUUUUGGUAGGCAAUA	17
<i>miR-1b-2</i>	GCCUGCUUGGGAACAUAUCUUCUUUAUUGCCCAUUGGACC UGCUAAGCUAUGGAAUGUAAAGAAAGUAGUUCUCAGGCCGG G	18
<i>miR-1b</i>	UGGGAACAUAUCUUCUUUAUUGCCCAUUGGACCUCUAAG CUAUGGAUUGUAAAGAAAGUAGUAUCUCA	19
<i>miR-1d</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCAUUGAACA UACA AUGCUAUGGAAUGUAAAGAAAGUAGUUAUUUUGGUAG GC	20
<i>miR-7-1a</i>	UGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGGAAGACUAGUGAUUUUGU UGUUUUUAGAUACUAAUCGACAACA AUACACAGUCUGCCA UAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACA	21
<i>miR-7-1b</i>	UUUGAUUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGGAAGACUAGUGAUUUUG UUUUUUUAGAUACUAAUCGACAACA AUACACAGUCUGCC AUUGGCACAGGCCAUGCCUCUACAG	22
<i>miR-7-2</i>	CUGGAUACAGAGUGGACCGGCCUGGCCCAUCUGGAAGACUAG UGAUUUUGUUUGUUCUUAUCUGCCCUACAACA AUUCCCGAG UCUACCUAAUGGUGCCAGCCAUCCGA	23
<i>miR-7-3</i>	AGAUAGAGUGGCCUGGUUCUAGUGUCUGUGGGAAGACUAGU GAUUUUUGUUUGUUCUAGUAGUACUACGACAACAAGUCACAGCCG GCCUCAUAGCCGACAGACUCCCUUCGAC	24

<i>miR-9-1</i>	CGGGUUGGUUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUUGUAUGAGUGG UGUGGAGUCUUC <u>AAAGCUAGAUACC</u> GAAAGUA <sup>25</sup> AAUA CCCCA
<i>miR-9-2</i>	GGAGCGGUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUUGUAUGAGUGU AUUGGUCUUC <u>AAAGCUAGAUACC</u> GAAAGUA <sup>26</sup> AAACUCCU UCA
<i>miR-9-3</i>	GGAGCCCGUUCUCUUUGGUUAUCUAGCUUGUAUGAGUGC CACAGCCGUC <u>AAAGCUAGAUACC</u> GAAAGUA <sup>27</sup> GAAUGA UUCUCA
<i>miR-10a</i>	GAUCUGUCUCUUGUAUA <u>UACCCUGUAGAUCC</u> GAAU <u>UUG</u> <u>UGUA</u> AGGAUUUUGUGGUCACA <u>AAUUCGUAU</u> CUAGGGGAUA UGUAGUUGACAUAACA <u>CUC</u> CCGUCU
<i>miR-10b</i>	CCAGAGUUGUAACGUUGUCUAUAUA <u>UACCCUGUAGAAC</u> CGA <u>AUUUGUGUGUAUCC</u> GUUAUGUCACAGAUUCGAUUCUAGGGG AAUAUAUGGCGAUGCA <sup>29</sup> AAAACUICA
<i>miR-15a-2</i>	GCGCGAAUGUGUGUUA <sup>30</sup> AAAUA <sup>30</sup> AAACC <u>UUGGAGUA</u> AG <u>UAGCAGCACAUAAU</u> GGUUGGGAUUUUGAAAGGUGCAGGC CAUAUUGUGCGCCUCA <sup>30</sup> AAAUAC
<i>miR-15a</i>	CCUUGGAGUAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUUGGGAUUUUG AAAAGGUGCAGGCCAU <u>AUUGUGCUGCCUCA</u> AAAUACAAGG <sup>31</sup>
<i>miR-15b-1</i>	CUGUAGCAGCACAU <u>CAUGGUUUA</u> CAUGCUACAGUCAAGAU <u>GC</u> GAUCAUUAUUUGCUGCCUCA <sup>32</sup>

<i>miR-15b-2</i>	UUGAGGCCUUAAAGUACUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAU GCUACAGUCAAGAUGCCGAUCAUUUAUUJUGCUGCCUCUAGA AAU UUAGGA AUUCAU	33
<i>miR-16-1</i>	GUCAGCAGUGCCUUAGCAGCACGUAAAUUUUGGCCUUAA GAU UCUAAA UUUAUCUCCAGUAUUA ACUGUGCUGCUGAAGUAAGG UUGAC	34
<i>miR-16-2</i>	GUUCCACUCUAGCAGCACGUAAAUUUUGGCCUAGUGAAAUU AUUUAAACACCAAUUUUAUCUGUGCUGCUUUAAGUGGAC	35
<i>miR-16-13</i>	GCAGUGCCUUAGCAGCACGUAAAUUUUGGCCUUAA GAUUCUA AAUUUAUCUCCAGUAUUA ACUGUGCUGCUGAAGUAAGGU	36
<i>miR-17</i>	GUCAGAAUAAUGUCAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAUU GUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUUAUGGUGAC	37
<i>miR-18</i>	UGUUCUAAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAA GUA GAUUAGC AUCUACUGCCCUAAGUGCCUUCUCUGGCA	38
<i>miR-18-13</i>	UUUUUGUUUUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAA GUA GAU UAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCCUUCUCUGGCAUAA GAA	39
<i>miR-19a</i>	GCAGUCCUCUGUUAGUUUGCAUAGUUUGCAUACAAGAAGAA UGUAGUUGUGCAA AUUCU AUGCAA AACUGAUGGUGGCCUCG	40
<i>miR-19a-13</i>	CAGUCCUCUGUUA GUUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAAU GUAGUUGGCAA AUUCU AUGCAA AACUGAUGGUGGCCUCG	41
<i>miR-19b-1</i>	CACUGUUCUAUGGUUA GUUUUGCAGGUUUUGCAUCCAGCUGUG UGAUUUCUGCUGUGCAA AUCCAUUGCAA AACUGACUGUGGUA GUG	42

<i>miR-19b-2</i>	ACAUUGCUCUACAAUUAUUUUGCAGGUUUUGCAUUUCAGC GUAUAUAUGUAUAUGGGCCUGUGCAA <u>AUCCAU</u> GGCAAACUGA UUUGAUAAUGU	43
<i>miR-19b-13</i>	UUUAUUGGUUAGUUUUUGCAGGUUUUGCAUCCAGCUGUGUAUA UUCUGCUGUGCAA <u>AUCCAU</u> GGCAAACUGACUGUGGUAG	44
<i>miR-19b-X</i>	UUACAUAUAGUUUUGCAGGUUUUGCAUUUCAGCGUAUAUAUGU AAUUGUGCUGUGCAA <u>AUCCAU</u> GGCAAACUGAUUGUGAU	45
<i>miR-20 (miR-20a)</i>	GUAGCAUAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUUUAGUUUAUC UACUGCAUUAUGAGCACUUAAGUACUGC	46
<i>miR-21</i>	UGUCGGGUA <u>AGCUUA</u> UCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCA UGGCAACACCA <u>GUCGAU</u> GGGCUGUCUGACA	47
<i>miR-21-17</i>	ACCUUGCGGGUA <u>AGCUUA</u> UCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAU CUCAUGGCAACACCA <u>GUCGAU</u> GGGCUGUCUGACAUUUUG	48
<i>miR-22</i>	GGCUGAGCCGCAGUAUUUCUUCAGUGGCAAAGCUUUAUGUCCU GACCCAGCUAAAGCU <u>GGCAGUU</u> GAAGAA <u>CUGU</u> UGCCCCUCUGC C	49
<i>miR-23a</i>	GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUUGCUUCCUGUCAC AAAUACA <u>UUGCCAGGGAU</u> UCCAAACCGACC	50
<i>miR-23b</i>	CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGGUUCUCCUGGCAUGCUGAUUUG UGACUUAAGAUUA <u>AAAU</u> CACA <u>UUGCCAGGGAU</u> UACCA <u>CGCAA</u> CCACGACCUUGGC	51
<i>miR-23-19</i>	CCACGGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUUGCUUCCUG UCACAA <u>AUCACAU</u> UGCCAGGGGAUUUCCAAACCGACCCUGA	52

<i>miR-24-1</i>	CUCCGGGCCUACUGAGCCUGAUUACAGUUCUCUUAUUUACACA CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	53
<i>miR-24-2</i>	CUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCCUGAAACACAGUUGGUUUG UGUACACUGGCCUCAGUUCAGCAGGAACAAGGG	54
<i>miR-24-19</i>	CCUUGGCCUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCCUGAAACACAGU UGGUUUGUGUACACUUGCCUCAGUUCAGCAGGAACAAGGGG	55
<i>miR-24-9</i>	CCUCCGGUGCCUACUGAGCCUGAUUACAGUUCUCAUUUUACA CACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAACAUC	56
<i>miR-25</i>	GGCAGUGUUGAGAGCCGGAGACUUGGGCAAUUGCUGGACGC UGCCUUGGCCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACAGUGCCGGCC	57
<i>miR-26a</i>	AGGCCUGGCCUCGUUCAAGUAUCCAGGAUAGGCCUGUGCAG GUCCCAUUGGCCUAUCUUGGUUACUJUGCACGGGGACGCGGGC CU	58
<i>miR-26a-1</i>	GUGGCCUCGUUCAAGUAUCCAGGAUAGGCCUGUGCAGGUCCCC AAUGGGCCUAUUCUUGGUUACUJUGCACGGGGGACCGC	59
<i>miR-26a-2</i>	GGCUGUGGCCUGGAUUCAGUAAGUAUCCAGGAUAGGCCUGUUC UCUGAGGCCUAUUCUUGAUUAUCUJUGUUCUGGAGGCAAGCU	60
<i>miR-26b</i>	CCGGGACCCAGUUCAGUAAGUAUUCAGGAUAGGUUUGUGUCUGU CCAGCCUGUUCUCCAUUAUCUJUGGCCUCCGGGGACCCGG	61
<i>miR-27a</i>	CUGAGGACAGGGCCUAAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACC AAGUCGUUUCACAGUGGCCUAAGUJUCGCCGCCCCAG	62
<i>miR-27b-1</i>	AGGUCAGAGCUAAGCUGAUUGGUGAACAUGAUUGGUUUUCC GCUUUGUUCACAGUGGCCUAAGUJUCGACCU	63

<i>miR-27b-2</i>	ACCUCUUAACAAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUUGGUGAACAG UGAUUGGUUUCCGCUUJUGUUCACAGUGGCCUAAGUUUCUGCACC UGAAGAGAAGGUG	64
<i>miR-27-19</i>	CCUGAGGAGCAGGGCCUJAGCUGCUJUGUGAGCAGGGUCCACAC CAAGUCGUGUUCACAGUGGCCUAAGUUCGCCCCCCAGG	65
<i>miR-28</i>	GGUCCUUGCCCUCAAGGAGCUCACAGUCUAUUGAGUUAACUU UCUGACUUUCCCAUAAGAUUGUGAGCUCUCCUGGAGGGCAGGCA CU	66
<i>miR-29a-2</i>	CCUUCUGAGCCCUCUAGAGGAUGACUGAUUUCUJUUGGUGU UCAGAGUCAAUUAUAAUUUCUAGCACCAUCUGAAAUCCGGUJA UAAUGAUUGGGGAAGAGCCCAUG	67
<i>miR-29a</i>	AUGACUGAUUUCUJUUGGUGUUCAGAGUCAUAUAUUUUCU AGCACCAUCUGAAAUCCGGUJAU	68
<i>miR-29b-1</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAU AUGGGUGGUUJAGAUUUAUAG UGAUUGUCUAGCACCAUJUGAAAUCAUGUGUUCUJGGGGG	69
<i>miR-29b-2</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUUGGUGGCCUJAGAUUUUCCAU CUUUGUAUCUAGCACCAUJUGAAAUCAUGUGUJUJAGGAG	70
<i>miR-29c</i>	ACCACUGGCCCAUCUCUUCACACAGGCCUGACCGAUUUCUCCUG GUGUUCAGAGUCUGUUUUUGUCUAGCACCAUJUGAAAUCCGGU UJUGAUGUAGGGGGAAAGCAGCAGC	71
<i>miR-30a</i>	GCGACUGUAAACAUCUCCGACUGGAAGCUGUAAAGCCACAGA UGGGCUUUCAGUCGGGAUGUJUGCAGCUGC	72

<i>miR-30b-1</i>	<u>AUGUAAACA</u> <u>UCCUACACUCAGC</u> <u>UGUAUA</u> <u>CAUGGAU</u> <u>GGCUG</u> GGAGGUGGAUGUUUACGU	73
<i>miR-30b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUCAGUAAACA <u>UCCUACACUCAGCUG</u> UAA UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	74
<i>miR-30c</i>	AGAUACUGUAAACA <u>UCCUACACUCAGCUG</u> GGAAAGUAAG AAAGCUGGGAAGAGGCUGUUUACUCUUUCU	75
<i>miR-30d</i>	GUUGUUGUAAAACA <u>UCCCGACUCUGGA</u> AGCUGUAAGACACAGCU AAGCUUCAGUCAGAUUUUGCUUCUAC	76
<i>miR-30e</i>	<u>CUGUAAACA</u> <u>UCCUUGACU</u> <u>GGAA</u> <u>GCUGUA</u> <u>AGGUGU</u> <u>UCA</u> <u>GAGGA</u> GCUUCAGUCGGAUGUUUACAG	77
<i>miR-31</i>	GGAGAGGAGGCAAGAU <u>GCUGGCAU</u> AG <u>CUJUGA</u> ACUGGGAAC CUGCUAUGCCCAACAUAJUGCCAUCUJUCC	78
<i>miR-32</i>	GGAGAUJUGCACAUA <u>CUAAGUJGCA</u> UGUJUGCACGGCCUC AAUGCAAUUUAUGUGUGUGAUUUUC	79
<i>miR-33b</i>	GGGGCCGAGAGAGCGGGCGGCCCGGGU <u>GCAUJGCUGUU</u> <u>GCAUJGCACGUGUGAGGGCGGGUGCAGUGCCUCGGCAGUGC</u> AGCCCGGAGCCCGCCCU <u>GGCACCCAC</u>	80
<i>miR-33b-2</i>	ACCAA <u>GUUUCAGUUCAGU</u> AAACA <u>UCCUACACUCAGCUG</u> UAA UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	81
<i>miR-33</i>	<u>CUGUGGCAU</u> <u>UGAUJUGCAU</u> <u>UGUUGU</u> <u>UGGUGGUA</u> <u>CCCC</u> AUGCAAUGUUUCCACAGUGCAUCACAG	82



<i>miR-34-a</i>	GGCCAGCUGUGAGUGUUUCUUU <u>GGCAGUGUCUUAGCUGGUUUG</u> UUGAGCAAUA <u>GUAAGGAAGCAU</u> CAGCAAGUAUACUGCCCC UAGAGUGCUGCACGUUGGGGCC	83
<i>miR-34-b</i>	GUGCUGGUUU <u>GUAGGCAGUGUCAUUA</u> GCUGAUUGUACUGUG GUGUUACA <u>AUCACUAACUCCACUGCCA</u> CAAAACAAGGCAC	84
<i>miR-34-c</i>	AGUCUA <u>GUUACUAGGCAGUGUAGU</u> AGCUGAUUGCUAAUAGU ACCAUACUAACCAACAGGCCAGGUA <u>AAAAGAUU</u>	85
<i>miR-91-13</i>	UCAGAAUA <u>UUGUCAAAGUCUUA</u> CAGUGCAGGUA <u>GUGUAU</u> UG UGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUA <u>GCAUUA</u> UGGUGA	86
<i>miR-92-1</i>	CUUUCUACACAGGUUGGGAUCCGGUUGCA <u>AUGCUGGUUUCUG</u> UAUGGU <u>AUUGCACUJUGUCCCGCCUGU</u> GAGUJUGG	87
<i>miR-92-2</i>	UCAUCCUGGGGGAU <u>UUGUUGCAUUA</u> CUUGUGUUCU <u>AUA</u> UAAGUA <u>UUGCACUJUGUCCCGCCUGU</u> GGAAGA	88
<i>miR-93-1 (miR-93-2)</i>	CUGGGGCUCCAAAGU <u>CGUUCGUGCAGGUA</u> GUUGAU <u>UAC</u> CCAA <u>CCUACUGCUGAGCUAGCACU</u> UCCCGAGCCCCCGG	89
<i>miR-95-4</i>	AACACAGUGGGCACUCAUA <u>AAUGUCUGUUGAAUUGAA</u> AUGC GUUACA <u>UUCACGGGUUUUUAUUGA</u> GCACCCACUCUGUG	90
<i>miR-96-7</i>	UGGCCGAU <u>UUUUGGCACUAGCACAU</u> UUUUUGCUUGUGUCUCUCC GCUCUGAGCAAUCAUGUGCAGUGCCAAUA <u>UUGGAAA</u>	91
<i>miR-97-6 (miR-30*)</i>	GUGAGCAGCU <u>GUAAACAUCUCCUGCAGU</u> GAAAGCUGUGAAGCCA CAGAU <u>GGCCUUUCAGUCGGAUUUUGA</u> GCAGCUGCCUACU	92
<i>miR-98</i>	GUGAGGUAGUAAG <u>UUGUAUUUGUUGU</u> GGGUA <u>GGGAUUAU</u> AG GCCCAA <u>UUAAGAUAACUAUA</u> ACA <u>CUACUACU</u> UCC	93

<i>miR-99b</i>	GGCA <u>CCCACCCGUA</u> GA <u>ACCCGACC</u> U <u>JUGGGGGCCU</u> CGCCGCAC ACAAGCUCGUGUCUGUGGGGCCGUGUC	94
<i>miR-99a</i>	CCCAUUGGCAUAA <u>ACCCGU</u> A <u>GAUCCGAUCU</u> JUGGUGAA <u>GUG</u> GACCCACAAGCUCGCUUCUAUGGGGUCUGUGUCA <u>GUGUG</u>	95
<i>miR-100-1/2</i>	AAGAGAA <u>GAUAU</u> UGAGGCCUGUUGCCACA <u>AACCCGU</u> A <u>GAU</u> <u>CCGAACU</u> UGUGUAU <u>UAGUCCGCACA</u> AAGC <u>UUGUAUCU</u> AUAGG UAUGUCUGUUA <u>GGCAU</u> CUCAC	96
<i>miR-100-11</i>	CCUGUUGCCACA <u>AACCCGU</u> A <u>GAUCCGAACU</u> JUGGUAU <u>UAGU</u> CCGCACAAGCUGUAUCUA <u>UAGGUAUGUGUCU</u> GUUAGG	97
<i>miR-101-1/2</i>	AGGCUCCCGCCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCU <u>AU</u> UCUAAAGGUACAGUACUGUGAUAACUGAAGGAUGGCAGCCAU CUUACCUUCCAU <u>CAGAGG</u> AGCCUCAC	98
<i>miR-101</i>	UCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCCAUUCUAAAGGUACAG <u>UACUGUGUA</u> AA <u>CUGA</u>	99
<i>miR-101-1</i>	UGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCU <u>AUUCUA</u> AAGGUACAGUACUGUGAUAACUGAAGGAUGGCA	100
<i>miR-101-2</i>	ACUGUCCUUUUCGGUUAUCAUGGUACCCGAUGCUGUAU <u>AUCU</u> GAAAGGUACAGUACUGUGAUAACUGAAGAAUGGGUGU	101
<i>miR-101-9</i>	UGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCCGAUGCUGUAU <u>AUCUGA</u> AAGGUACAGUACUGUGAUAACUGAAGAAUGGUG	102
<i>miR-102-1</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUUCACAUUGGUGCCUJAGAUUUUCCAU CUUUGUAUCUAGCACCAU <u>UUGAAAUCAGUGU</u> UUUAGGAG	103

<i>miR-102-7.1 (miR-102-7.2)</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUUAGUGGUGGUUUAGAUUUAAAUAG UGAUUGUCUAGCA <del>CCAUUU</del> GAAAUCAAGUGUUCUUGGGGG	104
<i>miR-103-2</i>	UUGUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGUAGCAUUC GGUCAAGCAACAUTUGUACAGGGCUAUGAAAGAAACCA	105
<i>miR-103-1</i>	UACUGCCCUCCGGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGUUGCAUUG GAUCAAGCAGCAUTUGUACAGGGCUAUGAAGGCAUUG	106
<i>miR-104-17</i>	AAUUGUCAGACAGCCCAUCGACUGGUGUUGCCAUAGAUUCA ACAGUCAACAUCAGUCUGAUUAGCUACCCGACAAGG	107
<i>miR-105-1</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUCU CAUGCACCA <del>CGGAUGU</del> UUGAGCAUGUGCUACGGUGUCUA	108
<i>miR-105-2</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUCU UAUGCACCA <del>CGGAUGU</del> UUGAGCAUGUGCUAUGGUGUCUA	109
<i>miR-106-a</i>	CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGCUUUUUG AGAUUCUACUGCAUUGUAAAGCACUUCUUA <del>CAUUA</del> CCAUUGG	110
<i>miR-106-b</i>	CCUGCCGGGGCUAAAGUGCUGACAGUGCAGAUAGUGGUCCUC UCCGUGCUACCGCACUGUGGGUA <del>CUU</del> GCUGCCUCCAGCAGG	111
<i>miR-107</i>	CUCUCUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGUUGCCUUGUGGCAUG GAGUUCAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCAAAGCACAGA	112
<i>miR-108-1-small</i>	ACACUGCAAGAACAUAAGGAUUUUUAGGGGCAUUAUGACUG AGUCAGAAAACACAGCUGCCCCU <del>GAAA</del> GUCCCUCAUUUUUCU UGCUGU	113
<i>miR-108-2-small</i>	ACUGCAAGAGCAUUAAGGAUUUUUAGGGGCAUUAUGAUAGUG GAAUGGAAACACAUCUGCCCCCAAAAGUCCCUCAUUUU	114

<i>miR-122a-1</i>	CCUUAGCAGAGCUGGAGUGUGACAAUGGUUUGUUGUUGUCUA AACUAUCAAACGCCAUUAUCAACACUA <del>AAUAAGCUACUGCCUAGG</del> C	115
<i>miR-122a-2</i>	AGCUGGGAGUGUGACAAUGGUUUGUUGUCCAAACUAUCA ACGCCAUUAUCACACUA <del>AAUAAGCU</del>	116
<i>miR-123</i>	ACAUUAUUACUUUUGGUACGCCGUGUGACACUUAACUCGU ACCGUGAGUAAUAUUGCGC	117
<i>miR-124a-1</i>	AGGCCUCUCUCGCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUG UCCAUACA <u>UUAAAGGCACGGGUGA</u> AUGCCAGA <u>AUGGGGCU</u> G	118
<i>miR-124a-2</i>	AUCAAGAUJAGAGCCUCUCGCCGUGUUCACAGCGGACCU UGAUUUAAUGUCAUA <u>CAAUAAAGGCACGGGUGA</u> AUGCCAAAG AGCGGAGCCUA <u>CGGCUGCACUUGAAG</u>	119
<i>miR-124a-3</i>	UGAGGGCCCCUCUGCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUG UCUAUACA <u>AAUAAAGGCACGGGUGA</u> AUGCCAGAAGAGGGCGCC UCC	120
<i>miR-124a</i>	CUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCUAUCA UUAAAGGCACGGGUGA <u>AUGCCAAAGAG</u>	121
<i>miR-124b</i>	CUCUCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCAUA <u>CAAU</u> UAAAGGCACGGGUGA <u>AUGCCAAAGAG</u>	122
<i>miR-125a-1</i>	UGCCAGUCUCUAGGU <u>CCCCUGAGACCCU</u> UUA <u>ACCU</u> GUGAGGAC AUCCAGGGUACAAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGCGGUCUGG CC	123

miR-125a-2	GGU <u>CCU</u> GAGACCCU <u>UU</u> AACCU <u>GU</u> GAGGACA <u>UCC</u> AGGGUCAC AGGUGAGGUUCUUGGGAGCCU <u>GG</u>	124
miR-125b-1	UGCGCUCUCAGU <u>CCCU</u> GAGACCCUAACU <u>UG</u> AGUUUA CCGUUA <u>AAUCC</u> ACGGUUAAGCCUCUUGGGAGCUGCGAGUCG UGCU	125
miR-125b-2	ACCAGACUUUCCUAGU <u>CCCU</u> GAGACCCUAACU <u>UG</u> AGGUA UUUA <u>GUAACA</u> CAUCACAAGUCAGGCUCUUGGACCCUAGGCCGA GGGA	126
miR-126-1	CGCUGCGGACGGGACA <u>UU</u> AUA <u>CUUU</u> GGUACCGCGCUGGAC ACU <u>CAAACU</u> CGUACCGGAGUA <u>AA</u> AU <u>GGCC</u> GUCCACGGC A	127
miR-126-2	ACAU <u>UUACU</u> UUUGGUACGGCGUGGACACU <u>CAAACU</u> CGU ACCGGAGUA <u>AA</u> UA <u>U</u> GGCGC	128
miR-127-1	UGGAUCAUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGCUCUG AUCA <u>GAAAGA</u> UCAU <u>CGGAUCC</u> GU <u>CGUCUGAGCU</u> UGGCUGGUCGG AAGUCUCAUC	129
miR-127-2	CCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU <u>UCAGA</u> AAGAUCA UCGGAUCCGU <u>CGAGCU</u> UGGCUGGUCGG	130
miR-128a	UGAGCUGU <u>GGAUUC</u> GGGGCCGUAGCACUGUCAGAGGUUU ACAU <u>UUCACA</u> CAGUGAACCGGUCUCU <u>UUUUCAGC</u> UGCUUC	131
miR-128b	GCCCCGACCCACUGUGCAGUGGGAAGGGGGCCGUAACACU GUACGAGAGUAGCAGGUCUCACAGUGA <u>ACCGGUCUCU</u> U <u>CCCU</u> ACUGUGCACACUCCUA <u>U</u> AGG	132

<i>miR-128</i>	GUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUCUCUGAGAGGJUUAACAUUU CUACAAGUGAACCGGUCUCUUUUUCAGC	133
<i>miR-129-1</i>	UGGAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUUCCUCUACAAGU AGUCAGGAAGCCUUACCCCAAAAAGUAUCUA	134
<i>miR-129-2</i>	UGCCCUUCGCGAAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUACA AACUCAAUAGCCCGAAGCCCUUACCCCAAAAAGCAUUUGCGG AGGGCG	135
<i>miR-130a</i>	UGCUGCUGGCCAGAGCUCUUUUCACAUUGUGCUACUGUCUGC ACCUGUCACUAGCAGUGCAUGUUAAAAGGGCAUUGGCCGUG UAGUG	136
<i>miR-131-1</i>	GCCAGGAGCGGGUUGGUUUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUG UAUGAGUGGUUGGAGUCUUAAGCUAGAUAAACCGAAAG UAAAUAACCCCAUACUCGCGCAG	137
<i>miR-131-3</i>	CACGGCGGCAGCGGCACUGGCUAAGGGAGGCCCGUUUCUC UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAGAGUGCCACAGAGCCGUCAU AAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAGAAUG	138
<i>miR-131</i>	GUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGUAUJUGGUCU UCAUAAAGCUAGAUACCGAAAGUAAAAC	139
<i>miR-132-1</i>	CCGCCCCGGUCUCCAGGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUJAC UGUGGAAUCUGGAGGUAAACAGUCUACAGCCAUUGGUCGCCCG CAGCACGCCCCACGGCGC	140
<i>miR-132-2</i>	GGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUJACUGGGGAACUGGAGGU AACAGUCUACAGCCAUUGGUCGCCCG	141

<i>miR-133a-1</i>	ACAUGCUUUGCUAGAGCUGGUA <sup>AA</sup> AUGGAA <sup>CCCAA</sup> AU <sup>CGCCU</sup> CUUCA <sup>AUGGAUUUGGU</sup> <u>CCCCUJCA</u> <sup>ACCAGCUGUA</sup> GCUAUGCA UUGA	142
<i>miR-133a-2</i>	GGGAGCCAA <sup>AUGCUUU</sup> GCUAGA <sup>GCU</sup> GGU <sup>AAA</sup> AUGGAA <sup>CCCAA</sup> UCGACU <sup>GUCCA</sup> AUGGAU <sup>UUGGU</sup> <u>CCCCUUC</u> <sup>AACCAGCUGUAGC</sup> UGUGCAUUGAUGGCGCG	143
<i>miR-133</i>	GCUAGCUGGUA <sup>AAA</sup> UUGGA <sup>CCAA</sup> AUGGCCU <sup>CUUCA</sup> AUGGA UUUGGU <sup>CCCCUJCA</sup> <sup>ACCAGCUGUAGC</sup>	144
<i>miR-133b</i>	CCUCAGAA <sup>AGA</sup> AUGCCCCU <sup>GCUCU</sup> GGCU <sup>GGUCAA</sup> CGGA ACCAAGU <sup>CCGUUU</sup> CCUGAGAG <sup>GUUUGGU</sup> <u>CCCCUUC</u> <sup>AACCAG</sup> <u>CUACAGCAGG</u> <sup>CGCAA</sup> UGCCCA <sup>GUCCUJGGAGA</sup>	145
<i>miR-133b-small</i>	GCCCCU <sup>GCUCU</sup> GGCUGGUA <sup>AACGGAA</sup> CCAA <sup>AGUCCGUCU</sup> UCC UGAGAGGU <sup>JUGGU</sup> <u>CCCCUJCA</u> <sup>ACCAGCUACAGCAGGG</sup>	146
<i>miR-134-1</i>	CAGGGU <sup>GUUGACU</sup> GGU <sup>UGACCAGAGGGG</sup> CAUGCACUGUGU <sup>TU</sup> CACCCU <sup>GUGGGCCACC</sup> UAGUCA <sup>CCAA</sup> ACCCU	147
<i>miR-134-2</i>	AGGGU <sup>GUGACU</sup> GGU <sup>UGACCAGAGGGG</sup> CAUGCACUGUGU <sup>UJ</sup> ACCCU <sup>GUGGGCCACC</sup> UAGUCA <sup>CCAA</sup> ACCCU	148
<i>miR-135a-1</i>	AGGCCU <sup>CGCUGUU</sup> CUCU <sup>AUGGCUUUUU</sup> AU <sup>UCCU</sup> AUGUGAU <sup>UJ</sup> UACU <sup>GCUCACUCA</sup> UA <sup>AGGGAUU</sup> GGAG <sup>CCGUGGGCCACCGCG</sup> GGGACA	149
<i>miR-135a-2 (miR-135-2)</i>	AGAU <sup>AAUU</sup> CACUCU <sup>A</sup> GUGCU <sup>UUU</sup> AUGGCU <sup>UUUU</sup> AU <sup>UCCU</sup> AUG <u>UGAU</u> <sup>AGUAUA</sup> AA <sup>AGUCUCA</sup> UGU <sup>AGGGAU</sup> GGA <sup>AGCCAU</sup> GAAU ACAU <sup>GUGAAA</sup> AUCA	150

<i>miR-135</i>	CU <u>AUGGC</u> UUUU <u>AUUCCUAUGUGAUUCUACUGCUCACUCAUA</u> UAGGGAUUGGAGCCGUGG	151
<i>miR-135b</i>	CACUCUGCUGUGGGCCU <u>AUGGCCUUUUCAUUCCUAUGUGAUUGC</u> UGUCCCAAACUC <u>AUGUAGGGCUAAAGCCAUJGGGCUACAGUG</u> AGGGCGGAGCUCC	152
<i>miR-136-1</i>	UGAGCCCUCCGGAGGACUCC <u>AUUUUUUUGAUUGGAUUUCUU</u> AUGCUC <u>CAUCAUCGUCUCA</u> AUGAGUCUUCAGAGGGUUUCU	153
<i>miR-136-2</i>	GAGGACUCC <u>AUUUGUUUGAUUGGAUUUCUUAUGCUCCAUC</u> AUCGUUC <u>CAA</u> UGAGUCUUC	154
<i>miR-137</i>	CUUCGGUGACGGGUAUUCUUGGGUGGAUAUAACGGAUUACGU UGUU <u>AUUGCUUAAGAAUA</u> CGCGUA GUCGAGG	155
<i>miR-138-1</i>	CCUUGCAUGGUGUGGUGGGCC <u>AGCUGGUGUUUGUAAUCAGG</u> CCGUUGCCAAU <u>CAGAGAACGGCUACUUC</u> ACAACACCGGCC ACACCACACUACAGG	156
<i>miR-138-2</i>	CGUUGCUGCAGCUGGUGUUUG <u>AAUCAGGCCGACGACGCGC</u> CAUCCU <u>UACCCGGCUAUUUCACGACACCA</u> GGGUJUGCAUCA	157
<i>miR-138</i>	CAGCUGGUGUUUG <u>AAUCAGGCCGACGAGCAGCGCAUCCUCU</u> UACCCGGCU <u>AUUUCACGACACCA</u> GGGUUG	158
<i>miR-139</i>	GUGUAU <u>UCACAGUGCACCGUGUCUCCA</u> GUGUGCUCGGAGGC UGGAGACGGGGCCUGUUGGAGUAAC	159
<i>miR-140</i>	UGUGUCUCUCUCUGUGUCCUGCC <u>AGUGGUUUUA</u> CCCU <u>AUGGU</u> AGGU <u>UACGUCAUGCUGUUCUACCA</u> CAGGGUAGAA <u>CCACGGAC</u> AGGAUACCGGGGCACC	160



<i>miR-140as</i>	UCCUGCCAGUGGUUUUA <u>CCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUG</u> UUCUACCACAGGGUAGAGACCACGGACAGGA	161
<i>miR-140s</i>	CCUGCCAGUGGUUUUA <u>CCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUGU</u> UCUACCACAGGGUAGAGACCACGGACAGG	162
<i>miR-141-1</i>	CGGCCGGCCCGGUCCAUUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGU CUAAUUGUGAAGCUCCU <u>AACACUGUCUGGUAAAGAU</u> GGCUCC CGGGUGGGUUC	163
<i>miR-141-2</i>	GGGUCCAUCUUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUUAAUUGUGAA GCUCCU <u>AACACUGUCUGGUAAAGAU</u> GGCCC	164
<i>miR-142</i>	ACCUAAAGUAGAAAGCACUACUAAACAGCACUGGAGGGUGU AGUUUCCUACUUUAUGGAUG	165
<i>miR-143-1</i>	GCGCAGGCCCCUGUCUCCCAGCCUGAGGUGGCAGUGCUGCAUC UCUGGUCAGUUGGAGUCUGAGAGUAGCACU <u>GUAGCUCACAGG</u> AAGAGAGAAGUUUUCUGCAGC	166
<i>miR-143-2</i>	CCUGAGGUGCAGUGGCUCCAUUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGA GAUGAAGCACUCUGAGCUCAGG	167
<i>miR-144-1</i>	UGGGCCCUUGGCUUGGGAUAUCAUAUAUCUGUAAGUUUGCG AUGAGACACU <u>ACAGUAUAGAU</u> GAUGUACUAGUCCCGGGCACCC CC	168
<i>miR-144-2</i>	GGCUGGGAUAUCAUAUAUCUGUAAGUUUGCGGAUGAGACAC UACAGUAUAGAU <u>GAUGUACUAGUC</u>	169

miR-145-1	CACCUUGUCCUCACGGU <u>CCAGUUUUUCCCAGGAU</u> UCCCUUAGA UGCUAAGAUGGGGAUCCUGGA <sup>A</sup> AUACUGUUCUUGAGGUCAU GGUU	170
miR-145-2	CUCACGGUCCAGUU <u>UCCCAGGAU</u> CCCUUAGAUGCUAAGAU GGGAUCCUGGA <sup>AA</sup> UACUGUUUUGAG	171
miR-146-1	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUUGAGAA <u>CUGAAU</u> UCCAUUGGGUU GUGUCAGUGUCAGACCUCUGAA <u>UU</u> CAGUUUCUUCAGCUGGGA UAUCUCUGUCAUCGU	172
miR-146-2	AGCUUUGAGAA <u>CUGAAU</u> UCCAUUGGGUUGUGUCAGUGUCAGAC CUGGAA <u>AA</u> UUCAGUUUCUUCAGCU	173
miR-147	AAUCUAAAGACAACA <u>UUUCUGCACACACCAGACUA</u> UGGAA GCCAGUGUGGGAA <u>U</u> GCUCUUCGUAGAUU	174
miR-148a (miR-148)	GAGGCAAAGUUUCUGAGACACUCCGACUCUGAGUAUGAUAGAA GUCAGUGCACUACAGAA <u>CU</u> UJUGUCUC	175
miR-148b	CAAGCACGAUUAGCAUUUGAGGGUGAA <u>GUUCUGUUUA</u> UACACUC AGGCUUGGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCA <u>U</u> CACAGAA <u>CUUUGU</u> CUCGAAAGCUUUUCUA	176
miR-148b-small	AAGCACGAUUAGCAUUUGAGGGUGAA <u>GUUCUGUUUA</u> UACACUCA GGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGGCAU	177
miR-149-1	GCCGGGCCCGAGCUCUUGGCUC <u>CCGUGUCU</u> CACUCCCGUGCUU GUCCGAGGAGGGA <u>GGGA</u> GGGACGGGGGCGUGUGCUGGGGCAGC UGGA	178

<i>miR-149-2</i>	GUCUGGCCUCCGUGUCUUCACUCCCGUGUCUUGUCCGAGGAGG GAGGGAGGGAC	179
<i>miR-150-1</i>	CUCCCCAUGGCCUUCUCCCAACCCUUGUACCAAGUCUGGGC UCAGACCCUUGUACAGGCCUUGGGGACAGGGACCCUGGGGAC	180
<i>miR-150-2</i>	CCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAAGUCUGGCCUCAGACCCUG GUACAGGCCUUGGGGACAGGG	181
<i>miR-151</i>	UUUCCUCCCCUCGAGGAGCUCACAGUCUAGUAGUUCUCAUCC CCUACUAGACUGAAGCUCUUGAGGACAGG	182
<i>miR-151-2</i>	CCUGUCUCAAGGAGCUCUAGUCUAGUAGGGGAUGAGACAU CUAGACUGUAGCUCUCCGAGGGCAGG	183
<i>miR-152-1</i>	UGUCCCCCGGCCAGGUUCUUGUAGUACACUCCGACUCGGGC UCUGGAGCAGUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCGGAAGGA CC	184
<i>miR-152-2</i>	GGCCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGCUUGGAGCA GUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCCCGG	185
<i>miR-153-1-1</i>	CUCACAGCUGCCAGUGUCAUUUUGUGAUCUGCAGCUAGU UCUCACUCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGCAGG UGUGGC	186
<i>miR-153-1-2</i>	UCUCUCUCCUCCACAGCUGCCAGUGUCAUUGUCACAAAAG UGAUCAUUGGCAGGUGUGGCCUGGCAUG	187
<i>miR-153-2-1</i>	AGCGGUGGCCAGUGUCAUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAU AUGAGCCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGAAACU GUG	188

<i>miR-153-2-2</i>	CAGUGUCAUUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAUUGAGCCCCA GUUGCAUAGUCACA <sup>AA</sup> AGUGAUCAUUG	189
<i>miR-154-1</i>	GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAUCCGUUUGCCUUCGGCUUUU UUGUGACGAAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUUCAGUACCAA	190
<i>miR-154-2</i>	GAA <sup>GAU</sup> AGGUUAUCCCGUUGCCUUCGCUUUAUUUGUGACGA AUCAUACA <sup>CGGU</sup> UGACCUAUUUUUU	191
<i>miR-155</i>	CUGUUAUUGCUAAUUGUGAUAGGGGUUUUUUGCCUCCAACUGA CUCCUACAUAUAGCAUUAACAG	192
<i>miR-156 = miR-157 = overlap miR-141</i>	CCUAAACACUGUCUGGUAAGAUGGCUCCCGGUGGGUUCUCU CGGCAGUAACCUUCA <sup>GGG</sup> AGCCCUAGAAGACCAUGGAGGAC	193
<i>miR-158-small = miR-192</i>	GCCGAGACCGAGU <sup>GCACA</sup> GGGCUUCUGACCUAUGAAUUGACAG CCAGUGCUUCGUCUCCUCCUUGGCUGCCAAUUC <sup>CAU</sup> AGGUCA CAGGUAUGUUCGCCUCAAUGCCAGC	194
<i>miR-159-1-small</i>	UCCCGCCCCUGUAACAGCAACUCCAUGUGGAAGU <sup>CCCC</sup> ACUG GUUCCAGUGGGGCU <sup>GCUGU</sup> AUCUGGGGCGAGGGCCA	195
<i>miR-161-small</i>	AAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAA <sup>AAAGGA</sup> UGAGGUGACU <sup>GGUC</sup> UGGGCUAC <sup>GCUA</sup> U <sup>GCUG</sup> CGCGCCUCCGGG	196
<i>miR-163-1b-small</i>	CAUUGGCCUCCUAAAGCCAGGGAUUUGGGUUCGAGU <sup>CCCC</sup> CACC CGGGUA <sup>AAAGA</sup> AGGCCGAUUU	197
<i>miR-163-3-small</i>	CCUAAAGCCAGGGAUUUGGGUUCGAGU <sup>CCCC</sup> ACCU <sup>GGGU</sup> AGA GGUGAAAGU <sup>UCCUU</sup> JUACGGAAUUUUUU	198

<i>miR-162</i>	CAAUGUCAGCAGUGCCUUAGCAGCAGCGUAAAUUUGGCGUUA AGAUUCUAAAUTUAUCUCCAGUAUUAAACUGUGCUCUGAAGU AAGGUUGACCAUACUCUACAGUUG	199
<i>miR-175-small = miR-224</i>	GGCCUUUCAAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUUUGU GCAUUGUUUCAAAUUGGUCCCCUAGUGACUACAAGCCCC	200
<i>miR-177-small</i>	ACGCAAGUGUCCUAAAGGUGAGCUCAGGGAGCACAGAAACCUC CAGUGGAACAGAAAGGGCAAAAGCUCAUU	201
<i>miR-180-small</i>	CAUGUGUCACUUUCAAGGUGGAGUUUCAAGAGUCCCUUCCUGG UUCACCGUCUCCUUUGCUCUJCCACAAC	202
<i>miR-181a</i>	AGAAGGGCUAUCAAGCCAGCCUUCAGAGGACUCCAAGGAACA <u>UUCACCGCUGCGGUGAGUUGGGAUUUGAAAAACCA</u> CUGA CCGUUGACUGUACCUUGGGGUCCUUA	203
<i>miR-181b-1</i>	CCUGUCAGAGAUUAUUUUUUAAGGUCACAUC <u>AACA</u> UUC <u>AUU</u> GCUGUCGGUGGUUGAACUGUGUGGACAAAGCUCACUGAA CAAUGAAUGCAAACUGUGGCCCGCUU	204
<i>miR-181b-2</i>	CUGAUGGCUCACUC <u>AACA</u> UUAUUGCUGUGCGGUGGUUUGA GUCUGAAUCAACUCACUGAUCAAUGAAUGCAAACUGCGGACC AAACA	205
<i>miR-181c</i>	CGGAAAUUUUGCCAAAGGUUUUGGGGGAACA <u>UUCA</u> ACCUGUCCG <u>GUGAGU</u> JUGGGGCAGCUCAGGCAAACCAUCCGACCGUUGAGUGG ACCCUGAGGCCUUGGAAUUUGCCAUCU	206

miR-182-as	GAGCUGCUUGCCUCCCCCGUUUUJUGGCAU <u>GGUAGA</u> CUCA CACUGGUGAGGUAACAGGAUCCGGUGGUU <u>CUAGACUUGCCAA</u> CU <u>U</u> GGGGCGAGGACUCAGCCGGCAC	207
miR-182	UUUU <u>GGCAU</u> GGUA <u>GAA</u> CUCACAC <u>U</u> GGUGAGGUAA <u>C</u> AGGAU CCGGUGUU <u>CUAGACU</u> UGCCAA <u>CU</u> AUGG	208
miR-183	CCGCAGUGUGACUCCUGUUUCUGU <u>U</u> GGCACU <u>GGUA</u> GAA UU <u>CACU</u> GUAGACAGUCUCAGUCAGUGAAUUA <u>CCGA</u> AGGGCCA UAAACAGAGCAGAGACAGAUCCACGA	209
miR-184-1	CCAGUCACGUCCCCUU <u>AUCACU</u> UUCCAGCCCCAGCU <u>U</u> UGUGAC UGU <u>AA</u> GUGUUGGACGGAGAA <u>CU</u> GAAAGGGUAGGUGAUUGA	210
miR-184-2	CCUUAUCACUUUCCAGCCCCAGCU <u>U</u> UGUGACUGUAAGU <u>GU</u> UG GACGGAGAA <u>CU</u> GAUAAAGGGUAGG	211
miR-185-1	AGGGGGCGAGGGAU <u>UGGAGAGAA</u> AGGCAGU <u>U</u> CCUGAUGGUCC CCUCCCCAGGGGCU <u>GGCU</u> UCCUCUGGUCCU <u>U</u> CCCCUCCCA	212
miR-185-2	AGGGAU <u>UGGAGAGAA</u> AGGCAGU <u>U</u> CCUGAUGGUCCCCUCCCCA GGGGCUGGCU <u>U</u> CCUCUGGUCCU	213
miR-186-1	UGC <u>U</u> GUAA <u>CU</u> UCCAAAGAA <u>U</u> UCUCCUUJUGGGCU <u>U</u> UCUGG UUUUUUUUAA <u>G</u> CCCCAAAGGUGAAUUUUUUJUGGGAAAGUUUGA GCU	214
miR-186-2	ACUU <u>U</u> CCAAAGAA <u>U</u> CUCCUUJUGGGCU <u>U</u> UCUGGUUUUUUU UAA <u>G</u> CCCCAAAGGUGAAUUUUUUJUGGGAAAGU	215

miR-187	GGUCCGGGCUCAACCAUGACACAGUGUGAGACUCGGGGCUACAAC ACAGGACCCGGGGCGUCUCUGACCCCUUGUGUCUUGUGUU <u>GCAGCCGGAGGGACGCAGGUCCGCA</u>	216
miR-188-1	UGCUCUCCUCUCACA <u>CAUCCCUUGCAUGGU</u> GGAGGCUAGCUU UCUGAAAACCCUCCCA <u>CAUGCAGGGUUUGCA</u> GGAU <u>GGCGAG</u> CC	217
miR-188-2	UCUCACA <u>UCCCUUGCAUGGU</u> GGAGGCUUUCUGAAAAC CCUCCCA <u>CAUGCAGGGUUUGCAGGA</u>	218
miR-189-1	CUGUCGAUU <u>GGACCCCGCCUCCGGU</u> GCCUACUGAGCU <u>GAU</u> AU <u>CAGUUCUCAUUUACA</u> CA <u>CUGGCCUCAGUUCA</u> GCA <u>GGAA</u> CAGG AGUCGAGCCCUUGAGCAA	219
miR-189-2	CUCCGGU <u>GCCUACUGAGCUGAU</u> AUCAGU <u>UCUCAUUU</u> UACACA CUGGCUCAGU <u>UCAGCAGGA</u> A <u>CAGGAG</u>	220
miR-190-1	UGCAGGCCUCUGUG <u>UAUAGUUUGAU</u> AU <u>UAGGU</u> JGUUAUUAAUCCA UUAAUCCAACUAUAUAUCAAA <u>CAUAUUCCU</u> ACAGUGUCUUGC C	221
miR-190-2	CUGUGUAUAUGUUUGAUUAUAUAGGUJGUUAUUAAUCCA ACUAUAUAUCAAA <u>CAUAUUCCU</u> ACAG	222
miR-191-1	CGGCUGGACAGGGGGCA <u>ACGGAAUCCCA</u> AAAGCAGCU <u>GUUGU</u> CUCCAGAGCA <u>UUCCAGCUGCGCU</u> UGGAU <u>UUCCGU</u> CCCCCGCUC UCCUGCCU	223
miR-191-2	AGCGGGCA <u>ACGGAAUCCCA</u> AAAGCAGCU <u>GUUGU</u> CUCCAGAGC AUCCAGCUGCGCUUGGAU <u>UUCCGU</u> CCCCCGCUC	224

miR-192-2/3	CCGAGACCGAGUGGCACAGGGCCUCUGACCUCUAGAAUUGACAGC CAGUGCUCUGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUUCUAGGUCAC AGGUAGUUJCGCCUCA AUGCCAG	225
miR-192	GCCGAGACCGAGUGGCACAGGGCCUCUGACCUCUAGAAUUGACAG CCAGUGCUCUGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUUCUAGGUC CAGGUAGUUJCGCCUCA AUGCCAGC	226
miR-193-1	CGAGAUUGGAGGCGUGAGGGCUGGGUCUUGGGGGGAGGAUGA GGGUGCGGAUCAACUGGCCUACAAGUCCCAUUCUCGGCC CCC	227
miR-193-2	GUCGGUCUUGCGGGGAGGAUGAGGGUGUCGGAUCAACUGG CCUACAAGUCCAGU	228
miR-194-1	AUGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCCAUUGGACUGUGU ACCAUJUCCAGUGGAGAUUCUGUACUJUUGAUUGGUUACCA A	229
miR-194-2	GUGUAAACAGCAACUCCAUUGGACUGUGUACCAAUJUCCAGU GGAGAUJCGUUAUCUUUGAU	230
miR-195-1	AGCUUCCUJGGCUCUAGCAGCACAGAAAUUJGGCACAGGGA AGCGAGUCUGCCAAUUAUUGGCUJGUJGUCCAGCCAGGGUG GUG	231
miR-195-2	UAGCAGCACAGAAAUUJGGCACAGGGAAGCGAGUCUGCCAA UAUUGGCUJGUJGU	232



<i>miR-196-1</i>	<u>CUAGGCUUGAAUUGGAAACUCGUCGAGUGAAUUAGGUAGUUUC</u> <u>AUGUUGUUGGGCCUGGGUUCUGAACACACAACAUAACC</u> <u>ACCGAUUCACGGCAGUUAUCUGCUCC</u>	233
<i>miR-196a-1</i>	<u>GUGAAUUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUCUGAA</u> <u>CACAACAACAUAACAACCCCGAUUCAC</u>	234
<i>miR-196a-2 (miR-196-2)</i>	<u>UGCUCGUCACGUGAUCUGUGGCUUAGGUAGUJUCAUGUUGU</u> <u>UGGGAUUGAGUUUGAACUCGGCAACAAGAAACUGCCUGAGU</u> <u>UACAUCAGUCGGUJUCGUCGAGGGC</u>	235
<i>miR-196</i>	<u>GUGAAUUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUCUGAA</u> <u>CACAACAACAUAACAACCCCGAUUCAC</u>	236
<i>miR-196b</i>	<u>ACUGGUCGGUGAUUUAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGAUCCAC</u> <u>CUUUCUCGACAGCACGACACUGCCUUCAUUACUUCAGUUG</u>	237
<i>miR-197</i>	<u>GGCUGUCCCGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAAGAGCUCUU</u> <u>CACCCUUCACCAUUCUCCACCCAGCAUGGGCC</u>	238
<i>miR-197-2</i>	<u>GUGCAUGUGUAUGUUGUGCAUGUGCAUGUGUAUGUGUA</u> <u>UGAGUGCAUGCGUGUGUGC</u>	239
<i>miR-198</i>	<u>UCAUJGGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUCCUGUGAUUUUUCCUU</u> <u>CUUCUCUAUAGAAUAAUGA</u>	240
<i>miR-199a-1</i>	<u>GCCAACCCAGUUGUUCAGACUACCUUGUUCAGGAGGCUCUCAU</u> <u>GUGUACAGUAGUCUGGCACAUUGGUUJAGGC</u>	241
<i>miR-199a-2</i>	<u>AGGAAUCUUCUGGAGAUCCUUCUCCUGCCGCCCCAGUGUUCAG</u> <u>ACUACCUUUCAGGACA AUGCCGUUGUACAGUAGUCUUCGACA</u> <u>UUGGUUAGACUGGGCAAGGGAGAGCA</u>	242

<i>miR-199b</i>	CCAGAGGACACCUCCACUCCGUCUACCCAGUGUJUUAAGACU <u>AU</u> CU <u>GUU</u> UCAGGACUCCCAAAUUGUAACA <u>GUAGUCUCCACAUUGGU</u> UAGGCUGGGCUGGGUUAAGACCCUCGG	243
<i>miR-199s</i>	GCCAAACCCAGUGUUCAGACUACCUUGUUCAGGAGGCUCUCAAU GUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAAGGC	244
<i>miR-200a</i>	GCCGUGGCCAUUCUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCAGGUC UCUAAUACUGCCUGGUAUUGAUGACGGC	245
<i>miR-200b</i>	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGGCAUCUACUGGGCAGCAUUGGA UGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAUUGAUGACGGCGG AGCCUCGCACG	246
<i>miR-200c</i>	CCUCGUCUUAACCCAGCAGUJUUGGGUGCCGUGGGAGUCU CUAAUACUGCCGGUAAUGAUGGAGG	247
<i>miR-202</i>	GUUCCUUUUCUUAUGCAUAUACUUCUUUGAGGAUCUGGCCU AAAGAGGUUAAGGGCAUGGGAGAUGGAGC	248
<i>miR-203</i>	GUGUUGGGACUCGCGCGGUCUCCAGUGGUUCUUAACA <u>GU</u> UCAACAGUUCUGUAGCGCAAUUUGUGAAUUGUUUA <u>GGACCACU</u> AGACCCGGCGGGCGCGGACAGCGA	249
<i>miR-204</i>	GGCUACAGUCUUCUUCUUGUGACUCGUGGACUJCCCUUUGU CAUCCU <u>UAGCCUGAGAAUAUUGAAGGAGGCUGGGAAAGGCAA</u> AGGGACGUUCAUUGUCAUCACUGGC	250
<i>miR-205</i>	AAAGAUCUCAGACA <u>AUCCAUGUCUUCUCUJUGCCUUCAUU</u> CCACCCGGAGUCUGUCUCAUACCCCAACCCAGAUUUCAGUGGAGU GAAGUUCAGGAGGC <u>AUGGAGCUGACA</u>	251

<i>mir-206-1</i>	UGC <u>UCCCGAGGCC</u> CAUGCUUCUUUAU <u>UCCCCAU</u> AUGGAU UACU <u>UUGCUAUGGAAUGUAAGGAAGGUAAGUGUGUGGU</u> UUCGGCAAG UG	252
<i>mir-206-2</i>	AGGCCAUGCUUCUUUAU <u>UCCCCAU</u> AUGGAU <u>UACU</u> UUGCU AUGGAU <u>UUAAGGAAGUGUGUGUUUU</u>	253
<i>mir-208</i>	UGACGGCGGAGCUUUUGGCCCGGGUU <u>AUACCU</u> GAUGCUCACG UAUAAGACGAGCAAAAGCUU <u>UUGGUCA</u>	254
<i>mir-210</i>	ACCGGCAGUGCCUCCAGGCGCAGGGCAGCC <u>CCUGCCCA</u> CCGC ACACUGCGCUGCCCCAGACCCAC <u>UGUGCGUGUGACA</u> GGCGCU GAUCUGCCUGGGCAGCGCGACCC	255
<i>mir-211</i>	UACCUGGCCAUUGAGACUUGUGGGCU <u>UCCCCU</u> UUGUCAUCCUU CGCCUAGGGCUCUGAGCAGGGCAGGGGACAGCAAAGGGGGUGCU CAGUUGUCACU <u>UCCACAGCA</u> CGGAG	256
<i>mir-212</i>	CGGGCACCCCGCCGGACAGCGCGCCGGCACCUUGGGCU <u>CUAG</u> ACUGCUA <u>CUGCCCGGGCCGCCUCAGUAACAGUCUCCAGUCA</u> CGGCCACCGACCGCCUGGCCCGCC	257
<i>mir-213-2</i>	CCUGGCAGAGAUUUUUUUAAAGGUCACA <u>AAACA</u> UUC AUUGCUUGCGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAAGCUCACUGAA CAAUGAAUGCAA <u>CUUGGGCCCGCUU</u>	258
<i>mir-213</i>	GAGUUUGAGGUUGCUUCAGUGAA <u>CAUCAA</u> CGCUGUGGGUG AGUUUGGAUUA <u>AAAUCAAACCAUCCGCGU</u> GAUUGUACC CUAUGGCUAACCAUCAUCUACUCC	259

<i>miR-214</i>	GGCCUGGCCGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUCUACAC UUGCUGUGCAGAACAUCCGCCUCA CCUGUACAGCAGGCACAGAG CAGGCAGUCACAUGACAA CCCAGCCU	260
<i>miR-275</i>	AUCAUUCAGAAAUGGUUAUACAGGAAA AUGACCUAUGAAUUGA <u>CAGACA</u> AUAUAGCUGAGUUUGUCUGUCAUUCUUUAGGCCAA UAUUCUGUAUGACUGUCUACUUCAA	261
<i>miR-216</i>	GAUGGCUGUGAGUUGGCUUA <u>AAUUCUCAGCUGGCAACUGUGAGA</u> UGUUCAUACAAUCCUCACAGUGGUCUCUGGGAUU AUGCUAA ACAGAGCAAUUUCCUAGCCCCUCACGA	262
<i>miR-217</i>	AGUAUAUUAUUA CAUAGUUUUUGAUGUCGCAGAU <u>ACUGCAU</u> <u>CAGGAACUGAUUGGAUA</u> AGAUAUCAGUCACCAUCAGUUCCUAA UGCAUUGCCUUCAGCAUCUAAACAAG	263
<i>miR-218-1</i>	GUGAUA AUGUAGCGAGAUUUUCUGUUGGCUUGAUUCUAA <u>ACCA</u> UGUGGUUGCGAGGU AUGAGUAAACA AUGGUUCCGUC AAGCAC CAUGGAACGUACGCAGCUUUCUACA	264
<i>miR-218-2</i>	GACCA GUCGCU GCGGGCUUCCUUGUGCUUGAU <u>CUAACCA</u> UGUGGUGGAACGAUGGAAACGGAAACAUGGUUCUGUCAAGCAC CGCGGAAAGCACCGUGCUCUCUGCA	265
<i>miR-219</i>	CCGCCCGGGCCGGCCUCCUGAUUGUCCAAACGGCAAU <u>UUCUCG</u> AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUC <u>CCCGAG</u> CCGCCGCCCCCAAACCUCCGAGCGGG	266

<i>miR-219-1</i>	<p>CCGCCCCGGCCGGGCUCCUGAUUGUCCAAACGCAAUUUCUG  AGUCUAUGGCUCGCGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCGCCGAG  CGCGCCCCCAACCUCGAGCGGG</p>	267
<i>miR-219-2</i>	<p>ACUCAGGGGCUUCGCCACUGAUUGUCCAAACGCAAUUUCUUGU  ACGAGUCUGCGGCCAACCGAGAUUGUGGCUUGGACAUUCUGUG  GCUGAGCUCCGGG</p>	268
<i>miR-220</i>	<p>GACAGUGGGCAUUGUAGGGGCUCCACACCGUAUCUGACACUU  UGGGCGAGGGCACCAUGCUGAAGGUUUAUGAUGCGGUCUG  GGAACUCCUCACGGAUUCUACUGAUG</p>	269
<i>miR-221</i>	<p>UGAACAUCCAGGUCUGGGGCAUGAACCCUGGCAUACAUGUAG  AUUCUGUGUJUCGUUAGGCAACAGCUACAUUGUCUGCUGGGU  UUCAGGCUACCUUGGAAACAUGUUCUC</p>	270
<i>miR-222</i>	<p>GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCAUUGGCUCAGUAGCCAG  UGUAGAUCUCUGUCUUCGUAAUCAGCAGCUACAUCUGGCUJAC  UGGGUCUCUGAUGGCAUCUUCUAGCU</p>	271
<i>miR-223</i>	<p>CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCCUCCGUGUAUUUGACAAAGCU  GAGUUGGACACUCCAUUGUGGUAAGUGUCAGUUGUCAAAUA  CCCCAAGUGCGGCACAUGCUUACCAG</p>	272
<i>miR-224</i>	<p>GGGCUUCAAGUCACUAGUGGUCGUCUUGUAGUAGAUUGU  GCAUUGUUUCAAAUUGGUGCCCUAGUGACUACAAGGCC</p>	273

<i>miR-294-1 (chr16)</i>	CAAUCUCCUUUAUCAUGGUUAUGAUUUUUCAGUGCUUCCCCU UUUGUGAGAGAAGAU	274
<i>miR-296</i>	AGGACCCUUCAGAGGGCCCCCUCUAUCCUUGUUGGCCUAA UUCAGAGGGUUGGUGGAGGCUCUCCUGAAGGGCUCU	275
<i>miR-299</i>	AAGAAAUGGUUUACCGUCCCCACAUAUUUUAUUAUGUAUG UGGGAUGGUAAACCGCUUCU	276
<i>miR-301</i>	ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUUAUUGCACUACUGUACUUU ACAGCUAGCAGUGCAAUAUAUUUGUCAAGCAUCUGAAAGCA GG	277
<i>miR-302a</i>	CCACCACUUAACGUGGAUGUACUUGCUUUGAAACUAAAGAA GUAAGUCUUCUCCAUUUUUGGUGAUGG	278
<i>miR-302b</i>	GCUCCCUUCAACUUUAACAUGGAAGUGCUUUUCUGACUUUA AAAGUAAGUCUUCCAUGUUUAUAUAGGAGU	279
<i>miR-302c</i>	CCUUUGCUUUAACAUGGGGUACCUUGCUUGUGAAACAAAAG UAAGUCUUCCAUGUUUCAGUGGAGG	280
<i>miR-302d</i>	CCUCUACUUUAACAUGGAGGCACUUGCUUGACAUAGACAAAA AUAAGUCUUCUCCAUUUUGAGUGUGG	281
<i>miR-320</i>	GCUUCGCUCCCCUCCGUUCUUCUCCCGGUUCUCCCCGGAGU CGGGAAGAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA AAAAGGAUGAGGU	282
<i>miR-321</i>	UUUGGCCUCCUAAAGCCAGGGAUUUGGGUUCGAGUCCACCCCG GGGUAAAGAAAGGCCGA	283

miR-323	UUGGUA CUUGGAGAGAGGUGGUGCGGUGGGCGGUUCGCUUUUAU UU AUGGGCGCA CAUUACA CCGGUCGACCUCUUGCAGUAUCUAA UC	284
miR-324	CUGACUAUGCCUCCCGCAUCC <u>CCUAGGGCAUUGGUGUA</u> AAG CUGGAGACCCACUGCCCCAGGUGCUGGGGGUUGUAGUC	285
miR-325	AUACAGUCUUGGUUCCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGUUUGU GACAU AUUUGUUUAUUGAGGACCUCUACAUAUCAAGCACU GUGCUA GGCUCUGG	286
miR-326	CUCAUCUCUGUUGGGCUGGAGGCAGGGCCUUUGUGAA GGC GGGUGGUCUCA GAUCGCCUCUGGGCCCUUCCUCCAGCCCCGA GGCGAUUCA	287
miR-328	UGGAGUGGGGGGCGAGGAGGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAUAC AGCCCCUGGGCCUCUCUGCCCCUCCGUGCCCCUG	288
miR-330	CUUUGGGGAUCAUCUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUUAAGGCUCU GCAA GAUCAACCGAGCAAAGCACACGGCCUUGCAGAGAGGCAG CGCUCUGCCC	289
miR-331	GAGUUUGGUUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGUUUGGUC <del>CC</del> CAGG GAUCCCGAUCAACCA GGGCCUUGGGCCU <u>AUCCUAGA</u> ACCAA CCUAAGCUC	290
miR-335	UGUUUUGAGCGGGGUCAGAGCAAUAACGAA <del>AA</del> AUGUUUGU CAUAAACCGUUUUUCAAUUUGCUC <u>CCUGACCUC</u> CCUCUCAUU GCUAUAUUCA	291

miR-337	GUA GUCAGUA GUUGGGGGUGGGAACGGCUUCAUACAGGAGU UGAUGCACAGUUAUCCAGCUCCUAUAUGAUGCCUUUCUUCAU CCCCUCAA	292
miR-338	UCUCCAACAUAUCCUGGUGUGAGUGAUCACAGGGGACU CCAGCAUCAUGAUUUUGUUGAAGA	293
miR-339	CGGGGGCCGCCUCUCCUUGUCCUCCAGGAGCUACGUGUGCC UGCCUGUGAGCGCCUCGACGACAGGCCGGCCUCCCCCAGU GUCUGCGC	294
miR-340	UUGUACCU GGUGUAUUAAGCAAUGAGACUGAUUGUCAU AUGUCGUUUGUGGGAUCCGUCUCAGUACUUAUAGCCAUAAC CUGGUAUCUUA	295
miR-342	GAAACUGGGCUCAAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUUGAGGG ACAUGGUUAUUGGAUUGUCUCACACAGAAUCCGCACCCGUC ACCUUGGCCUACUUA	296
miR-345	ACCCAAACCCUAGGUCUGCUGACUCCUAGUCCAGGGCUCGUG AUGGCUGUGGGCCUUGAACGAGGGGUCUGGAGGCCUUGGGUJ UGAAUAUCGACAGC	297
miR-346	GUCUGUCUGCCCCGAUGCCUCCUUCUGUJUGCUCUGAAGGA GGCAGGGGCUUGGGCCUGCAGCUGCCUUGGGCAGAGCGGGCUCU GC	298
miR-367	CCAUUACUGUUGCUAAUAUGCAAUCUCUGUUGAAUAAUUG GAAUUGCACUUUAGCAAUGGUGAUGG	299



<i>miR-368</i>	AAAAGGUGGAUAUCCUUCUAUGUUUAUGUUUAUUUAUGGUUA AACAUAGAGGAAAUJCCACGJUJU	300
<i>miR-369</i>	UUGAAGGGAGAUCCGACCGUGUUUAUUCGCUUUUAUUGACUUC GAUAUAACAUGGUUGAUCUUUUCUCAG	301
<i>miR-370</i>	AGACAGAGAAAGCCAGGUACGUCUCUGCAGUACACAGCUCA CGAGUGCCUCUGGGGUGGAACCCUGGUCUGUCU	302
<i>miR-371</i>	GUGGCACUCAACUCUGUGGGGCACTUUCUGCUCUCUGGUGAA AGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUAC	303
<i>miR-372</i>	GUGGGCCUCAAUUGUGGAGCACUAUUCUGAUGUCCAAGUGGA AAGUCUGCGACAUUUGAGCGUCAC	304
<i>miR-373</i>	GGGAUACUCAAAUUGGGGCGCUUCCUUUUUGUCUGUACUG GGAAGUCUUCG AUUUUGGGGUGUCCC	305
<i>miR-374</i>	UACAUCGGCCAUUAUAUAACAACCUGAUAAAGUGUUUAUAGCAC UUAUCAGAUUGUAUUGUAUUGUCUGUGUA	306
<i>miR-hes1</i>	AUGGAGCUCUACCCUGUGGGCCUCAAUUGUGGAGGAACUA UUUCUGAUGUCCAAAGUGGAAAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCA CCGGUGACGCCCCAUUCA	307
<i>miR-hes2</i>	GCAUCCCCUCAGCCUGUGGCACUCAACUCUGGGGGCACUUU CUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCCGCCAUUUUUGAGUGUUACCG CUUGAGAAGACUCAACC	308

<p><i>miR-hes3</i></p>	<p>CGAGGAGCUCAUACUGGGGAUACUCAAAUUGGGGGCGCUUUCU                  UUUUUGUCUGUUACUGGGGAAGUGCUUCGAUUUUGGGGGUGUCC                  CUGUUUGAGUAGGGCAUC</p>	<p>309</p>
<p>* Una secuencia subrayada dentro de una secuencia precursora corresponde a un transcrito de miR procesado maduro (véase Tabla 1b).                  Algunas secuencias precursoras tienen dos secuencias subrayadas que indican dos miR maduros diferentes que derivan del mismo precursor. Todas las secuencias son humanas</p>		

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>	ugagguaguagguuguauagu	310	<i>let-7a-1; let-7a-2; let-7a-3; let-7a-4</i>
<i>let-7b</i>	ugagguaguagguuguguguu	311	<i>let-7b</i>
<i>let-7c</i>	ugagguaguagguuguagguu	312	<i>let-7c</i>
<i>let-7d</i>	agagguaguagguugcauagu	313	<i>let-7d; let-7d-v1</i>
<i>let-7e</i>	ugagguagggguuguauagu	314	<i>let-7e</i>
<i>let-7f</i>	ugagguaguagauuguauagu	315	<i>let-7f-1; let-7f-2-1; let-7f-2-2</i>
<i>let-7g</i>	ugagguaguaguuuugacagu	316	<i>let-7g</i>
<i>let-7i</i>	ugagguaguaguuuugucu	317	<i>let-7i</i>
<i>miR-1</i>	uggaauuguaaagaaguaua	318	<i>miR-1b; miR-1b-1; miR-1b-2</i>
<i>miR-7</i>	uggaagacuagugauuuugu	319	<i>miR-7-1; miR-7-1a; miR-7-2; miR-7-3</i>
<i>miR-9</i>	ucuuugguuauacuagcuga	320	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-9*</i>	uaaagcuagauaaccgaaagu	321	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-10a</i>	uaccuguagaaccgaaauug	322	<i>miR-10a</i>
<i>miR-10b</i>	uaccuguagaaccgaaauug	323	<i>miR-10b</i>
<i>miR-15a</i>	uagcagcacauaauuguuug	324	<i>miR-15a; miR-15a-2</i>
<i>miR-15b</i>	uagcagcacaucauuguuuaca	325	<i>miR-15b</i>
<i>miR-16</i>	uagcagcacuaaaauauugcg	326	<i>miR-16-1; miR-16-2; miR-16-13</i>
<i>miR-17-5p</i>	caaagugcuuacagugcaggu	327	<i>miR-17</i>
<i>miR-17-3p</i>	acugcagugaaggcacuugu	328	<i>miR-17</i>
<i>miR-18</i>	uaagugcaucuagugcagaua	329	<i>miR-18; miR-18-13</i>
<i>miR-19a</i>	ugugcaaaucuaugcaaacuga	330	<i>miR-19a; miR-19a-13</i>
<i>miR-19b</i>	ugugcaaaucuaugcaaacuga	331	<i>miR-19b-1; miR-19b-2</i>
<i>miR-20</i>	uaaagugcuuauagugcaggua	332	<i>miR-20 (miR-20a)</i>
<i>miR-21</i>	uagcuuauacagacugaugu	333	<i>miR-21; miR-21-17</i>
<i>miR-22</i>	aagcugccaguugaagaacug	334	<i>miR-22</i>
<i>miR-23a</i>	aucacauugccagggauuucc	335	<i>miR-23a</i>
<i>miR-23b</i>	aucacauugccagggauuacc	336	<i>miR-23b</i>
<i>miR-24</i>	uggcucaguucagcaggaacag	337	<i>miR-24-1; miR-24-2; miR-24-19; miR-24-9</i>
<i>miR-25</i>	cauugcacuugucucggucuga	338	<i>miR-25</i>
<i>miR-26a</i>	uucaaguaauccaggauaggu	339	<i>miR-26a; miR-26a-1; miR-26a-2</i>
<i>miR-26b</i>	uucaaguaauccaggauaggu	340	<i>miR-26b</i>
<i>miR-27a</i>	uucacaguggcuuaguuuccg	341	<i>miR-27a</i>
<i>miR-27b</i>	uucacaguggcuuaguuuccg	342	<i>miR-27b-1; miR-27b-2</i>
<i>miR-28</i>	aaggagcucacagucuuuagag	343	<i>miR-28</i>
<i>miR-29a</i>	cuagcaccuucgaaucgguuu	344	<i>miR-29a-2; miR-29a</i>
<i>miR-29b</i>	uagcaccuuuugaaucaguu	345	<i>miR-29b-1; miR-29b-2</i>
<i>miR-29c</i>	uagcaccuuuugaaucgguuu	346	<i>miR-29c</i>
<i>miR-30a-5p</i>	uguuaaacaucucgacuggaag	347	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30a-3p</i>	cuuucagucggauguuugcag	348	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30b</i>	uguuaaacaucucacucagc	349	<i>miR-30b-1; miR-30b-2</i>
<i>miR-30c</i>	uguuaaacaucucacucagc	350	<i>miR-30c</i>
<i>miR-30d</i>	uguuaaacaucucgacuggaag	351	<i>miR-30d</i>
<i>miR-30e</i>	uguuaaacaucucgacugga	352	<i>miR-30e</i>
<i>miR-31</i>	ggcaagaugcuggcauagcug	353	<i>miR-31</i>
<i>miR-32</i>	uauugcacuuacuaguuugc	354	<i>miR-32</i>
<i>miR-33</i>	gugcauuaguugcauuug	355	<i>miR-33; miR-33b</i>
<i>miR-34a</i>	uggcagugucuagcugguuug	356	<i>miR-34a</i>
<i>miR-34b</i>	aggcagugucuagcugguuug	357	<i>miR-34b</i>
<i>miR-34c</i>	aggcagugucuagcugguuug	358	<i>miR-34c</i>
<i>miR-92</i>	uauugcacuuuguccggccugu	359	<i>miR-92-2; miR-92-1</i>
<i>miR-93</i>	aaagugcugucgucagguag	360	<i>miR-93-1; miR-93-2</i>
<i>miR-95</i>	uucacggguuuuuuugagca	361	<i>miR-95</i>
<i>miR-96</i>	uuugccacuagcacuuuuugc	362	<i>miR-96</i>
<i>miR-98</i>	ugagguaguaguuguauuuuu	363	<i>miR-98</i>
<i>miR-99a</i>	aaccguagaucggauuuug	364	<i>miR-99a</i>
<i>miR-99b</i>	caccguagaaccgacuuugc	365	<i>miR-99b</i>
<i>miR-100</i>	uacaguacuguaaacugaag	366	<i>miR-100</i>
<i>miR-101</i>	uacaguacuguaaacugaag	367	<i>miR-101-1; miR-101-2</i>

<i>miR-103</i>	agcagcauuguacagggcuaua	368	<i>miR-103-1</i>
<i>miR-105</i>	ucaaauugcucagacuccugu	369	<i>miR-105</i>
<i>miR-106-a</i>	aaaagugcuuacagugcagguagc	370	<i>miR-106-a</i>
<i>miR-106-b</i>	uaaagugcugacagugcagau	371	<i>miR-106-b</i>
<i>miR-107</i>	agcagcauuguacagggcuaua	372	<i>miR-107</i>
<i>miR-122a</i>	uggagugugacaaugguguuugu	373	<i>miR-122a-1; miR-122a-2</i>
<i>miR-124a</i>	uuaaggcacgugugaaugcca	374	<i>miR-124a-1; miR-124a-2; miR-124a-3</i>
<i>miR-125a</i>	ucccugagaccuuuaaccugug	375	<i>miR-125a-1; miR-125a-2</i>
<i>miR-125b</i>	ucccugagaccuuaacuuguga	376	<i>miR-125b-1; miR-125b-2</i>
<i>miR-126*</i>	cauuauuacuuuugguacgcg	377	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-126</i>	ucguaccgugaguaauaauugc	378	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-127</i>	ucggaucgugcugagcuuggcu	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>	cuuuuugcggucugggcuugc	382	<i>miR-129-1; miR-129-2</i>
<i>miR-130a</i>	cagugcaauuguuaaaagggc	383	<i>miR-130a</i>
<i>miR-130b</i>	cagugcaauugaugaaaggcga	384	<i>miR-130b</i>
<i>miR-132</i>	uaacagucuaacagcauggucg	385	<i>miR-132-1</i>
<i>miR-133a</i>	uuggucccuuuaaccagcugu	386	<i>miR-133a-1; miR-133a-2</i>
<i>miR-133b</i>	uuggucccuuuaaccagcua	387	<i>miR-133b</i>
<i>miR-134</i>	ugugacugguugaccagaggg	388	<i>miR-134-1; miR-134-2</i>
<i>miR-135a</i>	uauggcuuuuauuccuauuguga	389	<i>miR-135a; miR-135a-2 (miR-135-2)</i>
<i>miR-135b</i>	uauggcuuuucuuuccuauugug	390	<i>miR-135b</i>
<i>miR-136</i>	acuccauuuguuuugaugaugga	391	<i>miR-136-1; miR-136-2</i>
<i>miR-137</i>	uaugcuuaagaauacgcguag	392	<i>miR-137</i>
<i>miR-138</i>	agcugguguuugugaauc	393	<i>miR-138-1; miR-138-2</i>
<i>miR-139</i>	ucuacagugcagcuguguc	394	<i>miR-139</i>
<i>miR-140</i>	agugguuuuaccuauugguag	395	<i>miR-140; miR-140as; miR-140s</i>
<i>miR-141</i>	aacacugucugguaaagaugg	396	<i>miR-141-1; miR-141-2</i>
<i>miR-142-3p</i>	uguaguuuuuccuacuuuugga	397	<i>miR-142</i>
<i>miR-142-5p</i>	cauaaaguagaagcacuac	398	<i>miR-142</i>
<i>miR-143</i>	ugagaugaagcacugugcuca	399	<i>miR-143-1</i>
<i>miR-144</i>	uacagauauagauauguacuag	400	<i>miR-144-1; miR-144-2</i>
<i>miR-145</i>	guccaguuuucccaggaaucccuu	401	<i>miR-145-1; miR-145-2</i>
<i>miR-146</i>	ugagaacugaaauccauggguu	402	<i>miR-146-1; miR-146-2</i>
<i>miR-147</i>	guguguggaaugcuucugc	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>	ucuggcucgugucucacucc	406	<i>miR-149</i>
<i>miR-150</i>	ucucccaaccuuuguaaccagug	407	<i>miR-150-1; miR-150-2</i>
<i>miR-151</i>	acuagacugaagcuccuugagg	408	<i>miR-151</i>
<i>miR-152</i>	ucagugcaugacagaacuugg	409	<i>miR-152-1; miR-152-2</i>
<i>miR-153</i>	uugcauagucacaaaaguga	410	<i>miR-153-1-1; miR-153-1-2; miR-153-2-1; miR-153-2-2</i>
<i>miR-154</i>	uagguuauccgugugccuucg	411	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-154*</i>	aaucuaacacggugaccuauu	412	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-155</i>	uuauugcuauucgugauagggg	413	<i>miR-155</i>
<i>miR-181a</i>	aacauucaacgcugucggugagu	414	<i>miR-181a</i>
<i>miR-181b</i>	aacauucauugcugucggugguu	415	<i>miR-181b-1; miR-181b-2</i>
<i>miR-181c</i>	aacauucaaccugucggugagu	416	<i>miR-181c</i>
<i>miR-182</i>	uuuggcaauugguagaacucaca	417	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-182*</i>	ugguucuagacuugccaacua	418	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-183</i>	uauggcacugguagaauucacug	419	<i>miR-183</i>
<i>miR-184</i>	uggacggagaacugauaagggg	420	<i>miR-184-1; miR-184-2</i>
<i>miR-185</i>	uggagagaaaggcaguuc	421	<i>miR-185-1; miR-185-2</i>
<i>miR-186</i>	caaagaauucuccuuuugggcuu	422	<i>miR-186-1; miR-186-2</i>
<i>miR-187</i>	ucgugucuuugugucagccg	423	<i>miR-187</i>
<i>miR-188</i>	caucccuugcauggugagggu	424	<i>miR-188</i>
<i>miR-189</i>	gugccuacugagcugauaucagu	425	<i>miR-189-1; miR-189-2</i>
<i>miR-190</i>	ugauauguuugauauauaggu	426	<i>miR-190-1; miR-190-2</i>
<i>miR-191</i>	caacggaaucccaaaagcagcu	427	<i>miR-191-1; miR-191-2</i>

<i>miR-192</i>	cugaccuauagaauugacagcc	428	<i>miR-192</i>
<i>miR-193</i>	aacuggccuacaaagucccag	429	<i>miR-193-1; miR-193-2</i>
<i>miR-194</i>	uguaacagcaacuccaugugga	430	<i>miR-194-1; miR-194-2</i>
<i>miR-195</i>	uagcagcacagaaaauuuggc	431	<i>miR-195-1; miR-195-2</i>
<i>miR-196a</i>	uagguaguuucauguuguugg	432	<i>miR-196a; miR-196a-2 (miR196-2)</i>
<i>miR-196b</i>	uagguaguuuuccuguugg	433	<i>miR-196b</i>
<i>miR-197</i>	uuccaccacuuccaccaccagc	434	<i>miR-197</i>
<i>miR-198</i>	gguccagaggggagauagg	435	<i>miR-198</i>
<i>miR-199a</i>	cccaguguucagacuaccguuuc	436	<i>miR-199a-1; miR-199a-2</i>
<i>miR-199a*</i>	uacaguagucugcacaaugguu	437	<i>miR-199a-1; miR-199a-2; miR-199s; miR-199b</i>
<i>miR-199b</i>	cccaguguuuagacuauucguuuc	438	<i>miR-199b</i>
<i>miR-200a</i>	uaacacugucugguaacgaugu	439	<i>miR-200a</i>
<i>miR-200b</i>	cucuauuacugccugguaauaug	440	<i>miR-200b</i>
<i>miR-200c</i>	aaucacugccgggaaugaugga	441	<i>miR-200c</i>
<i>miR-202</i>	agagguauagggcaugggaaga	442	<i>miR-202</i>
<i>miR-203</i>	gugaaauguuuaggaccacuag	443	<i>miR-203</i>
<i>miR-204</i>	uucccuuugucauccuauugccu	444	<i>miR-204</i>
<i>miR-205</i>	uccuucacuuccaccggagucug	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>	augaccuauagaauugacagac	453	<i>miR-215</i>
<i>miR-216</i>	uaaucucagcuggcaacugug	454	<i>miR-216</i>
<i>miR-217</i>	uacugcaucaggaacugauuggau	455	<i>miR-217</i>
<i>miR-218</i>	uugugcuugaucuaaccaugu	456	<i>miR-218-1; miR-218-2</i>
<i>miR-219</i>	ugauuguccaaacgcauuucu	457	<i>miR-219; miR-219-1; miR-219-2</i>
<i>miR-220</i>	ccacaccguauucugacacuuu	458	<i>miR-220</i>
<i>miR-221</i>	agcuacauugucugcuggguuuc	459	<i>miR-221</i>
<i>miR-222</i>	agcuacauucuggcuacugggucuc	460	<i>miR-222</i>
<i>miR-223</i>	ugucaguuuugucaaaaccucc	461	<i>miR-223</i>
<i>miR-224</i>	caagucacuauggguuuccguua	462	<i>miR-224</i>
<i>miR-296</i>	agggccccccucaauccgu	463	<i>miR-296</i>
<i>miR-299</i>	ugguuuaccguccacauacau	464	<i>miR-299</i>
<i>miR-301</i>	cagugcaauaguauugucaaaagc	465	<i>miR-301</i>
<i>miR-302a</i>	uaagugcuuccauguuuugguga	466	<i>miR-302a</i>
<i>miR-302b*</i>	acuuuaacauggaagugcuuucu	467	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302b</i>	uaagugcuuccauguuuuaguag	468	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302c*</i>	uuuaacauggggguaccugcug	469	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302c</i>	uaagugcuuccauguuucagugg	470	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302d</i>	uaagugcuuccauguuugagugu	471	<i>miR-302d</i>
<i>miR-320</i>	aaaagcuggguugagagggcgaa	472	<i>miR-320</i>
<i>miR-321</i>	uaagccagggaauugugguuc	473	<i>miR-321</i>
<i>miR-323</i>	gcacauuacacggcugcaccucu	474	<i>miR-323</i>
<i>miR-324-5p</i>	cgcaucccuagggaucuuuggugu	475	<i>miR-324</i>
<i>miR-324-3p</i>	ccacugccccaggugcugcugg	476	<i>miR-324</i>
<i>miR-325</i>	ccuaguagguguccaguaagu	477	<i>miR-325</i>
<i>miR-326</i>	ccucugggcccuccuccag	478	<i>miR-326</i>
<i>miR-328</i>	cuggccccucugcccuuccgu	479	<i>miR-328</i>
<i>miR-330</i>	gcaagcacacggccugcagaga	480	<i>miR-330</i>
<i>miR-331</i>	gccccugggcuauuccuagaa	481	<i>miR-331</i>
<i>miR-335</i>	ucaagagcaauaacgaaaaaugu	482	<i>miR-335</i>
<i>miR-337</i>	uccagcuccuauauaugccuuu	483	<i>miR-337</i>
<i>miR-338</i>	uccagcaucagugauuuuguuga	484	<i>miR-338</i>
<i>miR-339</i>	ucccuguccuccaggagcuca	485	<i>miR-339</i>
<i>miR-340</i>	uccgucucaguuacuuuauagcc	486	<i>miR-340</i>
<i>miR-342</i>	ucucacacagaaaucgaccccguc	487	<i>miR-342</i>

<i>miR-345</i>	ugcugacuccuaguccagggc	488	<i>miR-345</i>
<i>miR-346</i>	ugucugcccgaugccugccucu	489	<i>miR-346</i>
<i>miR-367</i>	aaugcacuuuagcaagguga	490	<i>miR-367</i>
<i>miR-368</i>	acauagaggaaauuccacguuu	491	<i>miR-368</i>
<i>miR-369</i>	aaauaacaugguugaucuuu	492	<i>miR-369</i>
<i>miR-370</i>	gccugcugggguggaaccugg	493	<i>miR-370</i>
<i>miR-371</i>	gugcgcgcaucuuugagugu	494	<i>miR-371</i>
<i>miR-372</i>	aaagugcugcgacauugagcgu	495	<i>miR-372</i>
<i>miR-373*</i>	acucaaaauuggggcgcuuucc	496	<i>miR-373</i>
<i>miR-373</i>	gaagugcuucgauuuuggggugu	497	<i>miR-373</i>
<i>miR-374</i>	uuauaauacaaccugauaagug	498	<i>miR-374</i>

5 La presente divulgación abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene, o está en riesgo de desarrollar un cáncer sólido, que comprenden medir el nivel de al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo del sujeto y comparar el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo con el nivel un 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.

10 En una realización, 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. En una realización particular, el producto génico de miR es miR-21, miR-191 o miR-17-5p. En otra realización, el producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1. En una realización adicional, el producto génico de miR no es miR 159-1 o miR-192. En una realización adicional, el producto génico de miR no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. En una realización más, el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. En otra realización, 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. En otra realización más, 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.

25 El cáncer sólido puede ser cualquier cáncer que surja de órganos y tejidos sólidos. Dichos cánceres se asocian normalmente con la formación y/o presencia de masas tumorales y pueden ser carcinomas, sarcomas y linfomas. Los ejemplos específicos de cánceres sólidos a diagnosticar por los métodos 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. En realizaciones particulares, el cáncer sólido no es uno o más de  
30 cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático o cáncer gastrointestinal.

En una realización, 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.

40 En una realización más, 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.

45 En una realización determinada, 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. En una realización relacionada, 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. En una realización relacionada, el cáncer sólido es cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1. En una realización más, el cáncer sólido es cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR no es 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. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de mama y el producto génico de miR no es 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. En otra realización  
5 más, el cáncer sólido es cáncer de mama y el producto génico de miR no es miR-159-1 o miR-192. En una realización adicional, El cáncer sólido es cáncer de mama y el producto génico de miR no es no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. En una  
10 realización más, el cáncer sólido es cáncer de mama y el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de mama y 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. En otra realización más, el cáncer sólido es cáncer de mama y el producto génico de miR no es 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 otra realización, el cáncer sólido es cáncer de colon y el al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-24-1, miR-29b-2, miR-20a, miR-10a, miR-32, miR-203, miR-106a, miR-17-Sp, 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. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de colon y el producto génico de miR no es miR-159-1 o miR-192. En una realización adicional, el cáncer sólido es cáncer de colon y el producto génico de miR no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. En una realización más, el cáncer sólido es cáncer de colon y el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de colon y 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. En otra realización más, el cáncer sólido es cáncer de colon y el producto génico de miR no es 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 otra realización más, 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-Sp, 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. En una realización relacionada, el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1. En una realización más, el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR no es 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. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR no es 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. En una realización más, el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el producto génico de miR no es 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. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el producto génico de miR no es miR-159-1 o miR-192. En una realización adicional, el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el producto génico de miR no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. En una realización más, el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de pulmón y 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. En otra realización más, el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el producto génico de miR no es 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 más, 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. En una realización relacionada, el cáncer sólido es cáncer pancreático y el producto génico de miR en la muestra de ensayo 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-29b-2, miR-29a, miR-25, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-92-2, miR-199a-1, miR-223, miR-29c, miR-30b, miR-129-1/2, miR-197, miR-17-Sp, 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. En una realización, 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 es cáncer pancreático y el producto génico de miR no es miR-159-1 o miR-192. En una realización adicional, el cáncer sólido es cáncer pancreático y el producto génico de miR no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. En una realización más, el cáncer sólido es cáncer pancreático y el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer pancreático y 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. En otra realización más, el cáncer sólido es cáncer pancreático y el producto génico de miR no es 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 otra realización, 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-Sp, 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-27a, miR-24-1, miR-106a, miR-199a-1 y combinaciones de los mismos. En una realización relacionada, el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR no es miR-159-1 o miR-192. En una realización adicional, el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1, o miR-175. En una realización más, el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215, o miR-32. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de próstata y 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. En otra realización más, el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR no es 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 otra realización más, 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. En una realización relacionada, el cáncer sólido es cáncer de estómago y el producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de estómago y el producto génico de miR no es miR-159-1 o miR-192. En una realización adicional, el cáncer sólido es cáncer de estómago y el producto génico de miR no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. En una realización más, el cáncer sólido es cáncer de estómago y el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. En otra realización, el cáncer sólido es cáncer de estómago y 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. En otra realización más, el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR no es 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, una muestra tisular (por ejemplo, de un tumor) de un sujeto que se sospecha que tiene un cáncer sólido por técnicas de biopsia convencionales. En otra realización, puede retirarse una muestra sanguínea del sujeto, y pueden aislarse células sanguíneas (por ejemplo, glóbulos blancos) para extracción de ADN por técnicas convencionales. La muestra de sangre o tejido se obtiene preferentemente del sujeto antes del inicio de la radioterapia, quimioterapia u otro tratamiento terapéutico. Puede obtenerse una muestra de tejido o sangre de control correspondiente de tejidos no afectados del sujeto, de un individuo humano normal o población de individuos normales, o de células cultivadas correspondientes a la mayoría de las células en la muestra del sujeto. La muestra de tejido o sangre de control se procesa después junto con la muestra del sujeto, de modo que los niveles de producto génico de miR producido a partir de un gen de miR dado en células de la muestra del sujeto puede compararse con los niveles de producto génico de miR correspondientes de células de la muestra de control. Puede usarse también un patrón de expresión de miR de referencia para la muestra biológica como un control.



Una alteración (por ejemplo, un aumento o reducción) del nivel de un producto génico de miR en la muestra obtenida del sujeto, en relación con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de la presencia de un cáncer sólido en el sujeto. En una realización, el nivel del al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo es 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. En otra realización, el nivel del al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo es 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). En una realización particular, el nivel de al menos un producto génico de miR se detecta usando análisis de transferencia de Northern. Por ejemplo, puede purificarse ARN celular total de células por homogeneización en presencia de tampón de extracción de ácidos nucleicos, seguido de centrifugación. Los ácidos nucleicos se precipitan, y el ADN se retira por tratamiento con DNasa y precipitación. Las moléculas de ARN se separan después por electroforesis en gel en geles de agarosa de acuerdo con técnicas convencionales, y se transfieren a filtros de nitrocelulosa. Después se inmoviliza el ARN en los filtros por calentamiento. Se consigue detección y cuantificación de ARN específico usando sondas de ADN o ARN marcadas de forma apropiada complementarias del ARN en cuestión. Véase, por ejemplo, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook *et al.*, eds., 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Capítulo 7.

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

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

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

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.

Además de Northern y otras técnicas de hibridación de ARN, la determinación de los niveles de transcritos de ARN puede conseguirse usando la técnica de hibridación *in situ*. Esta técnica requiere menos células que la técnica de transferencia de Northern, e implica depositar células completas en un cubreobjetos de microscopio y explorar el

- contenido de ácido nucleico de la célula con una solución que contenga sondas de ácido nucleico radiactivas o marcadas de otro modo (por ejemplo, ADNc o ARN). Esta técnica es particularmente adecuada para analizar muestras de biopsia tisular de sujetos. La práctica de la técnica de hibridación *in situ* se describe en más detalle en la Patente de Estados Unidos N° 5.427.916. Pueden producirse sondas adecuadas para hibridación *in situ* de un producto génico de miR dado a partir de las secuencias de ácido nucleico proporcionadas en la Tabla 1a y Tabla 1b, e incluyen, pero sin limitación, sondas que tienen complementariedad de al menos aproximadamente 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o completa con un producto génico de miR de interés, como se ha descrito anteriormente.
- 5 El número relativo de transcritos génicos de miR en células también puede determinarse por transcripción inversa de transcritos génicos de miR, seguido de amplificación de los transcritos de transcripción inversa por reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). Los niveles de los transcritos génicos de miR pueden cuantificarse en comparación con un patrón interno, por ejemplo, el nivel de ARNm de un gen “constitutivo” presente en la misma muestra. Un gen “constitutivo” adecuado para su uso como un patrón interno incluye, por ejemplo, miosina y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH). Se conocen bien por los expertos en la materia métodos para realizar RT-PCR cuantitativa y semicuantitativa, y variaciones de la misma.
- 10 En algunos casos, puede ser deseable determinar simultáneamente el nivel de expresión de una pluralidad de productos génicos de miR diferentes en una muestra. En otros casos, puede ser deseable determinar el nivel de expresión de los transcritos de todos los genes de miR conocidos correlacionados con cáncer. La evaluación de los niveles de expresión específicos de cáncer para cientos de genes o productos génicos de miR consume tiempo y requiere una gran cantidad de ARN total (por ejemplo, al menos 20 µg para cada transferencia de Northern) y técnicas autorradiográficas que requieren isótopos radiactivos.
- 15 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 transcrito inverso del producto génico de miR específico.
- 25 Un “perfil de expresión” o “perfil de hibridación” de una muestra particular es esencialmente una identificación del estado de la muestra; aunque dos estados pueden tener cualquier gen particular expresado de forma similar, la evaluación de varios genes permite simultáneamente la generación de un perfil de expresión génica que es único para el estado de la célula. Es decir, el tejido normal puede distinguirse del tejido canceroso (por ejemplo, tumoral), y dentro del tejido canceroso, pueden determinarse diferentes estados de pronóstico (por ejemplo, buenas o malas perspectivas de supervivencia a largo plazo). Comparando los perfiles de expresión de tejido de cáncer sólido en diferentes estados, se obtiene información con respecto a qué genes son importantes (incluyendo regulación tanto positiva como negativa de los genes) en cada uno de estos estados. La identificación de secuencias que se expresan diferencialmente en tejido de cáncer sólido, así como la expresión diferencial que da como resultado diferentes resultados de pronóstico, permiten el uso de esta información de varias maneras. Por ejemplo, puede evaluarse un régimen de tratamiento particular (por ejemplo, para determinar si un fármaco quimioterapéutico actúa para mejorar el pronóstico a largo plazo en un paciente particular). De forma similar, el diagnóstico puede realizarse o confirmarse comparando muestras de pacientes con perfiles de expresión conocidos. Además, estos perfiles de expresión génica (o genes individuales) permiten la exploración de candidatos farmacológicos que suprimen el perfil de expresión de cáncer sólido o convierten un perfil de pronóstico malo en un perfil de pronóstico mejor.
- 30 En consecuencia, la divulgación proporciona métodos para diagnosticar si un sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar un cáncer sólido, que comprenden transcribir de forma inversa ARN de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar un conjunto de oligodesoxinucleótidos diana, hibridar 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 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 miARN es indicativa de que el sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar un cáncer sólido. En una realización, la micromatriz comprende 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 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 40 45 50 55 60 65

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 microplaca, proporcionando un control positivo interno, relativamente estable, para hibridación específica. También pueden incluirse en la microplaca uno o más controles apropiados para hibridación no específica. Para este fin, las secuencias se seleccionan basándose en la ausencia de cualquier homología con cualquier miARN conocido.

La 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 micromatriz disponibles en el mercado, por ejemplo, el Microarrayer GeneMachine OmniGrid™ 100 y portaobjetos activados Amersham CodeLink™. El oligómero de ADNc marcado correspondiente a los ARN diana se prepara por transcripción inversa del ARN diana con cebador marcado. Después de la síntesis de primera cadena, los híbridos de ARN/ADN se desnaturalizan para degradar los moldes de ARN. Los ADNc diana marcados preparados de este modo se hibridan después con la microplaca de 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 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. De acuerdo con una realización, el oligómero de ADNc marcado es 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 contienen biotina usando, por ejemplo, conjugado de estreptavidina-Alexa 647, y se explora utilizando métodos de exploración convencionales. Las intensidades de la imagen de cada punto en la serie son proporcionales a la abundancia del miR correspondiente en la muestra del paciente.

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

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

De acuerdo con los métodos de realizaciones de perfiles de expresión descritos en la presente memoria, el ARN total de una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene un cáncer (por ejemplo, un cáncer sólido) se transcribe de forma inversa cuantitativamente para proporcionar un conjunto de oligodesoxinucleótidos diana marcados complementarios del ARN en la muestra. Los oligodesoxinucleótidos diana se hibridan después con una 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.

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

La 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. En una realización, el producto génico de miR está asociado 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. En determinadas realizaciones, el nivel del al menos un producto génico de miR se mide transcribiendo ARN de manera 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.

- 5
- 10 Sin desear quedar ligado a ninguna teoría, se cree que las alteraciones en el nivel de uno o más productos génicos de miR en células pueden dar como resultado la desregulación de una o más dianas pretendidas para estos miR, lo que puede conducir a la formación de cánceres sólidos. Por lo tanto, la alteración del nivel del producto génico de miR (por ejemplo, reduciendo el nivel de un producto génico de miR que está regulado positivamente en células de cáncer sólido, aumentando el nivel de un producto génico de miR que está regulado negativamente en células de cáncer sólido) puede tratar exitosamente el cáncer sólido.

En consecuencia, la presente divulgación abarca métodos para inhibir la tumorigénesis en un sujeto que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado positivamente, regulado negativamente) en las células cancerosas del sujeto. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado negativamente en las células cancerosas (por ejemplo, miR-145, miR-155, miR-218-2), el método comprende administrar una cantidad eficaz del al menos un producto génico de miR aislado o una variante aislada o fragmento biológicamente activo de los mismos, de modo que se inhiba la proliferación de células cancerosas en el sujeto. En una realización, el producto génico de miR aislado que se administra no es miR-15a o miR-16-1. En otra realización, el producto génico de miR no es miR 159-1 o miR-192. En una realización adicional, 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-12b-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. En una realización más, el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. En otra realización, 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. En otra realización más, 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. En una realización más, el producto génico de miR no es 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. En otra realización, el producto génico de miR no es 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.

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

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

- 65 Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado positivamente en las células cancerosas, el

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

Los términos “tratar”, “tratando” y “tratamiento”, como se usan en la presente memoria, se refieren a aliviar síntomas asociados con una enfermedad o afección, por ejemplo, un cáncer sólido, incluyendo prevenir o retardar la aparición de los síntomas de la enfermedad, y/o reducir la gravedad o frecuencia de los síntomas de la enfermedad  
 15 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. En una realización preferida, 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 enfermedad; la edad, salud y sexo del sujeto; la vía de administración; y si la administración es regional o sistémica.  
 20

Por ejemplo, una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado puede basarse en el peso aproximado de una masa tumoral para tratar. El peso aproximado de una masa tumoral puede determinarse calculando el volumen aproximado de la masa, en la que un centímetro cúbico de volumen es aproximadamente equivalente a un gramo. Una cantidad eficaz del producto génico de miR aislado basándose en el peso de una masa tumoral puede estar en el intervalo de aproximadamente 10-500 microgramos/gramo de masa tumoral. La masa tumoral puede ser de al 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.  
 25

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.  
 30

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.  
 35

Como se usa en la presente memoria, un producto génico de miR “aislado” es uno que se sintetiza, o se altera o retira del estado natural mediante intervención humana. Por ejemplo, un producto génico de miR sintético, o un producto génico de miR parcial o completamente separado de los materiales coexistentes de su estado natural, se considera que está “aislado”. Un producto génico de miR aislado puede existir en forma sustancialmente purificada, o puede existir en una célula en la que se ha suministrado el producto génico de miR. Por lo tanto, un producto 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).  
 40

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. En una realización, los productos génicos de miR se sintetizan 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, Prologo  
 45

(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).

5 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  
10 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.  
15 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. En una realización, los productos génicos de miR se expresan como moléculas precursoras de ARN a partir de un único plásmido, y las moléculas precursoras se procesan en el producto génico de miR funcional por un sistema de procesamiento adecuado, incluyendo, pero sin limitación, sistemas de procesamiento existentes dentro de una célula cancerosa. Otros sistemas de procesamiento adecuados incluyen, por ejemplo, el sistema de lisado celular de *Drosophila in vitro* (por ejemplo, como se describe en la Solicitud de Patente Publicada en Estados Unidos N 2002/0086356 de Tuschl *et al.*) y el sistema de RNAsa III de *E. coli* (por ejemplo, como se describe en la Solicitud de Patente Publicada de Estados Unidos N° 2004/0014113 de Yang *et al.*).  
20  
25

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.  
30

En una realización, un plásmido que expresa los productos génicos de miR comprende una secuencia que codifica un ARN precursor de miR bajo el control del promotor intermedio-temprano de CMV. Como se usa en la presente memoria, "bajo el control" de un promotor significa que las secuencias de ácido nucleico que codifican el producto génico de miR se localizan 3' del promotor, de modo que el promotor puede iniciar la transcripción de las secuencias codificantes del producto génico de miR.  
35

Los productos génicos de miR también pueden expresarse a partir de vectores virales recombinantes. Se contempla que los productos génicos de miR pueden expresarse a partir de dos vectores virales recombinantes separados, o del mismo vector viral. El ARN expresado a partir de dos vectores virales recombinantes puede aislarse de sistemas de expresión de células cultivadas por técnicas convencionales, o puede expresarse directamente en células cancerosas. El uso de vectores virales recombinantes para suministrar los productos génicos de miR a células cancerosas se analiza en más detalle posteriormente.  
40  
45

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.  
50

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.  
55  
60

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  
65

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.

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

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

20 En una realización determinada, un vector viral de AAV recombinante comprende 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.

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

40 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.

45 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.

50 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.

55 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.

60 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. En una realización particular, la molécula de ARNbc es un "ARN de interferencia corto o pequeño" o "ARNip".

65 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.

5 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  
10 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.  
15

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, en determinadas realizaciones, el ARNip comprende 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. En una realización adicional, el saliente 3' está 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”).  
20  
25

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.*  
30

La expresión de un gen de miR dado también puede inhibirse por un ácido nucleico antisentido. Como se usa en la presente memoria, un “ácido nucleico antisentido” se refiere a una molécula de ácido nucleico que se une a ARN diana por medio de interacciones de ARN-ARN, ARN-ADN o ARN-ácido peptidonucleico, que alteran la actividad del ARN diana. Son ácidos nucleicos antisentido adecuados para su uso en los presentes métodos ácidos nucleicos monocatenarios (por ejemplo, ARN, ADN, quimeras de ARN-ADN, ácido peptidonucleico (PNA)) que generalmente comprenden una secuencia de ácido nucleico complementaria de una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. El ácido nucleico antisentido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que es 50-100 % complementaria, 75-100 % complementaria o 95-100 % complementaria de una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. Se proporcionan secuencias de ácido nucleico para los productos génicos de miR en las Tablas 1a y 1b. Sin desear quedar ligado a ninguna teoría, se cree que los ácidos nucleicos antisentido activan RNasa H u otra nucleasa celular que digiere la doble cadena de producto génico de miR/ácido nucleico antisentido.  
35  
40  
45

Los ácidos nucleicos antisentido también pueden contener modificaciones de la cadena principal de ácido nucleico o de los restos de azúcar y base (o su equivalente) para potenciar la especificidad diana, resistencia a nucleasa, suministro u otras propiedades relacionadas con la eficacia de la molécula. Dichas modificaciones incluyen restos de colesterol, intercaladores bicatenarios, tales como acridina, o uno o más grupos resistentes a nucleasa.  
50

Pueden producirse ácidos nucleicos antisentido de forma química o biológica, o pueden expresarse a partir de un plásmido o vector viral recombinante, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR aislados. Están dentro de la experiencia de la técnica métodos ejemplares para producir y ensayar; véase, por ejemplo, Stein y Cheng (1993), Science 261: 1004 y Patente de Estados Unidos N° 5.849.902 de Woolf *et al.*  
55

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.  
60

Los ácidos nucleicos enzimáticos pueden producirse de forma química o biológica, o pueden expresarse a partir de un plásmido o vector viral recombinante, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR  
65



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.*

5 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  
10 administración de los productos génicos de miR o los compuestos de inhibición de la expresión del gen de miR. Una inhibición de la proliferación de células cancerosas puede también inferirse si el número absoluto de dichas células aumenta, pero la tasa de crecimiento tumoral disminuye.

15 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.

20 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.

25 Los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR pueden administrarse a un sujeto por cualquier medio adecuado para suministrar estos compuestos a células cancerosas del sujeto. Por ejemplo, los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión de miR pueden administrarse por métodos adecuados para transfectar células del sujeto con estos compuestos, o con ácidos nucleicos que comprenden secuencias que codifican estos compuestos. En una realización, las células se transfectan con un  
30 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.

35 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.

40 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 para la práctica; pueden conseguirse resultados aceptables con 0,1-100 microgramos de ácido nucleico/ $10^5$  células. Por ejemplo, puede usarse una relación de aproximadamente 0,5 microgramos de vector plasmídico en 3 microgramos de DOTAP por cada  $10^5$  células.

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

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

65 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.

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

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

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

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

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

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

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

Los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR pueden formularse como composiciones farmacéuticas, denominadas en ocasiones "medicamentos", antes de administrarlos a un sujeto, de acuerdo con técnicas conocidas en este campo. En consecuencia, la divulgación abarca composiciones farmacéuticas para tratar un cáncer sólido. En una realización, la composición farmacéutica comprende al menos un producto génico de miR aislado, o una variante aislada o fragmento biológicamente activo del mismo, y un vehículo

farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el al menos un producto génico de miR se corresponde a un producto génico de miR que tiene un nivel reducido de expresión en células de cáncer sólido en relación con células de control adecuadas. En determinadas realizaciones, el producto génico de miR aislado se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 o combinaciones de los mismos.

5 En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR. En una realización particular, el al menos un compuesto de inhibición de la expresión génica de miR es específico para un gen de miR cuya expresión es mayor en células de cáncer sólido que en células de control. En determinadas realizaciones, el compuesto de inhibición de la expresión génica de miR es específico para  
10 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.

15 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 de la invención están dentro de la experiencia de la técnica, por ejemplo como se describe en Remington's Pharmaceutical Science, 17<sup>a</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1985).

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

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

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

40 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 de la invención pueden envasarse  
45 para su uso en forma líquida, o pueden liofilizarse.

50 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.

55 Por ejemplo, una composición farmacéutica sólida para administración oral puede comprender cualquiera de los vehículos y excipientes enumerados anteriormente y 10-95 %, preferentemente 25 %-75 %, del al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los codifican). Una composición farmacéutica para administración por aerosol (de inhalación) puede comprender 0,01-20 % en peso, preferentemente 1 %-10 % en peso, del al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los codifican) encapsulado en un liposoma como se ha descrito anteriormente, y un propulsor. También puede incluirse un vehículo según se desee; por ejemplo, lecitina para suministro intranasal.  
60

65 Las composiciones farmacéuticas pueden comprender además uno o más agentes anticáncer. En una realización adicional, las composiciones comprenden al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los codifican) y al menos un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos que son adecuados para los métodos incluyen, pero sin limitación, agentes alquilantes de ADN, agentes antibióticos antitumorales, agentes antimetabólicos, agentes

estabilizadores de tubulina, agentes desestabilizadores de tubulina, agentes antagonistas de hormonas, inhibidores de topoisomerasa, inhibidores de proteína quinasa, inhibidores de HMG-CoA, inhibidores de CDK, inhibidores de ciclina, inhibidores de caspasa, inhibidores de metaloproteinasas, ácidos nucleicos antisentido, ADN de triple hélice, aptámeros de ácidos nucleicos y agentes virales, bacterianos y exotóxicos modificados molecularmente. Los ejemplos de agentes adecuados para las composiciones incluyen, pero sin limitación, arabinósido de citidina, metotrexato, vincristina, etopósido (VP-16), doxorubicina (adriamicina), cisplatino (CDDP), dexametasona, arglabina, ciclofosfamida, sarcolisina, metilnitrosourea, fluorouracilo, 5-fluorouracilo (5FU), vinblastina, camptotecina, actinomicina-D, mitomicina C, peróxido de hidrógeno, oxaliplatino, irinotecán, topotecán, leucovorina, carmustina, estreptozocina, CPT-11, taxol, tamoxifeno, dacarbacina, rituximab, daunorrubicina, 1-β-D-arabinofuranosilcitosina, imatinib, fludarabina, docetaxel, FOLFOX4.

La divulgación también abarca métodos para identificar un inhibidor de tumorigénesis, 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. En una realización, el método comprende proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión reducidos en células cancerosas. Un aumento del nivel del producto génico de miR de la célula después de que se proporcione el agente, en relación con una célula de control adecuada (por ejemplo, no se proporciona agente), es indicativo de que el agente de ensayo es un inhibidor de tumorigénesis. En una realización particular, al menos un producto génico de miR asociado con los niveles de expresión reducidos en células cancerosas se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

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

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

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

### Ejemplificación

Los siguientes Materiales y Métodos se usaron en los Ejemplos:

#### Muestras

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

#### Micromatriz de microARN

Se realizó análisis de micromatriz 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 micromatriz 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 micromatriz se hibridaron en SSPE 6x (NaCl 0,9 M/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 60 mM · H<sub>2</sub>O/EDTA 8 mM, pH 7,4)/formamida 30 % a 25 °C durante 18 h, se lavaron en TNT 0,75x (Tris-HCl/NaCl/Tween 20) a 37 °C durante 40 minutos, y se procesaron usando detección directa en los transcritos marcados con biotina por conjugado de estreptavidina-Alexa647 (Molecular Probes). Los portaobjetos procesados se exploraron usando un explorador de micromatriz (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)).

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

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

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

### Análisis computacional

10 Se analizaron imágenes de micromatriz usando GenePix Pro (Axon). De los valores medios de los puntos repetidos de cada miARN se restó el fondo, se normalizaron y se sometieron a análisis adicional. Se realizó normalización usando un método de normalización de mediana por microplaca, usando la mediana de la serie como una referencia. Finalmente, se seleccionaron los miARN medidos como presentes en al menos la menor de las dos clases en un conjunto de datos. Las ausencias tuvieron un umbral de 4,5 antes del análisis estadístico. Este nivel es el nivel de intensidad mínimo medio detectado en los experimentos. La nomenclatura de microARN fue de acuerdo con el

15 Buscador del Genoma ([www.genome.ucsc.edu](http://www.genome.ucsc.edu)) y la base de datos de microARN en el Centro Sanger (Griffiths-Jones, S., Nucleic Acids Res 32: D109-11(2004)); en caso de discrepancias los inventores siguieron la base de datos de microARN. Se identificaron microARN expresados diferencialmente usando el procedimiento de ensayo de t dentro de análisis significativo de micromatriz (SAM) (Tusher, V. G., *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 98: 5116-21 (2001). SAM calcula una puntuación para cada gen basándose en el cambio de la expresión en relación con la desviación típica de todas las mediciones. Dentro de SAM, se usó el ensayo de t. Los distintivos de microARN se

20 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

25 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

30 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

35 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)).

40 Como una alternativa al ensayo de T, se usó análisis de significación de micromatriz (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

45 las dos clases (cáncer y normal), usando el método de los centroides hundidos más cercanos, como se implementa en PAM (análisis de predicción de micromatriz). 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.

#### 50 Resultados

Por el ensayo de T, se obtuvieron 43 miR expresados diferencialmente con un p valor ajustado por debajo de 0,05 (Tabla 3). Se sobreexpresaron 26 miR y 17 se infraexpresaron en relación con tejidos normales correspondientes

cuando los seis cánceres sólidos se agruparon entre sí (mama, colon, pulmón, páncreas, próstata, estómago). Estos resultados indicaron que el espectro de miARN expresados en cánceres sólidos es muy diferente del de células normales (43 de 137 miARN, 31 %). Usando SAM, se identificaron 49 miARN expresados diferencialmente, de los cuales 34 estaban regulados positivamente (Tabla 4). Usando PAM, se identificaron 36 miARN sobreexpresados en

5 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).

10 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.

15 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-128u	Nº 113	12,32588	13,522675	-6,76388	2,00E-06	2,00E-06
prec						
miR-138-2	Nº 133	11,739557	13,144746	-7,01204	2,00E-06	2,00E-06
miR-218-2	Nº 221	11,279787	12,539366	-7,40557	2,00E-06	2,00E-06
miR-23b	Nº 51	14,169748	15,949736	-8,37744	2,00E-06	2,00E-06
miR-195	Nº 184	10,343991	9,172985	5,763262	2,00E-06	1,00E-05
miR-212 prec	Nº 209	12,686966	13,661763	-5,83132	4,00E-06	1,00E-05
miR-29b-2	Nº 95	11,27556	9,940731	5,660854	2,00E-06	1,40E-05
miR-199a-1	Nº 191	10,032008	8,920183	5,528849	2,00E-06	3,00E-05
miR-9-3	Nº 28	11,461922	12,570412	-5,43006	2,00E-06	4,60E-05
miR-128a	Nº 114	13,024235	13,856624	-5,35102	6,00E-06	7,20E-05
let-7a-1	Nº 1	12,616569	13,455246	-5,35346	2,00E-06	7,20E-05
let-7b	Nº 5	13,42636	14,068521	-5,17701	1,00E-05	0,000146
miR-16-2	Nº 39	10,460707	9,305895	5,048375	4,00E-06	0,000224
miR-199a-2	Nº 192	9,714225	8,759237	4,862553	1,00E-05	0,000494
miR-152 prec	Nº 151	11,388676	12,357529	-4,83716	2,00E-06	0,00053
miR-16-1	Nº 38	10,443169	9,338182	4,755238	1,00E-05	0,00071
miR-30d	Nº 72	13,982017	14,775206	-4,5707	1,50E-05	0,001476
miR-34n	Nº 78	10,675566	9,63769	4,467301	2,60E-05	0,00217
miR-17-5p	Nº 41	11,567244	10,281468	4,341834	3,80E-05	0,0034
miR-128b	Nº 115	10,930395	9,947746	4,304764	3,80E-05	0,03912
miR-20a	Nº 46	11,409852	10,19284	4,304678	3,20E-05	0,003912
miR-181b-1	Nº 211	9,577504	8,804294	4,285968	4,80E-05	0,004126
prec						
miR-132	Nº 121	9,599947	8,775966	4,254737	5,60E-05	0,004126
miR-200b	Nº 195	9,475221	8,527243	4,221511	4,00E-05	0,0052
let-7a-3	Nº 4	10,436089	9,511546	4,08952	0,000104	0,008242
miR-138-1	Nº 132	8,299613	9,200253	-4,05204	5,60E-05	0,00931
miR-29c	Nº 65	11,291005	10,326912	4,019385	0,000144	0,010312
miR-29a	Nº 62	11,381359	10,461075	4,013697	0,00015	0,010398
miR-96	Nº 86	11,37218	12,136636	-3,94825	0,000138	0,012962
miR-191	Nº 177	13,498207	12,729872	3,817228	0,000158	0,02015
miR-27a	Nº 59	10,399338	9,548582	3,715048	0,000344	0,028096
let-7g	Nº 15	10,819688	10,01157	3,653239	0,000426	0,033874
miR-9-1	Nº 24	10,102819	9,212988	3,651886	0,000388	0,033874
miR-125a	Nº 107	10,960998	10,005312	3,651356	0,000452	0,033874
miR-95	Nº 84	9,435733	8,751331	3,59406	0,000478	0,039594
miR-155	Nº 157	12,505359	13,231221	-3,58369	0,000614	0,040394
miR-199b	Nº 194	9,755066	9,082751	3,55934	0,000588	0,04314
miR-24-2	Nº 54	12,611696	11,612557	3,518774	0,00087	0,048278
let-7e	Nº 11	12,497795	13,055093	-3,51589	0,00054	0,048354
miR-92-1	Nº 81	16,081074	16,592426	-3,50446	0,000928	0,49828

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

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

miR	ID	Valor d.	devtip	Valor p	Valor q	Factor de R
miR-21	Nº 47	3,156	0,24	0	0	2,593
miR-23b	Nº 51	3,117	0,212	0	0	0,443
miR-138-2	Nº 133	-2,514	0,2	0	0	0,402
miR-218-2	Nº 221	-2,383	0,17	0	0	0,384
miR-29b-2	Nº 95	2,246	0,236	0	0	1,868
miR-128a	Nº 113	-2,235	0,177	0	0	0,368
prec						
miR-195	Nº 184	2,085	0,203	0	0	1,695
miR-141	Nº 137	2,08	0,179	0	0	2,459
miR-199a-1	Nº 191	1,987	0,201	0	0	1,945
miR-9-3	Nº 28	-1,97	0,204	0	0	0,433
miR-16-2	Nº 39	1,966	0,229	0	0	1,788
miR-17-5p	Nº 41	1,964	0,296	0	0	0,725
miR-20a	Nº 46	1,898	0,283	0	0	0,969
miR-16-1	Nº 38	1,87	0,232	0	0	1,447
miR-212	Nº 209	-1,854	0,167	0	0	0,509
prec						
miR-34a	Nº 78	1,756	0,232	0	0	1,219
miR-152	Nº 151	-1734	0,2	0	0	0,46
prec						
miR-199a-2	Nº 192	1,721	0,196	0	0	1,838
miR-128b	Nº 115	1,674	0,238	0	0	1,266
miR-212	Nº 208	-1,659	0,121	0	0	0,627
let-7a-1	Nº 1	-1,628	0,157	0	0	0,461
miR-200b	Nº 195	1,626	0,225	0	0	1,432
miR-128a	Nº 114	-1,619	0,156	0	0	0,511
miR-29c	Nº 65	1,611	0,24	0	0	1,225
let-7a-3	Nº 4	1,581	0,226	0	0	1,109
miR-29a	Nº 62	1,565	0,229	0	0	1,706
miR-24-2	Nº 54	1,555	0,284	0	0	0,831
miR-138-1	Nº 132	-1,551	0,222	0	0	0,432
miR-125a	Nº 107	1,541	0,262	0	0	1,164
miR-106a	Nº 99	1,514	0,275	0	0	0,952
miR-132	Nº 121	1,496	0,192	0	0	2,158
miR-30d	Nº 72	-1,491	0,174	0	0	0,424
miR-9-1	Nº 24	1,478	0,244	0	0	0,763
miR-27a	Nº 59	1,448	0,229	0	0	1,174
miR-181b-1	Nº 21	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	-0,2643
miR-138-2	Nº 133	-0,055	0,1815
miR-218-2	Nº 221	-0,0535	0,1765
miR-23b	Nº 51	-0,0516	0,17

5

miR-128a prec	Nº 113	-0,0498	0,1642
miR-29b-2	Nº 95	0,0457	-0,1508
miR-195	Nº 184	0,0404	-0,1333
miR-17-5p	Nº 41	0,0383	-0,1263
miR-9-3	Nº 28	-0,0357	0,1176
miR-212 prec	Nº 209	-0,0342	0,1129
miR-20a	Nº 46	0,0322	-0,1061
miR-141	Nº 137	0,0322	-0,1061
miR-199-1	Nº 191	0,0319	-0,1053
miR-16-2	Nº 39	0,0315	-0,1037
miR-152 prec	Nº 151	-0,0283	0,0933
miR-16-1	Nº 38	0,0277	-0,0913
miR-34a	Nº 78	0,0269	-0,0886
miR-212	Nº 208	-0,0265	0,0875
let-7a-1	Nº 1	-0,0264	0,0872
miR-128a	Nº 114	-0,0259	0,0855
miR-128b	Nº 115	0,0254	-0,0839
miR-24-2	Nº 54	0,0244	-0,0803
miR-29c	Nº 65	0,0224	-0,0738
miR-199a-2	Nº 192	0,0223	-0,0736
let-7a-3	Nº 4	0,0221	-0,073
miR-191	Nº 177	0,0188	-0,062
miR-125a	Nº 107	0,0186	-0,0613
miR-30d	Nº 72	-0,0185	0,061
miR-29a	Nº 62	0,0184	-0,0608
miR-106a	Nº 99	0,0177	-0,0584
miR-93-1	Nº 83	0,0163	-0,0537
miR-200b	Nº 195	0,0159	-0,0524
let-7g	Nº 15	0,0158	-0,0521
miR-27a	Nº 59	0,0157	-0,0518
miR-96	Nº 86	-0,0156	0,0514
let-7b	Nº 5	-0,0152	0,0501
miR-138-1	Nº 132	-0,0151	0,0499
miR-9-1	Nº 24	0,0136	-0,0448
miR-181b-1 prec	Nº 211	0,0134	-0,0442
miR-155	Nº 157	-0,0128	0,0423
miR-132	Nº 121	0,0127	-0,0418
miR-136	Nº 130	-0,0112	0,037
let-7i	Nº 10	0,0103	-0,034
miR-210	Nº 205	0,0074	-0,0245
miR-205	Nº 201	0,0073	-0,024
*. miR-185	Nº 170	0,0071	-0,0234
miR-24-1	Nº 52	0,007	-0,023
miR-199b	Nº 194	0,0064	-0,021
miR-125b-1	Nº 109	0,006	-0,0199
miR-206 prec	Nº 203	-0,005	0,0166
miR-10a	Nº 30	0,0045	-0,015
miR-95	Nº 84	0,0045	-0,0149
let-7c	Nº 11	-0,0039	0,013
miR-124a-3	Nº 106	-0,0028	0,0091
miR-10b	Nº 32	0,002	-0,0066
miR-185 prec.	Nº 171	-0,0014	0,0047
miR-92-1	Nº 81	-2,00E-04	5,00E-04

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

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

## 5 Resultados

Para identificar microARN que son pronóstico de estado de cáncer asociado con tumores sólidos, sin incurrir en una desviación debido a la especificidad de tejido, se usó un enfoque alternativo. En primer lugar, se obtuvieron seis distintivos específicos de tejido, uno para cada histotipo de cáncer, realizando ensayos de PAM independientes (resumidos en las Tablas 6 y 7). Se muestran distintivos específicos para cada cáncer en las Tablas 8-13: por



ejemplo, mama-Tabla 8; colon-Tabla 9; pulmón-Tabla 10; páncreas-Tabla 11; próstata-Tabla 12; estómago-Tabla 13. Usando estos datos, se identificaron microARN desregulados que se compartían entre los distintivos de miARN de diferentes histotipos (Tabla 14). Para calcular los p valores para este análisis comparativo, se realizó un ensayo de nueva toma de muestras con 1.000.000 de permutaciones aleatorias sobre la identidad del miARN. El p valor se definió como la frecuencia relativa de puntuaciones de simulación que sobrepasaban la puntuación real. Se identificaron 21 microARN regulados erróneamente que eran comunes de al menos 3 tipos de cánceres sólidos (p valor =  $2,5 \times 10^{-3}$ ) (Tabla 14).

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

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

10

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 micromatriz (PAM) identifica los genes que caracterizan mejor cánceres y tejidos normales, mientras que el análisis de significación de micromatriz (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-128b (Nº 115)	0,0177	-0,102
miR-21 (Nº 47)	0,0162	-0,0929
miR-24-2 (Nº 54)	0,0145	-0,0835
miR-99b prec (Nº 88)	0,0125	-0,0721
miR-155 (Nº 157)	0,0092	-0,0528
miR-213 (Nº 160)	0,0091	-0,0522
miR-150 (Nº 148)	0,0042	-0,0243
miR-107 (Nº 100)	0,003	-0,0173
miR-191 (Nº 177)	0,0028	-0,0159
miR-221 (Nº 224)	0,002	-0,0116
miR-9-3 (Nº 28)	-0,0014	0,0083

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

5 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
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-129-112 (Nº 117)	0,1001	-0,3337
miR-197 (Nº 189)	0,0975	-0,325
miR-17-5p (Nº 41)	0,0955	-0,3185
miR-30c (Nº 70)	0,0948	-0,316
miR-7-1 (Nº 19)	0,0933	-0,311
miRs-93-1 (Nº 83)	0,0918	-0,3061
miR-140 (Nº 136)	0,0904	-0,3015
miR-30a-5p (Nº 66)	0,077	-0,2568
miRs-132 (Nº 121)	0,0654	-0,2179
miR-181b-1 (Nº 210)	0,0576	-0,1918
miR-152 prec (Nº 151)	-0,0477	0,1591
miR-23b (Nº 51)	0,0469	-0,1562
miR-20a (Nº 46)	0,0452	-0,1507
miRs-222 (Nº 225)	0,0416	-0,1385
miR-21a (Nº 59)	0,0405	-0,1351
miRs-92-1 (Nº 81)	0,0332	-0,1106
miRs-21 (Nº 47)	0,0288	-0,0959

miR-129-112 prec (Nº 118)	0,0282	-0,0939
miR-150 (Nº 148)	0,0173	-0,0578
miR-32 (Nº 75)	0,0167	-0,0558
miR-106a (Nº 99)	0,0142	-0,0473
miR-29b-1 (Nº 64)	0,0084	-0,028

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

Tabla 12. MicroARN seleccionados por análisis de predicción de 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-11-5p (Nº 41)	0,0132	-0,1053
miR-92-2 (Nº 82)	0,012	-0,0961
miR-146 (Nº 144)	0,0113	-0,0908
miR-181b-1 prec (Nº 211)	0,011	-0,0878
miR-32 (Nº 75)	0,0109	-0,0873
miR-206 (Nº 202)	0,0104	-0,083
miR-184 prec (Nº 169)	0,0096	-0,0764
miR-29a prec (Nº 63)	-0,0095	0,076
miR-29b-2 (Nº 95)	0,0092	-0,0739
miR-149 (Nº 147)	-0,0084	0,0676
miR-181b-1 (Nº 210)	0,0049	-0,0392
miR-196-1 prec (Nº 186)	0,0042	-0,0335
miR-93-1 (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.

5 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-2.15 (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 =  $2,5 \times 10^{-3}$ ).

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

La FIGURA 4 muestra la expresión diferencial de los microARN comunes entre los diferentes tejidos tumorales, en relación con los tejidos normales. El árbol presenta los diferentes tipos de cáncer según el factor de cambio en el

subconjunto de miARN. Los tejidos de próstata, colon, estómago y pancreático son más similares entre ellos, mientras que los tejidos de pulmón y de mama se representaron por un distintivo bastante diferente (FIGURA 4). Este árbol claramente muestra qué miARN están asociados con un histotipo de cáncer particular.

- 5 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  
10 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.

20 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  
25 tumorigénesis humana. En tercer lugar, los datos de micromatriz 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 micromatriz.

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

*Materiales y métodos:*

*Predicciones de diana de oncogén y supresor de tumores*

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

*Ensayos in vitro de diana*

45 Para experimentos de indicador de luciferasa, se amplificaron segmentos UTR 3' de Rb1, TGFBR2 y Plag1 que se predice que interaccionarán 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 CO<sub>2</sub> 5 %. Las células se cotransfectaron en placas de 12 pocillos usando siPORT neoFX (Ambion, Austin, TX), de acuerdo con el protocolo del fabricante, con 0,4 µg del vector indicador de luciferasa de luciérnaga y 0,08 µg del vector de control que contiene luciferasa de Renilla, pRL-TK (Promega). Para cada pocillo, se usaron oligonucleótidos de microARN (Dharmacon Research, Lafayette, CO) y oligonucleótidos antisentido o  
50 mezclados (Ambion) a una concentración de 10 nM. Las actividades de luciferasa de luciérnaga y Renilla se midieron consecutivas a las 24 horas después de la transfección usando ensayos de luciferasa dobles (Promega).

*Transferencia de Western para RB1*

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

*Resultados*

65 Es necesario entender la importancia funcional de la desregulación del microARN en cáncer. En tumores sólidos,

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

Las predicciones informáticas para tres genes de cáncer diferentes, Retinoblastoma (Rb), receptor de TGF-beta-2 (TGFBR2) y gen de adenoma pleiomórfico 1 (PLAG1), se confirmaron experimentalmente por ensayos *in vitro*. Usando un ensayo de indicador de luciferasa, tres microARN ensayados (miR-106a, miR-20a y miR-26a-1) provocaron una reducción significativa de la traducción de proteínas en relación con los oligoARN de control mezclados en células MEG-01 transfectadas (FIGURA 6). Se descubrió, por ejemplo, que las UTR 3' de retinoblastoma interaccionaban funcionalmente con miR-106a. La importancia biológica de esta interacción miARN:ARNm se refuerza por informes previos que muestran que el gen de Rb1 se transcribe de forma normal en cánceres de colon, mientras que diversas fracciones de células no expresan proteína Rb1 (Ali, A.A., *et al.*, FASEB J. 7: 931-937 (1993)). Este hallazgo sugiere la existencia de un mecanismo postranscripcional para regular Rb1 que podría explicarse por sobreexpresión de miR-106a conjunta en carcinoma de colon (FIGURA 4). Además, miR-20a está regulado negativamente en cáncer de mama (FIGURA 4) y la proteína TGFBR2 se expresa en el epitelio de células de cáncer de mama (Buck, M. B., *et al.*, Clin. Cancer Res. 10: 491-498 (2004)). Por el contrario, la sobreexpresión de miR-20a en cáncer de colon puede representar un mecanismo nuevo para regular negativamente TGFBR2, además de inactivación mutacional (Biswas, S., *et al.*, Cancer Res. 64: 687-692 (2004)).

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

Estas pruebas experimentales refuerzan la hipótesis de que genes clave del cáncer están regulados por expresión aberrante en miR en cánceres sólidos. Estos datos añaden nuevos ejemplos a la lista de microARN con importantes dianas de genes de cáncer, como se ha mostrado previamente por Johnson *et al.* (Johnson, S. M., *et al.*, Cell 120: 635-647 (2005)) para la interacción let-7:Ras, O'Donnell *et al.* (O'Donnell, K. A., *et al.*, Nature 435: 839-843 (2005)) para la interacción miR-17-5p:cMyc, y Cimmino *et al.* (Cimmino, A., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 13944-13949 (2005)) para la interacción miR-16:Bc12. Notablemente, miR-17-5p y miR-16 son miembros del distintivo de cáncer sólido de miARN descrito en la presente memoria.

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

Gen de miARN	Nombre del gen	Descripción del gen
miR-26a, miR-146	ABL2	homólogo de oncogén viral de leucemia murina de Abelson v-abl 2 (arg, gen relacionado con Abelson)
miR-107	AF5q31	gen fusionado con ALL1 de 5q31
miR-20, miR-125b	AKT3	homólogo de oncogén viral de timoma murino v-akt 3
miR-26a, miR-155 miR-125b	APC	poliposis adenomatosa de colon
miR-26a, miR-218	ARHGEF12	factor de intercambio de nucleótidos de guanina de RHO (GEF) 12 (LARG)
miR-107, miR-221	ARNT	translocador nuclear de receptores de hidrocarburos de arilo
miR-192	ATF1	factor de transcripción activador 1
miR-26a	ATM	ataxia telangiectasia mutada (incluye grupos de complementación A, C y D)
miR-24	AXL	tirosina quinasa receptora de AXL
miR-26a, miR-107, miR-146, 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,	BCL6	CLL de linfocitos B/linfoma 6 (proteína de dedo de cinc 51)
miR-92	BCL9	CLL de linfocitos B/linfoma 9
miR-26a, miR-223 miR-221, miR-125b	CBFB	subunidad beta del factor de unión al núcleo
miR-218	CCDC6	Dominio superenrollado que contiene 6 ciclinas D1 (PRAD1:adenomatosis paratiroidea 1)
miR-20	CCND1	
miR-26a, miR-20	CCND2	ciclina D2
miR-26a, miR-107, miR-92	CDK6	quinasa dependiente de ciclina 6
miR-20	CDKN1A	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A (p21, Cip1)
miR-221, miR-92	CDKN1C	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1C (p57, Kip2)
miR-24	CDX2	factor de transcripción de caja homeótica de tipo caudal 2
miR-92	CEBPA	CCAAT/proteína de unión potenciadora (C/EBP), alfa
miR-26a	CLTC	clatrina, polipéptido pesado (Hc)
miR-218	COL1A1	colágeno, tipo I, alfa 1
miR-26a	CREBBP	proteína de unión a CREB (CBP)
miR-20	CRK	homólogo del oncogén CT10 del virus del sarcoma aviar v-crK
miR-20	CSF1	factor estimulante de colonias 1(macrófagos)
miR-221, miR-192	DDX6	polipéptido 6 de la caja DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) (helicasa de ARN, 54 kD)
miR-138	DEK	oncogén DEK (unión a ADN)
miR-20	E2F1	factor de transcripción de E2F 1
miR-20	ELK3	ELK3, proteína de dominio ETS (proteína accesoria de SRF 2)
miR-24	ELL	gen de ELL (gen de leucemia rica en lisina 11-19)
miR-26a, miR-138	ERBB4	tipo homólogo de oncogén viral de leucemia eritroblástica aviar v-erb-a 4
miR-221, miR-155, miR-125b	ETS1	homólogo 1 del oncogén E26 de virus de eritroblastosis aviar v-ets
miR-20	ETV1	gen variante de ets 1
miR-125b	ETV6	gen variante de ets 6 (oncogén TEL)
miR-223	FAT	homólogo de supresor de tumores FAT ( <i>Drosophila</i> )
miR-223, miR-125b, miR-218	FGFR2	receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 2
miR-92	FLI1	integración de virus de leucemia de Friend 1
miR-24, miR-20	FLT1	tirosina quinasa 1 relacionada con fins (factor de crecimiento endotelial vascular/receptor de factor de permeabilidad vascular)
miR-221	FOS	homólogo del oncogén viral de osteosarcoma murino v-fos FBJ
miR-92	FOXG1B	G1B de caja forkhead
miR-223	FOXO3A	O3A de caja forkhead box
miR-125b	GOLGA5	autoantígeno de golgi, subfamilia a de golgina, 5 (PTC5)
miR-138	GPHN	gefirina (GPH)
miR-107, miR-223, miR-20, miR-218	HLF	factor de leucemia hepática
miR-26a, miR-107	HMGA1	gancho AT de grupo de alta movilidad 1
miR-20	HOXA13	A13 de caja homeótica
miR-92	HOXA9	A9 de caja homeótica
miR-125b	IRF4	factor regulador de interferón 4
miR-146, miR-20, miR-138	JAZF1	yuxtapuesto con otro gen de dedo de cinc 1
miR-92	JUN	homólogo del oncogén 17 del virus de sarcoma aviar v-jun
miR-155	KRAS	homólogo del oncogén viral de sarcoma de rata de Kirsten 2 v-Ki-ras 2
miR-218	LASP1	proteína LIM y SH3 1
miR-218	LHFP	compañero de fusión de HMGIC de lipoma
miR-125b, miR-218	LIFR	receptor de factor inhibidor de leucemia
miR-223	LMO2	dominio de LIM solamente 2 (tipo rombotina 1) (RBTN2)
miR-223, miR-155, miR-125b, miR-92	MAF	homólogo del oncogén de fibrosarcoma musculoesquelético (aviar) v-maf
miR-92	MAP2K4	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 4
miR-146, miR-20	MAP3K8	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 8
miR-125b	MAX	proteína MAX
miR-218	MCC	mutada en cánceres colorrectales
miR-24	MEN1	neoplasia endocrina múltiple I
miR-138	MLLT6	leucemia 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 mielocistomatosis aviar v-myc
miR-107, miR-92	MYH9	miosina, polipéptido pesado 9, no muscular
miR-24	MYST4	histona acetiltransferasa MYST (leucemia monocítica) 4 (MORF)
miR-20	NBL1	neuroblastoma, supresión de tumorogenicidad 1
miR-125b	NIN	nineína (proteína que interacciona con GSK3B)
miR-26a, miR-107	NKTR	secuencia de reconocimiento de tumor de citolítica natural
miR-92	NOTCH1	homólogo de Notch 1, asociado a translocación ( <i>Drosophila</i> ) (TAN1)
miR-24	NTRK3	tirosina quinasa neurotrófica, receptor, tipo 3
miR-125b	PCSK7	subtilisina de proproteína convertasa/quexina tipo 7
miR-24, miR-146	PER1	homólogo de periodo 1 ( <i>Drosophila</i> )
miR-146, miR-125b, miR-138,	PHOX28	homeocaja de tipo emparejado 2b
miR-155	P/CALM	proteína de ensamblaje de clatrina de unión a fosfatidilinositol (CALM)
miR-24, miR-26a	PIM1	oncogén pim-1
miR-24, miR-26a, miR-21, miR-107, miR-20, miR-155	PLAG1	gen de adenoma pleiomórfico 1
miR-218	RAB8A	RAB8A, miembro de la familia de oncogén RAS
miR-24, miR-221	RALA	homólogo A del oncogén viral de leucemia de simio v-ral (relacionado con ras)
miR-138	RARA	receptor de ácido retinoico, alfa
miR-20, miR-192	RB1	retinoblastoma 1 (incluyendo osteosarcoma)
miR-20,	RBL1	tipo retinoblastoma 1 (p107)
miR-20	RBL2	tipo retinoblastoma 2 (p130)
miR-155, miR-138	REL	homólogo de oncogén viral de reticuloendoteliosis aviar v-rel
miR-20, miR-138	RHOC	familia del gen homólogo de ras, miembro C
miR-20, miR-192	RUNX1	factor de transcripción relacionado con runt 1 (AML1)
miR-107, miR-223	SEPT6	septina 6
miR-146, miR-20, miR-125b	SET	translocación de SET
miR-21, miR-20, miR-155, miR-218	SKI	homólogo de oncogén viral de sarcoma aviar v-ski
miR-26a, miR-146	SMAD4	SMAD, homólogo 4 de madres contra DPP ( <i>Drosophila</i> )
miR-155	SPI1	oncogén de integración proviral de virus formador de focos de bazo (SFFV) spi1
miR-125b	SS18	translocación de sarcoma sinovial, cromosoma 18
miR-107, miR-155	SUFU	supresor de homólogo fusionado ( <i>Drosophila</i> )
miR-92	TAF15	ARN polimerasa II TAF15, factor asociado a proteína de unión a caja TATA (TBP), 68 kDa
miR-26a, miR-221, miR-138	TCF12	factor de transcripción 12 (HTF4, factores de transcripción de hélice-bucle-hélice 4)
miR-21, miR-20	TGFBR2	factor de crecimiento transformante, receptor beta II (70-80 kD)
miR-24, miR-26a, miR-92	TOP1	topoisomerasa (ADN) I
miR-138	TPM4	tropomiosina 4
miR-120	TRIP11	factor de interacción con el receptor de hormona tiroidea 11
miR-92	TSC1	esclerosis tuberosa 1
miR-20	TSG101	gen de susceptibilidad tumoral 101
miR-20	TUSC2	candidato supresor de tumores 2
miR-24	VAV1	oncogén vav 1
miR-125b	VAV2	oncogén vav 2
miR-107	WHSC1	candidato de síndrome de Wolf-Hirschhorn 1 (MMSET)
miR-138	WHSC1L1	tipo candidato 1 de síndrome de Wolf-Hirschhorn 1 (NSD3)
miR-26a	WNT5A	familia del sitio de integración de MNDTV de tipo wingless, miembro 5A
miR-26a, miR-20, miR-125b	YES1	homólogo del oncogén viral de sarcoma de Yamaguchi 1 v-yes-1
miR-107, miR-221	ZNF198	proteína de dedo de cinc 198
miR-218	ZNFN1A1	proteína de dedo de cinc, subfamilia 1A, 1 (Ikaros)

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

Los siguientes párrafos describen varias realizaciones de la divulgación, pero no se interpretan como reivindicaciones:

- 5 1. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene, o está en riesgo de desarrollar un cáncer sólido, que comprende medir el nivel de al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo del sujeto, en el que una alteración en el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo, en relación con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativo de que el sujeto tiene, o está en riesgo de desarrollar, un cáncer sólido.
- 10 2. El método del párrafo 1, en el que el al menos uno producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-175-p y combinaciones de los mismos.
- 15 3. El método del párrafo 1, en el que el al menos un producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR- 191, miR-29b-2, miR- 223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR- 155, miR-181b-1, miR-20a, miR- 107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.
- 20 4. El método del párrafo 1, en el que el cáncer sólido se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama y cáncer de colon.
- 25 5. El método del párrafo 1, en el que el cáncer sólido es cáncer de mama or cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-210, miR-213 y una combinación de los mismos.
- 30 6. El método del párrafo 1, en el 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 s miR-218-2.
- 35 7. El método del párrafo 1, en el que el cáncer sólido es cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR- 125b- 1, miR125b-2, miR- 145, miR-21 y combinaciones de los mismos.
- 40 8. El método del párrafo 1, en el que el cáncer sólido es cáncer pancreático y el al menos un producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-103-1, miR-103-2, miR-155, miR-204 y combinaciones de los mismos.
- 45 9. El método del párrafo 1, en el que el cáncer sólido y el al menos un producto génico de miR se seleccionan del grupo que consiste en:
  - (i) el cáncer sólido es cáncer de mama y el producto génico de miR 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;
  - 50 (ii) el cáncer sólido es cáncer de colon y el producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR- 24-1, miR-29b-2, miR-20a, miR-10a, miR-32, miR-203, miR-106a, miR-17-5p, miR-30c, miR-223, miR-126\*, miR-128b, miR-21, miR-24-2, miR-99b prec, miR-155, miR-213, miR-150, miR-107, miR-191, miR-221, miR- 9-3 y combinaciones de los mismos;
  - 55 (iii) el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el producto génico de miR 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-34aprec, 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;
  - 60 (iv) el cáncer sólido es cáncer pancreático y el producto génico de miR 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-29b-2, miR-29a, miR-25, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-92-2, miR- 199a-1, miR-223, miR-29c, miR-30b, miR-129-1/2, miR-197, miR-17-5p, miR-30c, miR-7-1, miR-93-1, miR- 140, miR-30a-5p, miR-132, miR-181b-1, miR-152 prec, miR-23b, miR-20a, miR-222, miR-27a, miR-92-1, miR- 21, miR-129-1/2 prec, miR-150, miR-32, miR-106a, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos;
  - 65 (v) el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR 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-29aprec, 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; y
  - 70 (vi) el cáncer sólido es cáncer de estómago y el producto génico de miR 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.
- 75 10. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene, o está en riesgo de desarrollar, un cáncer sólido, que comprende:

- (1) transcribir ARN de manera inversa a partir de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar un conjunto de oligodesoxinucleótidos diana;
- 5 (2) hibridar los oligodesoxinucleótidos diana a una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para proporcionar un perfil de hibridación específico para la muestra de ensayo; y
- (3) comparar el perfil de hibridación de la muestra de ensayo a un perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control, en el que una alteración en la señal de al menos un miARN es indicativo de que el sujeto tiene, o está en riesgo de desarrollar, un cáncer sólido.
- 10 11. El método del párrafo 10, en el que la señal de al menos un miARN, en relación a la señal generada a partir de la muestra de control, está disminuida.
12. El método del párrafo 10, en el que la señal de al menos un miARN, en relación a la señal generada a partir de la muestra de control, está aumentada.
- 15 13. El método del párrafo 10, en el que la micromatriz 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.
- 20 14. Un método para inhibir la tumorigénesis en un sujeto que tiene, o se sospecha que tenga, un cáncer sólido en el que al menos un producto génico de miR está regulado negativamente o regulado positivamente en las células cancerosas del sujeto, en relación a células control, que comprende:
- (1) cuando el al menos un producto génico de miR está regulado negativamente en las células cancerosas, administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un producto génico de miR aislado, o una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del mismo, siempre que el producto génico de miR no sea miR-15a o miR-16-1, de tal modo que se inhibe la tumorigénesis en el sujeto; o
- 25 (2) cuando el al menos un producto génico de miR está regulado positivamente en las células cancerosas, administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR, de tal modo que se inhibe la tumorigénesis en el sujeto.
- 30 15. El método del párrafo 14, en el que el al menos un producto génico de miR aislado en la etapa (1) se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.
16. El método del párrafo 14, en el que el al menos un producto génico de miR de la etapa (2) 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,
- 35 miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.
17. El método del párrafo 14, en el que el cáncer sólido se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama y cáncer de colon.
18. Un método para inhibir la tumorigénesis en un sujeto que tiene un cáncer sólido, que comprende:
- 40 (1) determinar la cantidad de al menos un producto génico de miR en células cancerosas del sujeto, en relación a células control; y
- (2) alterar la cantidad de producto génico de miR expresado en las células cancerosas mediante:
- 45 (i) administración al sujeto de una cantidad eficaz de al menos un producto génico de miR aislado, o una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del mismo, siempre que el producto génico de miR no sea miR-15a o miR-16-1, si la cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas es menor que la cantidad del producto génico de miR expresado en células de control; o
- (ii) administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR, si la cantidad del producto génico de miR expresada en las células cancerosas es mayor que la cantidad del producto génico de miR expresada en las células de control, de
- 50 tal forma que se inhibe la tumorigénesis en el sujeto.
19. El método del párrafo 18, en el que el al menos un producto génico de miR aislado en la etapa (i) se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.
- 55 20. El método del párrafo 18, en el que el al menos un producto génico de miR en la etapa (ii) 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.
- 60 21. Una composición farmacéutica para tratar un cáncer sólido, que comprende al menos un producto génico de miR aislado, o una variante aislada o fragmento biológicamente activo del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
22. La composición farmacéutica del párrafo 21, en el que el al menos un producto génico de miR aislado se corresponde con un producto génico de miR que está regulado negativamente en células cancerosas en relación a células control adecuadas.
- 65 23. La composición farmacéutica del párrafo 22, en la que el producto génico de miR aislado se selecciona del

grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

24. La composición farmacéutica del párrafo 21, en el que el cáncer sólido se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama y cáncer de colon.

5 25. Una composición farmacéutica para tratar un cáncer sólido, que comprende al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

26. La composición farmacéutica del párrafo 25, en la que el al menos un compuesto para la inhibición de la expresión de miR es específico para un producto génico de miR que está regulado positivamente en células cancerosas en relación a células de control adecuadas.

10 27. La composición farmacéutica del párrafo 26, en la que el al menos un compuesto para la 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.

15 28. Un método para identificar un inhibidor de la tumorogénesis, que comprende proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión reducidos en cánceres sólidos, en el que un aumento en el nivel del producto génico de miR en la célula, en relación a una célula de control adecuada, es indicativo de que el agente de ensayo es un inhibidor de la tumorogénesis.

20 29. El método del párrafo 29, en el que el producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

30. El método del párrafo 29, en el que el cáncer sólido se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama y cáncer de colon.

25 31. Un método para identificar un inhibidor de la tumorogénesis, que comprende proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión aumentados en cánceres sólidos, en el que una disminución en el nivel del producto génico de miR en la célula, en relación a una célula de control adecuada, es indicativo de que el agente es un inhibidor de la tumorogénesis.

30 32. El método del párrafo 32, en el que el producto génico de miR 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.

33. El método del párrafo 32, en el que el cáncer sólido se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama y cáncer de colon.

35 LISTADO DE SECUENCIAS

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

40 <120> MÉTODOS Y COMPOSICIONES BASADOS EN MICROARN PARA EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE CÁNCERES SÓLIDOS

<130> 1-28349

45 <140> 12/160.061  
<141> 03-01-2008

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

50 <150> 60/756.585  
<151> 05-01-2006

<160> 498

55 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1  
<211> 90  
<212> ARN  
60 <213> *Homo sapiens*

<400> 1

	<b>cacuguggga ugagguagua gguuguauag uuuaggguc acaccacca cugggagava</b>	<b>60</b>
	<b>acuauacaau cuacugucuu uccuaacgug</b>	<b>90</b>
5	<210> 2 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 2	
	<b>agguugaggu aguagguugu auaguuuaga auuacaucac gggagauaac uguacagccu</b>	<b>60</b>
10	<b>ccuagcuuuc cu</b>	<b>72</b>
15	<210> 3 <211> 74 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 3	
	<b>gggugaggua guagguugua uaguuuuggg cucugcccug cuaugggaua acuauacaau</b>	<b>60</b>
20	<b>cuacugucuu uccu</b>	<b>74</b>
25	<210> 4 <211> 107 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 4	
	<b>gugacugcau gcucccaggu ugagguagua gguuguauag uuuagaauua cacaaaggag</b>	<b>60</b>
30	<b>auaacugua acucccuag cuuuccuugg gcuugcacu aaacaac</b>	<b>107</b>
35	<210> 5 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 5	
	<b>ggcgggguga gguaguaggu ugugugguuu cagggcagug uguugcccc ucggaagava</b>	<b>60</b>
	<b>acuauacaac cuacugccuu ccug</b>	<b>85</b>
40	<210> 6 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 6	
45	<b>gcauccgggu ugagguagua gguuguauag uuuagaguua caccugggg guuaacugua</b>	<b>60</b>
	<b>caaccuucua gcuuuccuug gagc</b>	<b>84</b>
	<210> 7 <211> 87	

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 7		
5		<b>ccuaggaaga gguaguaggu ugc<u>au</u>aguuu uagggcaggg auuuugccca caaggaggua</b>	<b>60</b>
		<b>acuauacgac cugcugccuu ucuuagg</b>	<b>87</b>
	<210> 8 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 8		
10		<b>cuaggaagag guaguaguuu gcauaguuu agggcaaaga uuuugcccac aaguagu<u>u</u>ag</b>	<b>60</b>
		<b>cuauacgacc ugcagccuuu uguag</b>	<b>85</b>
15			
	<210> 9 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 9		
20		<b>cuggcugagg uaguagu<u>u</u>ug ugc<u>u</u>guuggu cggguuguga cauugcccgc uguggagaua</b>	<b>60</b>
		<b>acugcgcaag cuacugccuu gcuag</b>	<b>85</b>
25			
	<210> 10 <211> 79 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 10		
30		<b>cccgggcuga gguaggaggu uguauaguug aggaggacac ccaaggagau cacuauacgg</b>	<b>60</b>
		<b>ccuccuagcu uuccccagg</b>	<b>79</b>
35			
	<210> 11 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 11		
40		<b>ucagagugag guaguagauu guauaguugu gggguaguga uuuuaccug uucaggagau</b>	<b>60</b>
		<b>aacuauacaa ucuauugccu ucccuga</b>	<b>87</b>
45			
	<210> 12 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 12		
50			

	<b>cugugggauG agguaguaga uuguauaguu guggggguagu gauuuuaccc uguucaggag</b>	<b>60</b>
	<b>auaacuauac aaucuauugc cuucccuga</b>	<b>89</b>
5	<210> 13 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 13	
	<b>cugugggauG agguaguaga uuguauaguu uuagggucuu accccaucuu ggagauaacu</b>	<b>60</b>
10	<b>auacagucua cugucuuucc cacgg</b>	<b>85</b>
15	<210> 14 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 14	
	<b>uugccugauu ccaggcugag guaguaguuu guacaguuuG agggucuuG auaccacccG</b>	<b>60</b>
20	<b>guacaggaga uaacuguaca ggcacugcc uugccaggaa cagcgcgc</b>	<b>108</b>
25	<210> 15 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 15	
	<b>cuggcugagg uaguaguuuG ugcuguuggu cggguuguga cauugcccG uguggagaua</b>	<b>60</b>
30	<b>acugcgcaag cuacugccuu gcuaG</b>	<b>85</b>
35	<210> 16 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 16	
	accuacucag aguacauacu ucuuuuugua cccauaugaa cauacaauGc uauggaauG	60
	aaagaaguau guauuuuugG uaggc	85
40	<210> 17 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 17	
45	<b>çagcuaacaa cuuaguaua ccuacucaga guacauacuu cuuuuuguaG ccuauaugaac</b>	<b>60</b>
	<b>auacaauGcu auggaauGua aagaaguauG uauuuuugG aggcaua</b>	<b>108</b>
50	<210> 18 <211> 85 <212> ARN	

ES 2 526 787 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 18		
	<b>gccugcuugg gaaacauacu ucuuuauaug cccauaugga ccugcuaagc uauggaaugu</b>	<b>60</b>	
5	<b>aaagaaguau guaucucagg ccggg</b>	<b>85</b>	
	<210> 19		
	<211> 71		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 19		
	<b>ugggaaacau acuucuuuau augcccauau ggaccugcua agcuauggaa uguaaagaag</b>	<b>60</b>	
15	<b>uauguaucuc a</b>	<b>71</b>	
	<210> 20		
	<211> 85		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 20		
	<b>accuacucag aguacauacu ucuuuauaug cccauaugaa cauacaaugc uauggaaugu</b>	<b>60</b>	
	<b>aaagaaguau guauuuuugg uagggc</b>	<b>85</b>	
25	<210> 21		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 21		
	<b>uggauguugg ccuaguucug uguggaagac uagugauuuu guuguuuuu gauaacuaaa</b>	<b>60</b>	
	<b>ucgacaaca aucacaguc gccauauggc acaggccaug ccucuaca</b>	<b>108</b>	
35	<210> 22		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 22		
	<b>uuggauguug gccuaguucu guguggaaga cuagugauuu uguuguuuuu agauaacuaa</b>	<b>60</b>	
	<b>aucgacaaca aaucacaguc ugccauaugg cacaggccaug gccucuacag</b>	<b>110</b>	
45	<210> 23		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 23		



ES 2 526 787 T3

	<b>cuggauacag aguggaccgg cuggccccau cuggaagacu agugauuuug uuguugucuu</b>	<b>60</b>
	<b>acugcgcuca acaacaaauc ccagucuacc uaauggugcc agccaucgca</b>	<b>110</b>
	<210> 24	
	<211> 110	
5	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 24	
	<b>agauuagagu ggcugugguc uagugcugug uggaagacua gugauuuugu uguucugaug</b>	<b>60</b>
10	<b>uacuacgaca acaagucaca gccggccuca uagcgcagac ucccuucgac</b>	<b>110</b>
	<210> 25	
	<211> 89	
15	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 25	
	<b>cggggguuggu uguuauuuu gguuaucuag cuguauagagu gguguggagu cuucaaaaag</b>	<b>60</b>
	<b>cuagauaacc gaaaguaaa auaacccca</b>	<b>89</b>
20	<210> 26	
	<211> 87	
	<212> ARN	
25	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 26	
	<b>ggaaagcgagu uguuauuuu gguuaucuag cuguauagagu guauuggucu ucauaaaagcu</b>	<b>60</b>
	<b>agauaaccga aaguaaaaac uccuuca</b>	<b>87</b>
30	<210> 27	
	<211> 90	
	<212> ARN	
35	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 27	
	<b>ggaggcccgu uucucucuuu gguuaucuag cuguauagagu gccacagagc cgucuaaaag</b>	<b>60</b>
	<b>cuagauaacc gaaaguagaa augauucuca</b>	<b>90</b>
40	<210> 28	
	<211> 110	
	<212> ARN	
45	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 28	
	<b>gaucugucug ucuucuguau auaccucgua gauccgaauu uguguaagga auuuuguggu</b>	<b>60</b>
	<b>cacaaauucg uaucuagggg aauauguagu ugacauaaac acuccgcucu</b>	<b>110</b>
	<210> 29	

	<211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 29		
		<b>ccagagguug uaacguuguc uauauauacc cuguagaacc gaauuugugu gguauccgua</b>	<b>60</b>
		<b>uagucacaga uucgauucua ggggaauua uggucgaugc aaaaacuca</b>	<b>110</b>
10	<210> 30 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 30		
		<b>gcgcgaaugu guguuuaaaa aaaauaaaac cuuggaguaa aguagcagca cauaaugguu</b>	<b>60</b>
		<b>uguggauuuu gaaaaggugc aggccauuu gugcugccuc aaaaauac</b>	<b>108</b>
20	<210> 31 <211> 83 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 31		
		<b>ccuuggagua aaguagcagc acuaauggu uugggauuu ugaaaaggug caggccauu</b>	<b>60</b>
25		<b>ugugcugccu caaaaauaca agg</b>	<b>83</b>
30	<210> 32 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 32		
		<b>cuguagcagc acaucauggu uuacaugcua cagucaagau gcgaaucuu auuugcugcu</b>	<b>60</b>
35		<b>cuag</b>	<b>64</b>
40	<210> 33 <211> 98 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 33		
		<b>uugaggccuu aaaguacugu agcagcacau caugguuuac augcuacagu caagaugcga</b>	<b>60</b>
		<b>aucauuuuu gcugcucuag aauuuuagg aauuucuu</b>	<b>98</b>
45	<210> 34 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 34		

	<b>gucagcagug ccuuagcagc acguaaaau uggcguaag auucuaaaau uaucuccagu</b>	<b>60</b>
	<b>auuaacugug cugcugaagu aagguugac</b>	<b>89</b>
5	<210> 35 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 35	
	<b>guuccacucu agcagcacgu aaauauuggc guagugaaau auauuuaaa caccaauuu</b>	<b>60</b>
10	<b>acugugcugc uuuaguguga c</b>	<b>81</b>
15	<210> 36 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 36	
	<b>gcagugccuu agcagcacgu aaauauuggc guuaagaauc uaaaauauc uccaguauua</b>	<b>60</b>
20	<b>acugugcugc ugaaguaagg u</b>	<b>81</b>
25	<210> 37 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 37	
	<b>gucagaauaa ugucaaagug cuuacagugc agguagugau augugcaucu acugcaguga</b>	<b>60</b>
30	<b>aggcacuugu agcauaugg ugac</b>	<b>84</b>
35	<210> 38 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 38	
	<b>uguucuaagg ugcaucuagu gcagauagug aaguagauua gcaucuacug ccuaagugc</b>	<b>60</b>
40	<b>uccuucuggc a</b>	<b>71</b>
45	<210> 39 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 39	
	<b>uuuuuguucu aaggugcauc uagugcagau agugaaguag auuagcaucu acugcccuaa</b>	<b>60</b>
50	<b>gugcuccuuc uggcauaaga a</b>	<b>81</b>
	<210> 40 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 40	

	<b>gcaguccucu guuaguuug cauaguugca cuacaagaag aauguaguug ugcaaaucua</b>	<b>60</b>
	<b>ugcaaaacug augguggccu gc</b>	<b>82</b>
5	<210> 41 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 41 <b>caguccucug uuaguuugc auaguugcac uacaagaaga auguaguugu gcaaaucua</b>	<b>60</b>
	<b>gcaaaacuga ugguggccug</b>	<b>80</b>
15	<210> 42 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 42 <b>cacuguucua ugguuaguuu ugcagguug cauccagcug ugugauauuc ugcugugcaa</b>	<b>60</b>
20	<b>auccaugcaa aacugacugu gguagug</b>	<b>87</b>
25	<210> 43 <211> 96 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 43 <b>acaugcuac uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuca gcgauauau guauaugugg</b>	<b>60</b>
30	<b>cugugcaau ccaugcaaaa cugauuguga uaaugu</b>	<b>96</b>
35	<210> 44 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 44 <b>uucuaugguu aguuugcag guuugcaucc agcuguguga uauucugcug ugcaaaucca</b>	<b>60</b>
40	<b>ugcaaaacug acugugguag</b>	<b>80</b>
45	<210> 45 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 45 <b>uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuca gcgauauau guauaugugg cugugcaau</b>	<b>60</b>
	<b>ccaugcaaaa cugauuguga u</b>	<b>81</b>
	<210> 46	

ES 2 526 787 T3

	<211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 46		
	<b>guagcacuaa agugcuuaua gugcagguag uguuuaguua ucuacugcau uaugagcacu</b>	<b>60</b>	
	<b>uaaaguacug c</b>	<b>71</b>	
10	<210> 47 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 47		
	<b>ugucggguag cuuauacagac ugauuguagac uguuugaauca cauggcaaca ccagucgaug</b>	<b>60</b>	
	<b>ggcugucuga ca</b>	<b>72</b>	
20	<210> 48 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 48		
	<b>accuugucgg guagcuuauc agacugaugu ugacuguuga aucucauggc aacaccaguc</b>	<b>60</b>	
25	<b>gaugggcugu cugacauuuu g</b>	<b>81</b>	
30	<210> 49 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 49		
	<b>ggcugagccg caguaguucu ucaguggcaa gcuuuauauc cugaccaccg uaaagcugcc</b>	<b>60</b>	
35	<b>aguugaagaa cuguugcccu cugcc</b>	<b>85</b>	
40	<210> 50 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 50		
	<b>ggccggcugg gguuccuggg gaugggauuu gcuuccuguc acaauacaca uugccagga</b>	<b>60</b>	
	<b>uuuccaaccg acc</b>	<b>73</b>	
45	<210> 51 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 51		

	<b>cucaggugcu cuggcugcuu gggauccugg caugcugauu ugugacuuaa gauuaaauc</b>	<b>60</b>
	<b>acaaugccag ggauuaccac gcaaccacga ccuuggc</b>	<b>97</b>
5	<210> 52 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 52	
	<b>ccacggccgg cuggggguucc uggggauagg auuugcuucc ugucacaaau cacauugcca</b>	<b>60</b>
10	<b>gggauuucca accgaccug a</b>	<b>81</b>
15	<210> 53 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 53	
	<b>cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg</b>	<b>60</b>
20	<b>aacaggag</b>	<b>68</b>
25	<210> 54 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 54	
	<b>cucugccucc cgugccuacu gagcugaaac acaguugguu uguguacacu ggcucaguuc</b>	<b>60</b>
30	<b>agcaggaaca ggg</b>	<b>73</b>
35	<210> 55 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 55	
	<b>cccugggcuc ugcccuccgu gccuacugag cugaaacaca guugguuugu guacacuggc</b>	<b>60</b>
40	<b>ucaguucagc aggaacaggg g</b>	<b>81</b>
	<210> 56 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 56	
45	<b>cccuccggug ccuacugagc ugauaucagu ucucauuua cacacuggcu caguucagca</b>	<b>60</b>
	<b>ggaacagcau c</b>	<b>71</b>
	<210> 57 <211> 84 <212> ARN	

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 57		
	<b>ggéćaguguu gagaggegga gacuugggca auugcuggac gcugcccugg gcauugcacu</b>	<b>60</b>	
5	<b>ugucucgguc ugacagugcc ggcc</b>	<b>84</b>	
	<210> 58		
	<211> 86		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 58		
	<b>aggccguggc cucguucaag uaauccagga uaggcugugc aggucccaau ggccuauuu</b>	<b>60</b>	
15	<b>gguuacuugc acggggacgc gggccu</b>	<b>86</b>	
	<210> 59		
	<211> 77		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 59		
	<b>guggccucgu ucaaguaauc caggauaggc ugugcagguc ccaaugggcc uauucuuugu</b>	<b>60</b>	
	<b>uacuugcacg gggacgc</b>	<b>77</b>	
25	<210> 60		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 60		
	<b>ggcuguggcu ggauucaagu aauccaggau aggcuguuuc caucugugag gccuauuuu</b>	<b>60</b>	
	<b>gauuacuugu uucuggaggc agcu</b>	<b>84</b>	
35	<210> 61		
	<211> 77		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 61		
	<b>ccgggacca guucaaguaa uucaggauag guugugugcu guccagccug uucuccauua</b>	<b>60</b>	
	<b>cuuggcucgg ggaccgg</b>	<b>77</b>	
45	<210> 62		
	<211> 78		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 62		
	<b>cugaggagca gggcuuagcu gcuugugagc aggguccaca ccaagucgug uucacagugg</b>	<b>60</b>	
50	<b>cuaaguuccg cccccag</b>	<b>78</b>	

ES 2 526 787 T3

	<210> 63		
	<211> 73		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 63		
	<b>aggugcagag cuagcugau uggugaacag ugauugguuu ccgcuuguu cacaguggcu</b>	<b>60</b>	
	<b>aaguucugca ccu</b>	<b>73</b>	
10	<210> 64		
	<211> 97		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 64		
	<b>accucucuaa caagugcag agcuuagcug auuggugaac agugauuggu uuccgcuug</b>	<b>60</b>	
	<b>uucacagugg cuaaguucug caccugaaga gaaggug</b>	<b>97</b>	
20	<210> 65		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 65		
	<b>ccugaggagc agggcuuagc ugcuuugagag caggguccac accaagucgu guucacagug</b>	<b>60</b>	
	<b>gcuaaguucc gccccccagg</b>	<b>80</b>	
30	<210> 66		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 66		
	<b>gguccuugcc cucaaggagc ucacagucua uugaguuacc uuucugacuu ucccacuaga</b>	<b>60</b>	
	<b>uugugagcuc cuggagggca ggcacu</b>	<b>86</b>	
40	<210> 67		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 67		
	<b>ccuucuguga ccccuagag gaugacugau uucuuuuggu guucagaguc aauauuuuu</b>	<b>60</b>	
45	<b>ucuagcacca ucugaaucg guuuuuuuga uuggggaaga gcaccaug</b>	<b>108</b>	
50	<210> 68		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 68		



	<b>augacugauu ucuuuuggug uucagaguca auauuuuuu cuagcaccu cugaaucgg</b>	<b>60</b>
	<b>uuau</b>	<b>64</b>
5	<210> 69 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 69	
	<b>cuucaggaag cugguucau auggugguuu agauuuuuu agugauuguc uagcaccuu</b>	<b>60</b>
10	<b>ugaaucagu guucuugggg g</b>	<b>81</b>
15	<210> 70 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 70	
	<b>cuucuggaag cugguuucac auggugguuu agauuuuuu aucuuuguau cuagcaccu</b>	<b>60</b>
20	<b>uugaaucag uguuuuagga g</b>	<b>81</b>
25	<210> 71 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 71	
	<b>accacuggcc caucucuac acagguccac agauuuuucc ugguguucag agucuguuuu</b>	<b>60</b>
	<b>ugucuagcac cauuugaaau cgguuuagau guagggggaa aagcagcagc</b>	<b>110</b>
30	<210> 72 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 72	
	<b>gagacuguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gaugggcuuu cagucggau</b>	<b>60</b>
	<b>uuugcagcug c</b>	<b>71</b>
40	<210> 73 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 73 auguaacau ccuacacuca gcuguauuac auggauuggc ugggaggugg auguuuacgu	60
50	<210> 74 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 526 787 T3

	<400> 74		
		<b>accaaguuuc aguucaugua aacauccuac acucagcugu aaucaugga uggcuggga</b>	<b>60</b>
		<b>gguggauguu uacuucagcu gacuugga</b>	<b>88</b>
5	<210> 75 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 75		
		<b>agauacugua acauccuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug</b>	<b>60</b>
		<b>uuuacucuuu cu</b>	<b>72</b>
15	<210> 76 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 76		
		<b>guuguuguaa acauccccga cuggaagcug uaagacacag cuaagcuuuc agucagaugu</b>	<b>60</b>
		<b>uugcugcuac</b>	<b>70</b>
25	<210> 77 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 77		
		<b>cuguaaacau ccuugacugg aagcuguaag guguucagag gagcuuucag ucgganguuu</b>	<b>60</b>
30		<b>acag</b>	<b>64</b>
35	<210> 78 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 78		
		<b>ggagaggagg caagaucug gcauagcugu ugaacuggga accugcuauug ccaacauuu</b>	<b>60</b>
		<b>gccaucuuuc c</b>	<b>71</b>
40	<210> 79 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 79		
		<b>ggagauuuug cacuuacua aguugcaugu ugucacggcc ucaaugcaau uuagugugug</b>	<b>60</b>
		<b>ugauuuuuc</b>	<b>70</b>
50	<210> 80 <211> 110		

ES 2 526 787 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 80		
5		<b>gggggcccgag agaggcgggc ggccccgcgg ugcauugcug uugcauugca cgugugugag</b>	<b>60</b>
		<b>gcgggugcag ugccucggca gugcagcccg gagccggccc cuggcaccac</b>	<b>110</b>
	<210> 81		
	<211> 88		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 81		
15		<b>accaaguuuu aguucaugua aacaucuuac acucagcugu aauacaugga uuggcuggga</b>	<b>60</b>
		<b>gguggauguu uacuucagcu gacuugga</b>	<b>88</b>
	<210> 82		
20	<211> 69		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 82		
25		<b>cuguggugca uuguaguugc auugcauguu cuggugguac ccaugcaaug uuuccacagu</b>	<b>60</b>
		<b>gcaucacag</b>	<b>69</b>
	<210> 83		
30	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 83		
35		<b>ggccagcugu gaguguuucu uuggcagugu cuuagcuggu uguugugagc aauaguaagg</b>	<b>60</b>
		<b>aagcaaucag caaguauacu gcccuagaag ugcugcacgu uguggggccc</b>	<b>110</b>
	<210> 84		
40	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 84		
45		<b>gugcucgguu uguaggcagu gucauuagcu gauuguacug uggugguuac aaucacuaac</b>	<b>60</b>
		<b>uccacugcca ucaaaacaag gcac</b>	<b>84</b>
	<210> 85		
	<211> 77		
50	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 85		

	<b>agucuaguua cuaggcagug uaguuagcug auugcuaaua guaccaauca cuaaccacac</b>	<b>60</b>
	<b>ggccagguaa aaagauu</b>	<b>77</b>
5	<210> 86 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>  <400> 86	
	<b>ucagaauaau gucaaagugc uuacagugca gguagugaua ugugcaucua cugcagugaa</b>	<b>60</b>
10	<b>ggcacuugua gcauuuggu ga</b>	<b>82</b>
15	<210> 87 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>  <400> 87	
	<b>cuuucuacac agguugggau cggugcaau gcuguguuuc uguuugguau ugcacuuguc</b>	<b>60</b>
20	<b>ccggccuguu gaguuugg</b>	<b>78</b>
25	<210> 88 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>  <400> 88	
	<b>ucaucccugg guggggauuu guugcauuac uuguguuca uauaaaguau ugcacuuguc</b>	<b>60</b>
30	<b>ccggccugug gaaga</b>	<b>75</b>
35	<210> 89 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>  <400> 89	
	<b>cugggggcuc caaagugcug uucgugcagg uagugugauu acccaaccua cugcugagcu</b>	<b>60</b>
40	<b>agcacuuccc gagccccgg</b>	<b>80</b>
45	<210> 90 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>  <400> 90	
	<b>aacacagugg gcacucaaua aaugucuguu gaaugaaaau goguacauu caacggguau</b>	<b>60</b>
	<b>uuauugagca cccacucugu g</b>	<b>81</b>
	<210> 91	

ES 2 526 787 T3

	<211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 91		
	<b>uggccgauuu uggcacuagc acauuuuugc uugugucucu ccgcucugag caaucaugug</b>	<b>60</b>	
	<b>cagugccaau augggaaa</b>	<b>78</b>	
10	<210> 92 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 92		
	<b>gugagcgacu guaaacaucc ucgacuggaa gcugugaagc cacagauggg cuuucagucg</b>	<b>60</b>	
	<b>gauguuugca gcugccuacu</b>	<b>80</b>	
20	<210> 93 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 93		
	<b>gugagguagu aaguuguauu guuguggggu agggauauua ggccccauu agaagauaac</b>	<b>60</b>	
25	<b>uauacaacuu acuacuuucc</b>	<b>80</b>	
30	<210> 94 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 94		
	<b>ggcaccacc cguagaaccg accuugcggg gccuucgccg cacacaagcu cgugucugug</b>	<b>60</b>	
35	<b>gguccguguc</b>	<b>70</b>	
40	<210> 95 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 95		
	<b>ccc auuggca uaaaccgua gauccgaucu uguggugaag uggaccgcac aagcucgcuu</b>	<b>60</b>	
	<b>cuaugggucu gugucagugu g</b>	<b>81</b>	
45	<210> 96 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 96		

ES 2 526 787 T3

	<b>aagagagaag auauugaggc cuguugccac aaaccgguag auccgaacuu gugguauuag</b>	<b>60</b>
	<b>uccgcacaag cuuguaucua uagguaugug ucuguuaggc aaucucac</b>	<b>108</b>
	<210> 97	
	<211> 80	
5	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 97	
	<b>ccuguugcca caaaccgguu gaucggaacu ugugguauua guccgcacaa gcuuguaucu</b>	<b>60</b>
10	<b>auagguauugu gucuguuagg</b>	<b>80</b>
	<210> 98	
	<211> 110	
15	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 98	
	<b>aggcugcccu ggcucaguuu ucacagugcu gaugcugucu auucuaaagg uacaguacug</b>	<b>60</b>
20	<b>ugauaacuga aggauggcag ccaucuuacc uuccaucaga ggagccucac</b>	<b>110</b>
	<210> 99	
	<211> 57	
	<212> ARN	
25	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 99	
	ucaguuauc cagugcugau gcuguccauu cuaaagguac aguacuguga uaacuga 57	
30	<210> 100	
	<211> 75	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 100	
	<b>ugcccuggcu caguuaucac agugcugaug cugucuauuc uaaagguaca guacugugau</b>	<b>60</b>
	<b>aacugaagga uggca</b>	<b>75</b>
	<210> 101	
40	<211> 79	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 101	
	<b>acuguccuuu uucgguuauc augguaccga ugcuguauau cugaaaggua caguacugug</b>	<b>60</b>
45	<b>auaacugaag aaugguggu</b>	<b>79</b>
	<210> 102	
	<211> 75	
50	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 102	

	<b>uguccuuuuu cgguuaucau gguaccgaug cuguauaucu gaaagguaca guacugugau</b>	<b>60</b>
	<b>aacugaagaa uggug</b>	<b>75</b>
5	<210> 103 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 103	
	<b>cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaccou</b>	<b>60</b>
10	<b>uugaaaucag uguuuuagga g</b>	<b>81</b>
15	<210> 104 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 104	
	<b>cuucaggaag cugguuucau auggugguuu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccou</b>	<b>60</b>
20	<b>ugaaaucagu guucuugggg g</b>	<b>81</b>
25	<210> 105 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 105	
	<b>uugugcuuuc agcuucuuu cagugcugcc uuguagcauu caggucaagc aacauuguc</b>	<b>60</b>
30	<b>agggcuauga aagaacca</b>	<b>78</b>
35	<210> 106 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 106	
	<b>uacugcccuc ggcuuuuu cagugcugcc uuguugcauu uggaucaagc agcauuguc</b>	<b>60</b>
40	<b>agggcuauga aggcaug</b>	<b>78</b>
45	<210> 107 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 107	
	<b>aaaugucaga cagcccucg acugguguug ccaugagauu caacagucaa caucagucug</b>	<b>60</b>
	<b>auaagcuacc cgacaagg</b>	<b>78</b>
	<210> 108 <211> 81	

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 108		
5		<b>ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cucaugcacc acggauguuu</b>	<b>60</b>
		<b>gagcaugugc uacggugucu a</b>	<b>81</b>
	<210> 109		
	<211> 81		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 109		
		<b>ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cuuauugcacc acggauguuu</b>	<b>60</b>
15		<b>gagcaugugc uauuggugucu a</b>	<b>81</b>
	<210> 110		
	<211> 81		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 110		
		<b>ccuuggccau guaaaagugc uuacagugca gguagcuuuu ugagaucuac ugcaauguaa</b>	<b>60</b>
25		<b>gcacuucua cauuaccaug g</b>	<b>81</b>
	<210> 111		
	<211> 82		
30	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 111		
		<b>ccugccgggg cuaaaagugc gacagugcag auaguggucc ucuccgugcu accgcacugu</b>	<b>60</b>
35		<b>ggguacuugc ugcuccagca gg</b>	<b>82</b>
	<210> 112		
	<211> 81		
40	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 112		
		<b>cucucugcuu ucagcuucu uacaguguug ccuuguggca uggaguucua gcagcauugu</b>	<b>60</b>
45		<b>acagggcuau caaagcacag a</b>	<b>81</b>
	<210> 113		
	<211> 90		
50	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 113		
		<b>acacugcaag aacaauaagg auuuuaggg gcauuauugac ugagucagaa aacacagcug</b>	<b>60</b>
50		<b>ccccugaaag ucccucuuu uucugcugu</b>	<b>90</b>



ES 2 526 787 T3

	<210> 114		
	<211> 80		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 114		
	<b>acugcaagag caauaaggau uuuuaggggc auuauugauag uggaauggaa acacaucugc</b>	<b>60</b>	
	<b>ccccaaaagu ccucuuuuu</b>	<b>80</b>	
10			
	<210> 115		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15			
	<400> 115		
	<b>ccuuagcaga gcuguggagu gugacaaugg uguuuguguc uaaacuauca aacgccauua</b>	<b>60</b>	
	<b>ucacacuaaa uagcuacugc uaggc</b>	<b>85</b>	
20			
	<210> 116		
	<211> 66		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25			
	<400> 116		
	<b>agcuguggag ugugacaauug guguuugugu ccaaacuauc aaacgccauu aucacacuaa</b>	<b>60</b>	
	<b>auagcu</b>	<b>66</b>	
30			
	<210> 117		
	<211> 61		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35			
	<400> 117		
	<b>acauuuuuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uaauauggcg</b>	<b>60</b>	
	<b>c</b>	<b>61</b>	
40			
	<210> 118		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 118		
	<b>aggccucucu cuccguguuc acagcggacc uugauuuuaa uguccauaca auuaaggcac</b>	<b>60</b>	
45			
	<b>gcggugaaug ccaagaaugg ggcug</b>	<b>85</b>	
50			
	<210> 119		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 119		

ES 2 526 787 T3

	<b>aucaagauua gaggcucugc ucuccguguu cacagcggac cuugauuuua ugucauacaa</b>	<b>60</b>
	<b>uuuaggcacg cggugaaugc caagagcggga gccuacggcu gcacuugaag</b>	<b>110</b>
5	<210> 120 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 120	
	<b>ugagggcccc ucugcguguu cacagcggac cuugauuuua ugucauacaa auuaggcac</b>	<b>60</b>
10	<b>gcgugaaug ccaagagagg cgccucc</b>	<b>87</b>
15	<210> 121 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 121	
	<b>cucugcgugu ucacagcggga ccuugauuuua augucauac auuaggca cggugaaug</b>	<b>60</b>
20	<b>gccaagag</b>	<b>68</b>
25	<210> 122 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 122	
	<b>cucuccgugu ucacagcggga ccuugauuuua augucauac auuaggcac gcgugaaug</b>	<b>60</b>
30	<b>ccaagag</b>	<b>67</b>
35	<210> 123 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 123	
	<b>ugccagucuc uagguccug agaccuuua accugugagg acauccaggg ucacagguga</b>	<b>60</b>
	<b>gguuccuggg agccuggcgu cuggcc</b>	<b>86</b>
40	<210> 124 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 124	
	<b>gguccugag accuuuaac cugugaggac auccagguc acaggugagg uuccugggag</b>	<b>60</b>
45	<b>ccugg</b>	<b>65</b>
50	<210> 125 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 526 787 T3

	<400> 125		
		<b>ugcgcuccuc ucaguccug agaccuaac uugugauguu uaccguuuua auccacgggu</b>	<b>60</b>
		<b>uaggcucuug ggagcugcga gucgugcu</b>	<b>88</b>
5			
	<210> 126		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 126		
		<b>accagacuuu uccuagucc ugagaccua acuuugugagg uauuuagua acaucacaag</b>	<b>60</b>
		<b>ucaggcucuu gggaccuagg cggagggga</b>	<b>89</b>
15			
	<210> 127		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20			
	<400> 127		
		<b>cgcuggcgac gggacauuau uacuuuuggu acgcgcugug acacucaaa cucguaccgu</b>	<b>60</b>
		<b>gaguaauau gcgcgucca cggca</b>	<b>85</b>
25			
	<210> 128		
	<211> 61		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 128		
		<b>acauuauuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uauuaugcg</b>	<b>60</b>
		<b>c</b>	<b>61</b>
35			
	<210> 129		
	<211> 97		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40			
	<400> 129		
		<b>ugugaucacu gucuccagcc ugcugaagcu cagagggcuc ugauucagaa agauaucgg</b>	<b>60</b>
		<b>auccgucuga gcuuggcugg ucggaagucu caucauc</b>	<b>97</b>
45			
	<210> 130		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50			
	<400> 130		
		<b>ccagccugcu gaagcucaga gggcucugau ucagaaagau caucggaucc gucugagcuu</b>	<b>60</b>
		<b>ggcuggucgg</b>	<b>70</b>

ES 2 526 787 T3

	<210> 131		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 131		
	<b>ugagcuguug gauucggggc cguagcacug ucugagaggu uuacauucu cacagugaac</b>	<b>60</b>	
	<b>cggucucuuu uucagcugcu uc</b>	<b>82</b>	
10	<210> 132		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 132		
	<b>gcccggcagc cacugugcag ugggaagggg ggccgauaca cuguacgaga gugaguagca</b>	<b>60</b>	
	<b>ggucucacag ugaaccgguc ucuuuccua cugugucaca succuaaugg</b>	<b>110</b>	
20	<210> 133		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 133		
	<b>guuggauucg gggccguagc acugucugag agguuuacau uucucacagu gaaccggucu</b>	<b>60</b>	
	<b>cuuuucagc</b>	<b>70</b>	
30	<210> 134		
	<211> 74		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 134		
	<b>uggaucuuuu ugccgucugg gcuugcuguu ccucucaaca guagucagga agcccuuacc</b>	<b>60</b>	
35	<b>ccaaaagua ucua</b>	<b>74</b>	
40	<210> 135		
	<211> 90		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 135		
	<b>ugcccuucgc gaaucuuuuu gcgguucuggg cuugcuguac auaacucaau agccggaagc</b>	<b>60</b>	
	<b>ccuuacccca aaaagcauuu gcggagggcg</b>	<b>90</b>	
45	<210> 136		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 136		

	<b>ugcugcuggc cagagcucuu uucacauugu gcuacugucu gcaccuguca cuagcagugc</b>	<b>60</b>
	<b>aauguuaaaa gggcauuggc cguguagug</b>	<b>89</b>
5	<210> 137 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 137	
	<b>gccaggaggc gggguugguu guuauuuug guuauucuagc uguaugagug guguggaguc</b>	<b>60</b>
10	<b>uucauaaagc uagauaaccg aaaguaaaa uaaccccaua cacugcgag</b>	<b>110</b>
15	<210> 138 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 138	
	<b>cacggcgagg cagcggcacu ggcuaaggga ggcccguuuc ucucuuggu uaucuagcug</b>	<b>60</b>
20	<b>uauaguggcc acagagccgu cauaaagcua gauaacccgaa aguagaaug</b>	<b>110</b>
25	<210> 139 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 139	
	<b>guuguuauuc uugguuauuc agcuguauga guguauggu cuucauaaag cuagauaacc</b>	<b>60</b>
	<b>gaaaguaaaa ac</b>	<b>72</b>
30	<210> 140 <211> 101 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 140	
	<b>ccgccccgc gucuccaggc caaccguggc uuucgauugu uacuguggga acuggaggua</b>	<b>60</b>
	<b>acagucuaca gccauggucg ccccgagca cggccacgag c</b>	<b>101</b>
40	<210> 141 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 141	
	<b>gggcaaccgu ggcuuucgau uguuacugug ggaacuggag gaaacagucu acagccaugg</b>	<b>60</b>
	<b>ucgccc</b>	<b>66</b>
50	<210> 142 <211> 88 <212> ARN	

ES 2 526 787 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 142		
	<b>acaauugcuuu gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuucaaug gauuuggucc</b>	<b>60</b>	
5	<b>ccuucaacca gcuguagcua ugcauuga</b>	<b>88</b>	
	<210> 143		
	<211> 102		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 143		
	<b>gggagccaaa ugcuuugcua gagcugguaa aauggaacca aaucgacugu ccaauuggauu</b>	<b>60</b>	
	<b>ugguucccuu caaccagcug uagcugugca uugauggcgc cg</b>	<b>102</b>	
15	<210> 144		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 144		
	<b>gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuucaaug gauuuggucc ccuucaacca</b>	<b>60</b>	
	<b>gcuguagc</b>	<b>68</b>	
25	<210> 145		
	<211> 119		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 145		
30	<b>ccucagaaga aagaugcccc cugcucuggc uggucaaaacg gaaccaaguc cgucuuccug</b>	<b>60</b>	
	<b>agagguuugg uccccucaa ccagcuacag cagggcuggc aaugcccagu ccuuggaga</b>	<b>119</b>	
	<210> 146		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 146		
	<b>gccccugcu cuggcugguc aaacggaacc aaguccgucu uccugagagg uuugguuccc</b>	<b>60</b>	
40	<b>uucaaccagc uacagcaggg</b>	<b>80</b>	
	<210> 147		
	<211> 73		
	<212> ARN		
45	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 147		
	<b>cagggugugu gacugguuga ccagaggggc augcacugug uucacccugu gggccaccua</b>	<b>60</b>	
	<b>gucaccaacc cuc</b>	<b>73</b>	
50			

ES 2 526 787 T3

	<210> 148		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 148		
	<b>aggguugugug acugguugac cagaggggca ugcacugugu ucaccugug gccaccuag</b>	<b>60</b>	
	<b>ucaccaaccc u</b>	<b>71</b>	
10	<210> 149		
	<211> 90		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 149		
	<b>aggccucgcu guucucuauq gcuuuuuauu ccuauqugau ucuacugcuc acucauauag</b>	<b>60</b>	
	<b>ggauugggagc cgugggcgac ggcggggaca</b>	<b>90</b>	
20	<210> 150		
	<211> 100		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 150		
	<b>agauaaaauuc acucuagugc uuuauggcuu uuuaauccua ugugauagua auaaagucuc</b>	<b>60</b>	
	<b>auguagggau ggaagccaug aaauacauug ugaaaaauca</b>	<b>100</b>	
30	<210> 151		
	<211> 60		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 151		
	cuauggcuu uuauuccuau gugauucac uqcucacuca uauagggauu ggagccgugg	60	
	<210> 152		
	<211> 97		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 152		
	<b>.cacucugcug uggccuauqg cuuuucauuc cuauqugauu gcugucccaa acucauauag</b>	<b>60</b>	
	<b>ggcuaaaagc caugggcuac agugaggggc gagcucc</b>	<b>97</b>	
45	<210> 153		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 153		
	<b>ugagcccucg gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuauqucca ucaucgucuc</b>	<b>60</b>	
	<b>aaauqagucu ucagaggguu cu</b>	<b>82</b>	

	<210> 154		
	<211> 62		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 154		
	<b>gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc aaugagucu</b>	<b>60</b>	
	<b>uc</b>	<b>62</b>	
10	<210> 155		
	<211> 73		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 155		
	<b>cuucggugac gggauuucu ggguggauaa uacggauuac guuguuauug cuuaagaaua</b>	<b>60</b>	
	<b>cgcguaugcg agg</b>	<b>73</b>	
20	<210> 156		
	<211> 99		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 156		
	<b>cccuggcaug gugugguggg gcagcuggug uugugaauca ggccguugcc aaucagagaa</b>	<b>60</b>	
	<b>cgguacuuc acaacaccag ggccacacca cacuacagg</b>	<b>99</b>	
30	<210> 157		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 157		
	<b>cguugcugca gcugguguug ugaaucaggc cgacgagcag cgcauccucu uaccggcua</b>	<b>60</b>	
35	<b>uuucacgaca ccaggguugc auca</b>	<b>84</b>	
40	<210> 158		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 158		
	<b>cagcuggugu ugugaaucag gccgacgagc agcgcauccu cuuaccggc uuuucaega</b>	<b>60</b>	
	<b>caccagguu g</b>	<b>71</b>	
45	<210> 159		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 159		



	<b>guguauucua cagugcacgu gucuccagug uggcucggag gcuggagacg cggcccuguu</b>	<b>60</b>
	<b>ggaguaac</b>	<b>68</b>
5	<210> 160 <211> 100 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 160	
	<b>ugugucucuc ucuguguccu gccagugguu uuaccuauug guagguuacg ucaugcuguu</b>	<b>60</b>
10	<b>cuaccacagg guagaaccac ggacaggaua cgggggcacc</b>	<b>100</b>
15	<210> 161 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 161	
	<b>uccugccagu gguuuuacc uaugguaggu uacgucaugc uguucuacca cagguagaa</b>	<b>60</b>
20	<b>ccacggacag ga</b>	<b>72</b>
25	<210> 162 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 162	
	<b>ccugccagug guuuuaccu augguaggu acgucaugc guucuaccac agguagaa</b>	<b>60</b>
30	<b>cacggacagg</b>	<b>70</b>
35	<210> 163 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 163	
	<b>cgccggccc uggguccauc uuccaguaca guguuggaug gucuauugu gaaguccua</b>	<b>60</b>
40	<b>acacugucug guaaagugg cuccgggug gguuc</b>	<b>95</b>
45	<210> 164 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 164	
	<b>ggguccauc uccaguacag uguuggaug ucuaauugug aagcuccua cacugucugg</b>	<b>60</b>
50	<b>uaaagauggc cc</b>	<b>72</b>
	<210> 165 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 526 787 T3

	<400> 165		
		<b>acccauaaaag uagaaagcac uacuaacagc acuggaggggu guaguguuuc cuacuuuauag</b>	<b>60</b>
		<b>gaug</b>	<b>64</b>
5			
	<210> 166		
	<211> 106		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 166		
		<b>ggcgagcgcc cugucuccca gccugaggug cagugcugca ucucugguca guugggaguc</b>	<b>60</b>
		<b>ugagaugaag cacuguagcu caggaagaga gaaguuguuc ugcagc</b>	<b>106</b>
15			
	<210> 167		
	<211> 63		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20			
	<400> 167		
		<b>ccugaggugc agugcugcau cucuggucag uugggagucu gagaugaagc acuguagcuc</b>	<b>60</b>
		<b>agg</b>	<b>63</b>
25			
	<210> 168		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 168		
		<b>uggggcccug gcugggauau caucauauac uguaaguuug cgaugagaca cuacaguaua</b>	<b>60</b>
		<b>gaugauguac uaguccgggc accccc</b>	<b>86</b>
35			
	<210> 169		
	<211> 66		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 169		
		<b>ggcuggggaau ucaucauaua cuguaaguuu gcgaugagac acuacaguau agaugaugua</b>	<b>60</b>
		<b>cuaguc</b>	<b>66</b>
40			
	<210> 170		
	<211> 88		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45			
	<400> 170		

	<b>caccuugucc ucacggucca guuuucccag gaaucccuua gaugcuaaga uggggauucc</b>	<b>60</b>
	<b>uggaaauacu guucuuugagg ucaugguu</b>	<b>88</b>
5	<210> 171 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>  <400> 171	
	<b>cucacggucc aguuuuuccca ggaaucccuu agaugcuaag auggggauuc cuggaaauac</b>	<b>60</b>
10	<b>uguucuuugag</b>	<b>70</b>
15	<210> 172 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>  <400> 172	
	<b>ccgaugugua uccucagcuu ugagaacuga auuccauggg uuugugcagu gucagaccuc</b>	<b>60</b>
20	<b>ugaaauucag uucuuucagcu gggauaucuc ugucaucgu</b>	<b>99</b>
25	<210> 173 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>  <400> 173	
	<b>agcuuugaga acugaauucc augggguugug ucagugucag accugugaaa uucaguucuu</b>	<b>60</b>
30	<b>cagcu</b>	<b>65</b>
35	<210> 174 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>  <400> 174	
	<b>aaucuaaaga caacauuucu gcacacacac cagacuauagg aagccagugu guggaaauc</b>	<b>60</b>
40	<b>uucugcuaga uu</b>	<b>72</b>
45	<210> 175 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>  <400> 175	
	<b>gaggcaaagu ucugagacac uccgacucug aguau gauag aagucagugc acuacagaac</b>	<b>60</b>
	<b>uuugucuc</b>	<b>68</b>
	<210> 176	

ES 2 526 787 T3

	<211> 99		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 176		
	<b>caagcaccgau uagcauuuga ggugaaguuc uguuauacac ucaggcugug gcucucugaa</b>	<b>60</b>	
	<b>agucagugca ucacagaacu uugucucgaa agcuuucua</b>	<b>99</b>	
10	<210> 177		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 177		
	<b>aagcaccgau agcauuugag gugaaguucu guuauacacu caggcugugg cucucugaaa</b>	<b>60</b>	
	<b>gucagugcau</b>	<b>70</b>	
20	<210> 178		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 178		
	<b>gccggcgccc gagcucuggc uccgugucu cacucccgug cuuguccgag gagggaggga</b>	<b>60</b>	
	<b>gggacggggg cugugcuggg gcagcugga</b>	<b>89</b>	
30	<210> 179		
	<211> 53		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 179		
	gcucuggcuc cgugucuca cucccgugcu uguccgagga gggaggagg gac	53	
40	<210> 180		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 180		
	<b>cucccaugg ccugucucc caaccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg</b>	<b>60</b>	
	<b>ccugggggac agggaccugg ggac</b>	<b>84</b>	
50	<210> 181		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
55	<400> 181		
	<b>ccugucucc caaccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg ccugggggac</b>	<b>60</b>	
	<b>aggg</b>	<b>64</b>	
55	<210> 182		
	<211> 72		

ES 2 526 787 T3

<212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 182

**uuuccugccc ucgaggagcu cacagucuaq uaugucucau ccccuacuag acugaagcuc 60**

5 **cuugaggaca gg 72**

<210> 183  
 <211> 69  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

10

<400> 183

**ccuguccuca aggagcuuca gucuaguagq ggaugagaca uacuagacug ugagcuccuc 60**

**gagggcagq 69**

15

<210> 184  
 <211> 87  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

20

<400> 184

**uguccecccc ggccagguu cugugauaca cuccgacucq ggcucuggag cagucagugc 60**

**augacagaac uugggccccg aaggacc 87**

25

<210> 185  
 <211> 71  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

30

<400> 185

**ggccagguu cugugauaca cuccgacucq ggcucuggag cagucagugc augacagaac 60**

**uugggccccg g 71**

35

<210> 186  
 <211> 90  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

40

<400> 186

**cucacagcug ccagugucau uuuugugauc ugcagcuagu auucucacuc caguugcaua 60**

**gucacaaaag ugaucuuugq caggugugc 90**

45

<210> 187  
 <211> 71  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 187

	<b>ucucucucuc ccucacagcu gccaguguca uugucacaaa agugaucauu ggcaggugug</b>	<b>60</b>
	<b>gcugcugcau g</b>	<b>71</b>
5	<210> 188 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 188	
	<b>agcgguggcc agugucauuu uugugauguu gcagcuagua auaugagccc aguugcauag</b>	<b>60</b>
10	<b>ucacaaaagu gaucauugga aacugug</b>	<b>87</b>
15	<210> 189 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 189	
	<b>cagugucauu uuugugaugu ugcagcuagu aauaugagcc caguugcaua gucacaaaag</b>	<b>60</b>
20	<b>ugaucauug</b>	<b>69</b>
25	<210> 190 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 190	
	<b>gugguacuug aagauagguu auccguguug ccuucgcuu auuugugacg aaucuuacac</b>	<b>60</b>
30	<b>gguugaccua uuuucagua ccaa</b>	<b>84</b>
35	<210> 191 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 191	
	<b>gaagauaggu uauccguguu gccuucgcuu auuugugac gaucuuaca cguugaccu</b>	<b>60</b>
40	<b>auuuuu</b>	<b>66</b>
	<210> 192 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 192	
	<b>cuguuaaugc uauccgugau agggguuuu gccuccaacu gacuccuaca uauuagcauu</b>	<b>60</b>
45	<b>aacag</b>	<b>65</b>
50	<210> 193 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 526 787 T3

	<400> 193		
		<b>ccuaacacug ucugguaaag auggcucccg gguggguucu cucggcagua accuucaggg</b>	<b>60</b>
		<b>agcccugaaag accauggagg ac</b>	<b>82</b>
5			
	<210> 194		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 194		
		<b>gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cugcucuccc</b>	<b>60</b>
		<b>cucuggcugc caauuccaua ggucacaggu auguucgocu caaugccagc</b>	<b>110</b>
15			
	<210> 195		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20			
	<400> 195		
		<b>ucccgcccc uguaacagca acuccaugug gaagugccca cugguuccag uggggcugcu</b>	<b>60</b>
		<b>guuauucuggg gcgagggcca</b>	<b>80</b>
25			
	<210> 196		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 196		
		<b>aaagcugggu ugagagggcg aaaaagggaug aggugacugg ucugggcuac gcuaugcugc</b>	<b>60</b>
		<b>ggcgcucggg</b>	<b>70</b>
35			
	<210> 197		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40			
	<400> 197		
		<b>cauuggccuc cuaagccagg gauugugggu ucgaguccca cccgggguaa agaaaggccg</b>	<b>60</b>
		<b>aauu</b>	<b>64</b>
45			
	<210> 198		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50			
	<400> 198		
		<b>ccuaagccag ggauuguggg uucgaguccc accuggggua gaggugaaag uccuuuuac</b>	<b>60</b>
		<b>ggaauuuuuu</b>	<b>70</b>

ES 2 526 787 T3

	<210> 199		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 199		
	<b>caaugucagc agugccuag cagcacguaa auauuggcgu uaagauucia aaauuauuc</b>	<b>60</b>	
	<b>caguauuaac ugugcugcug aaguaagguu gaccuacuc uacaguug</b>	<b>108</b>	
10	<210> 200		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 200		
	<b>gggcuuucaa gucacuagug guuccguuaa guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu</b>	<b>60</b>	
	<b>gcccuaaguga cuacaaagcc c</b>	<b>81</b>	
20	<210> 201		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 201		
	<b>acgcaagugu ccuaagguga gcucagggag cacagaaacc uccaguggaa cagaagggca</b>	<b>60</b>	
	<b>aaagcucauu</b>	<b>70</b>	
30	<210> 202		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 202		
	<b>caugugucac uuucaggugg aguuucaaga gucccuuccu gguucaccgu cuccuuugcu</b>	<b>60</b>	
35	<b>cuuccacaac</b>	<b>70</b>	
40	<210> 203		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 203		
	<b>agaagggcua ucaggccagc cuucagagga cuccaaggaa cauucaacgc ugucggugag</b>	<b>60</b>	
	<b>uuugggauuu gaaaaaacca cugaccguug acuguaccuu gggguccua</b>	<b>110</b>	
45	<210> 204		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 204		



	<b>ccugugcaga gauuauuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug</b>	<b>60</b>
	<b>aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu</b>	<b>110</b>
5	<210> 205 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 205	
	<b>cugauggcug cacucaacau ucauugcugu cgguggguuu gagucugaau caacucacug</b>	<b>60</b>
10	<b>aucaaugaa gcaaacugcg gaccaaaca</b>	<b>89</b>
15	<210> 206 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 206	
	<b>cggaaaauu gccaaagguu ugggggaaca uucaaccugu cggugaguu gggcagcuca</b>	<b>60</b>
20	<b>ggcaaaccu cgaccguuga guggaccug aggccuggaa uggccauccu</b>	<b>110</b>
25	<210> 207 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 207	
	<b>gagcugcuug ccucccccg uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg</b>	<b>60</b>
30	<b>auccgguggu ucuagacuug ccaacuauagg ggcgaggacu cagccggcac</b>	<b>110</b>
35	<210> 208 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 208	
	<b>uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg auccgguggu ucuagacuug</b>	<b>60</b>
40	<b>ccaacuauagg</b>	<b>70</b>
45	<210> 209 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 209	
	<b>ccgcagagug ugacuccugu ucuguguaug gcacugguag aaucacugu gaacagucuc</b>	<b>60</b>
50	<b>agucagugaa uuaccgaagg gccauaaca gagcagagac gauccacga</b>	<b>110</b>
	<210> 210 <211> 84 <212> ARN	

ES 2 526 787 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 210		
	<b>ccagucacgu ccccuuauca cuuuuccagc ccagcuuugu gacuguaagu guuggacgga</b>	<b>60</b>	
5	<b>gaacugauaa ggguaagguga uuga</b>	<b>84</b>	
	<210> 211		
	<211> 65		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 211		
	<b>ccuuaucaacu uuuccagccc agcuuuguga cuguaagugu uggacggaga acugauaagg</b>	<b>60</b>	
	<b>guagg</b>	<b>65</b>	
15	<210> 212		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 212		
	<b>agggggcgag ggauuggaga gaaaggcagu uccugauggu cccuuccca ggggcuggcu</b>	<b>60</b>	
	<b>uuccucuggu ccuucccucc ca</b>	<b>82</b>	
25	<210> 213		
	<211> 66		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 213		
	<b>agggauugga gagaaggca guuccugaug gucccuccc caggggcugg cuuuccucug</b>	<b>60</b>	
	<b>guccuu</b>	<b>66</b>	
35	<210> 214		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 214		
	<b>ugcuuguaac uuuccaaaga auucuccuuu ugggcuuucu gguuuuuuu uaagcccaa</b>	<b>60</b>	
	<b>ggugaauuuu ugggaaguu ugagcu</b>	<b>86</b>	
45	<210> 215		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 215		
	<b>acuuuccaaa gaaucuccu uuugggcuuu cugguuuuuu uuuaagccca aaggugaauu</b>	<b>60</b>	
50	<b>uuuugggaag u</b>	<b>71</b>	

ES 2 526 787 T3

	<210> 216		
	<211> 109		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 216		
	<b>ggucgggcuc accaugacac agugugagac ucgggcuaca acacaggacc cggggcgug</b>	<b>60</b>	
	<b>cucugacccc ucgugucuug uguugcagcc ggagggacgc agguccgca</b>	<b>109</b>	
10	<210> 217		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 217		
	<b>ugcucccucu cucacaucc uugcauggug gagggugagc uuucugaaa cccucccac</b>	<b>60</b>	
	<b>augcaggguu ugcaggaug cgagcc</b>	<b>86</b>	
20	<210> 218		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 218		
	<b>ucucacaucc cuugcauggu ggagggugag cuuucugaaa accccuccca caugcagggu</b>	<b>60</b>	
	<b>uugcagga</b>	<b>68</b>	
30	<210> 219		
	<211> 102		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 219		
	<b>cugucgauug gacccgcccu ccggugcua cugagcugau aucaguucuc auuuacaca</b>	<b>60</b>	
	<b>cuggcucagu ucagcaggaa caggagucga gcccuugagc aa</b>	<b>102</b>	
35	<210> 220		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 220		
	<b>cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuaca cacuggcuca guucagcagg</b>	<b>60</b>	
	<b>aacaggag</b>	<b>68</b>	
45	<210> 221		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 221		

	<b>ugcaggccuc ugugugauau guuugauua uuagguugu auuuaucca acuaauauc</b>	<b>60</b>
	<b>aaacauauuc cuacaguguc uugcc</b>	<b>85</b>
5	<210> 222 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 222	
	<b>cugugugaua uguuugauau auuagguugu uauuuaucc aacuaauau caaacauuu</b>	<b>60</b>
10	<b>ccuacag</b>	<b>67</b>
15	<210> 223 <211> 92 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 223	
	<b>cggcuggaca gcgggcaacg gaaucacaaa agcagcuguu gucuccagag cauuccagcu</b>	<b>60</b>
20	<b>gcgcuuaggau uucguccccc gcucuccugc cu</b>	<b>92</b>
25	<210> 224 <211> 74 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 224	
	<b>agcgggcaac ggaaucccaa aagcagcugu ugucuccaga gcauuccagc ugcgcuuaggau</b>	<b>60</b>
30	<b>uuucgucccc ugcu</b>	<b>74</b>
35	<210> 225 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 225	
	<b>cagagaccga gugcacagg cucugaccua ugaauugaca gccagugcuc ucgucuccc</b>	<b>60</b>
40	<b>ucuggcugcc aaauccauag gucacaggua uguucgccuc aaugccag</b>	<b>108</b>
45	<210> 226 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 226	
	<b>gccagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucuccc</b>	<b>60</b>
50	<b>cucuggcugc caauccaua ggucacaggu auguucgccu caaugccagc</b>	<b>110</b>
	<210> 227 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

	<400> 227		
		<b>cgaggauagg agcugagggc ugggucuuug cgggcgagau gagggugucg gaucaacugg</b>	<b>60</b>
		<b>ccuacaaagu cccaguucuc ggcccccg</b>	<b>88</b>
5			
	<210> 228		
	<211> 58		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 228		
	gcugggucuu ugcgggcgag augagggugu cggaucaacu ggccuacaaa gucecagu	58	
	<210> 229		
15	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 229		
20			
	<b>augguguuau caaguguaac agcaacucca uguggacugu guaccaauuu ccaguggaga</b>	<b>60</b>	
	<b>ugcuguuacu uuugaugguu accaa</b>	<b>85</b>	
	<210> 230		
	<211> 63		
25	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 230		
	<b>guguaacagc aacuccaugu ggacugugua ccaauuucca guggagaugc uguuacuuuu</b>	<b>60</b>	
30	<b>gau</b>	<b>63</b>	
	<210> 231		
	<211> 87		
35	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 231		
	<b>agcuucccug gcucuagcag cacagaaaua uggcacagg gaagcgaguc ugccaauauu</b>	<b>60</b>	
	<b>ggcugugcug cuccaggcag gguggug</b>	<b>87</b>	
40			
	<210> 232		
	<211> 58		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45			
	<400> 232		
	uagcagcaca gaaauauugg cacaggaag cgagucugcc aauauuggcu gucugcu	58	
	<210> 233		
50	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 233		
55			

	<b>cuagagcuug aauuggaacu gcugagugaa uuagguaguu ucauguuguu gggccugggu</b>	<b>60</b>
	<b>uucugaacac aacaacauua aaccacccga uucacggcag uuacugcucc</b>	<b>110</b>
5	<210> 234 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 234	
	<b>gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc uggguuucug aacacaacaa cauuaaacca</b>	<b>60</b>
10	<b>cccgauucac</b>	<b>70</b>
15	<210> 235 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 235	
	<b>ugcucgcuca gcugaucugu ggcuuaggua guuucauguu guugggauug aguuuugaac</b>	<b>60</b>
20	<b>ucggcaacaa gaaacugccu gaguacauc agucgguuuu gcucgagggc</b>	<b>110</b>
25	<210> 236 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 236	
	<b>gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc uggguuucug aacacaacaa cauuaaacca</b>	<b>60</b>
30	<b>cccgauucac</b>	<b>70</b>
35	<210> 237 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 237	
	<b>acuggucggg gauuuaggua guuuccuguu guugggaucc accuuucucu cgacagcaag</b>	<b>60</b>
40	<b>acacugccuu cauuacuca guug</b>	<b>84</b>
45	<210> 238 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 238	
	<b>ggcugugccg gguagagagg gcagugggag guaagagcuc uucacccuuc accaccuuc</b>	<b>60</b>
50	<b>ccaccagca uggcc</b>	<b>75</b>
	<210> 239 <211> 60 <212> ARN	

ES 2 526 787 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 239		
5	gugcaugugu auguauugu gcaugugcau guguaugu augagugcau gcguguguc	60	
	<210> 240		
	<211> 62		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 240		
	<b>ucauuggucc agaggggaga uagguuccug ugauuuuucc uucucucua uagaauaaau</b>	<b>60</b>	
	<b>ga</b>	<b>62</b>	
15	<210> 241		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 241		
	<b>gcccaaccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac</b>	<b>60</b>	
	<b>auugguuagg c</b>	<b>71</b>	
25	<210> 242		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 242		
	<b>aggaagcuuc uggagauccu gcuccgucgc cccaguguuc agacuaccug uucaggacaa</b>	<b>60</b>	
	<b>ugccguugua caguagucug cacauugguu agacugggca agggagagca</b>	<b>110</b>	
35	<210> 243		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 243		
	<b>ccagaggaca ccuccacucc gcuacccag uguuuagacu aucuguucag gacucccaaa</b>	<b>60</b>	
40	<b>uuguacagua gucugcacau ugguuaggcu gggcuggguu agaccucgg</b>	<b>110</b>	
45	<210> 244		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 244		
	<b>gcccaaccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac</b>	<b>60</b>	
50	<b>auugguuagg c</b>	<b>71</b>	
	<210> 245		
	<211> 70		

ES 2 526 787 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 245		
5		<b>gco<u>g</u>ggcca ucuuacuggg cagcauugga uggagucagg ucucuaauac ugccugguaa</b>	<b>60</b>
		<b>ugaugacggc</b>	<b>70</b>
	<210> 246		
	<211> 95		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 246		
		<b>ccagcucggg cagccguggc caucuacug ggcagcauug gauggaguca ggucucuaau</b>	<b>60</b>
15		<b>acugccuggu aaugaugacg gcggagcccu gcacg</b>	<b>95</b>
	<210> 247		
	<211> 68		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 247		
		<b>cccucgucuu acccagcagu guuugggugc gguugggagu cucuaauacu gccggguaau</b>	<b>60</b>
		<b>gauggagg</b>	<b>68</b>
25			
	<210> 248		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 248		
		<b>guuccuuuu ccuaugcaua uacuucuuug aggaucuggc cuaaagaggu auagggcaug</b>	<b>60</b>
		<b>ggaagaugga gc</b>	<b>72</b>
35			
	<210> 249		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40			
	<400> 249		
		<b>guguugggga cucgcgcgcu ggguccagug guucuaaaca guucaacagu ucuguagcgc</b>	<b>60</b>
		<b>aa<u>u</u>gugaaa u<u>g</u>uuuaggac cacuagacc gccgggcccgc gcgacagcga</b>	<b>110</b>
	<210> 250		
45	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 250		
50			



	<b>ggcuacaguc uuucucaug ugacucgugg acuuccuuu gucauccuau gccugagaau</b>	<b>60</b>
	<b>auaugaagga ggcugggaag gcaaaggac guucaauugu caucacuggc</b>	<b>110</b>
5	<210> 251 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 251	
	<b>aaagauccuc agacaaucca ugugcuucuc uuguccuua uuccaccgga gucugucua</b>	<b>60</b>
10	<b>uacccaacca gauuucagug gagugaaguu caggaggcau ggagcugaca</b>	<b>110</b>
	<210> 252 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 252	
	<b>ugcuucccga ggccacaugc uucuuuauu ccccauugg auuacuugc uauggaangu</b>	<b>60</b>
20	<b>aaggaagugu gugguuucgg caagug</b>	<b>86</b>
	<210> 253 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 253	
	<b>aggccacaug cuucuuuaua ucccacauug gauuacuug cuauggaang uaaggaagug</b>	<b>60</b>
30	<b>ugugguuuu</b>	<b>69</b>
	<210> 254 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 254	
	<b>ugacgggcga gcuuuuggcc cggguuuuac cugaugcuca cguuaagac gagcaaaaag</b>	<b>60</b>
	<b>cuuguugguc a</b>	<b>71</b>
40	<210> 255 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 255	
45	<b>accggcagu gccuccaggc gcagggcagc cccugcccac cgcacacugc gcugccccag</b>	<b>60</b>
	<b>accacugug cgugugacag cggcugaucu gugccugggc agcgcgacc</b>	<b>110</b>
	<210> 256 <211> 110	

ES 2 526 787 T3

<212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 256  
 5  
     **ucaccuggcc augugacuug ugggcuucc uuugucaucc ucgccuagc gcucugagca**      **60**  
     **gggcagggac agcaaagggg ugcucaguug ucacuuecca cagcacggag**      **110**

<210> 257  
 <211> 110  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 257  
 10  
     **cggggcaccc cgcccggaca gcgcgccggc accuuggcuc uagacugcuu acugcccggg**      **60**  
     **ccgcccucag uaacagucuc cagucacggc caccgacgcc uggccccgcc**      **110**

<210> 258  
 <211> 110  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 258  
 15  
     **ccugugcaga gauuauuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug**      **60**  
     **aacugugugg acaagcucac ugaacauga augcaacugu ggccccgcuu**      **110**

<210> 259  
 <211> 108  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 259  
 20  
     **gaguuugag guugcuucag ugaacauca acgcugucgg ugaguuugga auuaaaauca**      **60**  
     **aaaccaucga ccguugauug uaccuauagg cuaaccauca ucuacucc**      **108**

<210> 260  
 <211> 110  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 260  
 25  
     **ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc**      **60**  
     **gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu**      **110**

<210> 261  
 <211> 110  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 261  
 30  
     **ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc**      **60**  
     **gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu**      **110**

<210> 261  
 <211> 110  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 261  
 35  
     **ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc**      **60**  
     **gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu**      **110**

<210> 261  
 <211> 110  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 261  
 40  
     **ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc**      **60**  
     **gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu**      **110**

<210> 261  
 <211> 110  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 261  
 45  
     **ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc**      **60**  
     **gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu**      **110**

<210> 261  
 <211> 110  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 261  
 50  
     **ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc**      **60**  
     **gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu**      **110**

	<b>aucauucaga aaugguauac aggaaauga ccuaugaauu gacagacaau auagcugagu</b>	<b>60</b>
	<b>uugucuguca uuucuuuagg ccaauuuucu guaugacugu gcuacuucaa</b>	<b>110</b>
5	<210> 262 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 262	
	<b>gauggcugug aguuggcuua aucucagcug gcaacuguga gauguucaua caauccuca</b>	<b>60</b>
	<b>caguggucuc ugggauuauug cuaaacagag caauuuccua gccucacga</b>	<b>110</b>
10	<210> 263 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 263	
	<b>aguauaaaua uuacauagu uuuugaugucg cagauacugc aucaggaacu gauuggauaa</b>	<b>60</b>
	<b>gaucaguca ccaucaguuc cuaaugcauu gccuucagca ucuaaacaag</b>	<b>110</b>
20	<210> 264 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 264	
	<b>gugauaaugu agcgagauuu ucuguugugc uugaucuaac caugugguug cgagguauga</b>	<b>60</b>
	<b>guaaaacaug guuccgucaa gcaccaugga acgucacgca gcuuucuaca</b>	<b>110</b>
30	<210> 265 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 265	
	<b>gaccagucgc ugcggggcuu uccuuugugc uugaucuaac cauguggugg aacgauggaa</b>	<b>60</b>
	<b>acggaacaug guucugucuaa gcaccgcgga aagcaccgug cucuccugca</b>	<b>110</b>
40	<210> 266 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 266	
	<b>ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuaa ggcuccggcc</b>	<b>60</b>
	<b>gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gccccaaac cucgagcggg</b>	<b>110</b>
45	<210> 267 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50		

ES 2 526 787 T3

	<400> 267		
		<b>ccgccccggg ccgcgccucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuau ggcuccggcc</b>	<b>60</b>
		<b>gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gcccccaaac cucgagcggg</b>	<b>110</b>
5	<210> 268 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 268		
		<b>acucaggggc uucgccacug auuguccaaa cgcaauucuu guacgagucu gcgccaacc</b>	<b>60</b>
		<b>gagaauugug gcuggacauc uguggcugag cuccggg</b>	<b>97</b>
15	<210> 269 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 269		
		<b>gacaguggg cauuguaggg cuccacaccg uaucugacac uuugggcgag ggcaccaugc</b>	<b>60</b>
		<b>ugaagguguu caugaugcgg ucugggaacu ccucacggau cuuacugaug</b>	<b>110</b>
25	<210> 270 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 270		
		<b>ugaacaucca ggucuggggc augaaccugg cauacaauug agauuucugu guucguuagg</b>	<b>60</b>
		<b>caacagcuac auugucugcu ggguuucagg cuaccuggaa acauguucuc</b>	<b>110</b>
35	<210> 271 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 271		
		<b>gcugcuggaa gguguaggua cccucaaugg cucaguagcc aguguagauc cugucuuucg</b>	<b>60</b>
		<b>uaaucagcag cuacaucugg cuacuggguc ucugauggca ucuucugcu</b>	<b>110</b>
45	<210> 272 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 272		
		<b>ccuggccucc ugcagugcca cgcuccgugu auuugacaag cugaguugga cacuccaugu</b>	<b>60</b>
		<b>gguagagugu caguuguca aauaccccaa gugcggcaca ugcuuaccag</b>	<b>110</b>

ES 2 526 787 T3

	<210> 273		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 273		
	<b>gggcuuucaa gucacuagug guuccguuaa guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu</b>	<b>60</b>	
	<b>gcccuaguga cuacaaagcc c</b>	<b>81</b>	
10	<210> 274		
	<211> 60		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 274		
	caaucuuccu uaucauggu auugauuuuu cagugcuucc cuuuugugug agagaagaua	60	
	<210> 275		
	<211> 80		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 275		
	<b>aggaccuuc cagagggccc ccccucaauc cuguugugcc uaaucagag gguugggugg</b>	<b>60</b>	
25	<b>aggcucuccu gaagggcucu</b>	<b>80</b>	
	<210> 276		
	<211> 63		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 276		
	<b>aagaaauggu uuaccguccc acauacauuu ugaauaugua ugugggaugg uaaaccgcuu</b>	<b>60</b>	
	<b>cuu</b>	<b>63</b>	
35	<210> 277		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 277		
	<b>acugcuaacg aaugcucuga cuuuauugca cuacuguacu uuacagcuag cagugcaaua</b>	<b>60</b>	
	<b>guauuguaa agcaucugaa agcagg</b>	<b>86</b>	
45	<210> 278		
	<211> 69		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 278		
	<b>ccaccacuaa aacguggaug uacuugcuuu gaaacuaaag aaguaagugc uucauguuu</b>	<b>60</b>	
	<b>uggugaugg</b>	<b>69</b>	

ES 2 526 787 T3

	<210> 279		
	<211> 73		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 279		
	<b>gcucccuuca acuuuaacau ggaagugcuu ucugugacuu uaaaaguaag ugcuuccaug</b>	<b>60</b>	
	<b>uuuuaguagg agu</b>	<b>73</b>	
10	<210> 280		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 280		
	<b>ccuuugcuuu aacauggggg uaccugcugu gugaaacaaa aguaagugcu uccauguuuc</b>	<b>60</b>	
	<b>aguggagg</b>	<b>68</b>	
20	<210> 281		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 281		
	<b>ccucuacuuu aacauggagg cacuugcugu gacaugacaa aaauaagugc uccauguuu</b>	<b>60</b>	
	<b>gagugugg</b>	<b>68</b>	
30	<210> 282		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 282		
	<b>gcuuugcuuc ccuucgccuu cucuucccgg uucuucccgg agucgggaaa agcuggguug</b>	<b>60</b>	
	<b>agagggcgaa aaaggaugag gu</b>	<b>82</b>	
40	<210> 283		
	<211> 59		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 283		
	uuggccuccu aagccagga uugugguuc gaguccacc cgggguaaag aaaggccga	59	
50	<210> 284		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 284		
	<b>uugguacuug gagagaggug guccguggcg cguucgcuu auuuaggcg cacauacac</b>	<b>60</b>	
	<b>ggucgaccuc uuugcaguau cuaauc</b>	<b>86</b>	

ES 2 526 787 T3

5	<210> 285 <211> 83 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 285		
		<b>cugacuaugc cuccccgcau ccccuagggc auugguguaa agcuggagac ccacugcccc</b>	<b>60</b>
		<b>aggugcugcu gggggguugua guc</b>	<b>83</b>
10	<210> 286 <211> 98 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 286		
		<b>auacagugcu ugguuccuag uaggugucca guaaguguuu gugacauaa uuguuuauug</b>	<b>60</b>
		<b>aggaccuccu aucaaucaag cacugugcua ggcucugg</b>	<b>98</b>
20	<210> 287 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 287		
		<b>cucaucuguc uguugggcug gaggcagggc cuuugugaag gcggguggug cucagaucgc</b>	<b>60</b>
		<b>cucugggccc uuccuccagc cccgagggcg auuca</b>	<b>95</b>
30	<210> 288 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 288		
		<b>uggagugggg gggcaggagg ggcucagggg gaaagugcau acagccccug gccucucug</b>	<b>60</b>
		<b>cccuuccguc cccug</b>	<b>75</b>
40	<210> 289 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 289		
		<b>cuuuggcgau cacugccucu cugggccugu gucuuaaggcu cugcaagauc aaccgagcaa</b>	<b>60</b>
45		<b>agcacacggc cugcagagag gcagcgcucu gcc</b>	<b>94</b>
50	<210> 290 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 290		

ES 2 526 787 T3

	<b>gaguuugguu uuguuuugggu uuguucuagg uaugguccca gggaucccag aucaaaccag</b>	<b>60</b>
	<b>gccccugggc cuauccuaga accaaccuaa gcuc</b>	<b>94</b>
5	<210> 291 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 291	
	<b>uguuuugagc gggggucaag agcaauaacg aaaauguuu gucauaaacg guuuuucuu</b>	<b>60</b>
	<b>auugcuccug accuccucuc auuugcuava uuca</b>	<b>94</b>
15	<210> 292 <211> 93 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 292	
	<b>guagucagua guuggggggu gggaacggcu ucauacagga guugaugcac aguuauccag</b>	<b>60</b>
20	<b>cuccuauaug augccuuuc ucauucccuu caa</b>	<b>93</b>
25	<210> 293 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 293	
	<b>ucuccaaca uauccuggug cugagugaug acucagggca succagcauc agugauuuug</b>	<b>60</b>
30	<b>uugaaga</b>	<b>67</b>
35	<210> 294 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 294	
	<b>cgggggggcc gcucuccug uccuccagga gcucacgugu gccugccugu gagcggcucg</b>	<b>60</b>
	<b>acgacagagc cggcggcugc cccagugucu gcgc</b>	<b>94</b>
40	<210> 295 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 295	
	<b>uuguaccugg ugugauuaa aagcaaugag acugauuguc auaugucguu ugugggauc</b>	<b>60</b>
	<b>gucucaguua cuuuauagcc auaccuggua ucuua</b>	<b>95</b>
50	<210> 296 <211> 99	



ES 2 526 787 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 296		
5		<b>gaaacugggc ucaaggugag gggugcuauc ugugauugag ggacaugguu aauggaaug</b>	<b>60</b>
		<b>ucucacacag aaaucgcacc cgucaccuug gccuacuua</b>	<b>99</b>
	<210> 297		
	<211> 98		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 297		
		<b>acccaaaccc uaggucugcu gacuccuagu ccagggcucg ugauggcugg ugggccuga</b>	<b>60</b>
15		<b>acgagggguc uggaggccug gguuuuaa ucgacagc</b>	<b>98</b>
	<210> 298		
	<211> 86		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 298		
		<b>gucugucugc ccgcaugccu gccucucugu ugcucugaag gaggcagggg cugggccugc</b>	<b>60</b>
25		<b>agcugccugg gcagagcggc uccugc</b>	<b>86</b>
	<210> 299		
	<211> 68		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 299		
		<b>ccaauacugu ugcuaauaug caacucuguu gaauaauaa uggaaauugca cuuuagcaau</b>	<b>60</b>
		<b>ggugaugg</b>	<b>68</b>
35	<210> 300		
	<211> 66		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 300		
		<b>aaaaggugga uauuccuucu auguuuangu uauuuuggu uaaacauaga ggaaaucca</b>	<b>60</b>
		<b>cguuuu</b>	<b>66</b>
	<210> 301		
45	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 301		
50		<b>uugaagggag aucgaccgug uuauauucgc uuuauugacu ucgaaauaa caugguugau</b>	<b>60</b>
		<b>cuuuucucag</b>	<b>70</b>

	<210> 302		
	<211> 75		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 302		
	<b>agacagagaa gccaggucac gucucugcag uuacacagcu cacgagugcc ugcuggggug</b>	<b>60</b>	
	<b>gaaccugguc ugucu</b>	<b>75</b>	
10	<210> 303		
	<211> 67		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 303		
	<b>guggcacuca aacugugggg gcacuuucug cucucuggug aaagugccgc caucuuuuga</b>	<b>60</b>	
	<b>guguuac</b>	<b>67</b>	
20	<210> 304		
	<211> 67		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 304		
	<b>gugggccuca aauguggagc acuaaucuga uguccaagug gaaagugcug cgacauuuga</b>	<b>60</b>	
	<b>gcgucac</b>	<b>67</b>	
30	<210> 305		
	<211> 69		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 305		
	<b>gggauacuca aaaugggggc gcuuuccuuu uugucugucac ugggaagugc uucgauuuug</b>	<b>60</b>	
	<b>ggguguccc</b>	<b>69</b>	
35	<210> 306		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 306		
	<b>uacaucggcc auuauauac aaccugauaa guguuauagc acuaaucaga uuguauuuga</b>	<b>60</b>	
	<b>auugucugug ua</b>	<b>72</b>	
45	<210> 307		
	<211> 102		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 307		

	<b>auggagcugc ucaccugug gcccucaau guggaggaac uauucugaug uccaagugga</b>	<b>60</b>
	<b>aagugcugcg acuuugagc gucaccggug acgcccauu ca</b>	<b>102</b>
5	<210> 308 <211> 101 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 308	
	<b>gcauucccuc agccuguggc acucaaacug ugggggcacu uucugcucuc uggugaaagu</b>	<b>60</b>
10	<b>gccgccaucu uuugaguguu accgcuugag aagacucaac c</b>	<b>101</b>
15	<210> 309 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 309	
	<b>cgaggagcuc auacugggau acucaaaaug gggggcguuu ccuuuuuguc uguuacuggg</b>	<b>60</b>
20	<b>aagugcuucg auuuugggu guccuguuu gaguagggca uc</b>	<b>102</b>
25	<210> 310 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 310 ugagguagua gguuguauag uu 22	
30	<210> 311 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 311 ugagguagua gguugugugg uu 22	
40	<210> 312 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 312 ugagguagua gguuguauagg uu 22	
45	<210> 313 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 313 agagguagua gguugcauag u 21	
55	<210> 314 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

<400> 314  
 ugagguagga gguuguauag u 21

5 <210> 315  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 315  
 ugagguagua gauuguauag uu 22

15 <210> 316  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 316  
 ugagguagua guuguacag u 21

25 <210> 317  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 317  
 ugagguagua guuugugcu 19

30 <210> 318  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 318  
 uggaaguaa agaaguaugu a 21

40 <210> 319  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 319  
 uggaagacua gugauuuugu u 21

45 <210> 320  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 320  
 ucuuugguua ucuagcugua uga 23

55 <210> 321  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 321  
 uaaagcuaga uaaccgaaag u 21

<210> 322  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

65 <400> 322

uaccuguag aaccgaauuu gug 23  
 <210> 323  
 <211> 22  
 5 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 323  
 uaccuguag aaccgaauuu gu 22  
 10 <210> 324  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 15 <400> 324  
 uagcagcaca uaaugguuug ug 22  
 <210> 325  
 20 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 325  
 25 uagcagcaca ucaugguuuu ca 22  
 <210> 326  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 30 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 326  
 uagcagcacg uaaauauugg cg 22  
 35 <210> 327  
 <211> 24  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 40 <400> 327  
 caaagugcuu acagugcagg uagu 24  
 <210> 328  
 <211> 20  
 45 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 328  
 50 acugcaguga aggcacuugu 20  
 <210> 329  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 55 <400> 329  
 uaaggugcau cuagugcaga ua 22  
 <210> 330  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 60 <400> 330  
 65 ugugcaaauc uaugcaaaac uga 23

<210> 331  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 331  
 ugugcaaauc caugcaaaac uga 23  
 10  
 <210> 332  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 332  
 uaaagugcuu auagugcagg ua 22  
 20  
 <210> 333  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 333  
 uagcuuauca gaeugauguu ga 22  
 25  
 <210> 334  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <400> 334  
 aagcugccag uugaagaacu gu 22  
 35  
 <210> 335  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 335  
 aucacauugc cagggauuuc c 21  
 40  
 <210> 336  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 336  
 aucacauugc cagggauuac cac 23  
 50  
 <210> 337  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 337  
 uggcucaguu cagcaggaac ag 22  
 <210> 338  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 60  
 <400> 338  
 cauugcacuu gucucggucu ga 22  
 65  
 <210> 339  
 <211> 22  
 <212> ARN

<213> *Homo sapiens*  
 <400> 339  
 5 uucaaguaau ccaggauagg cu 22  
 <210> 340  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10 <400> 340  
 uucaaguaau ucaggauagg u 21  
 <210> 341  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 15 <400> 341  
 20 uucacagugg cuaaguuccg cc 22  
 <210> 342  
 <211> 20  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 25 <400> 342  
 uucacagugg cuaaguucug 20  
 <210> 343  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 30 <400> 343  
 35 aaggagcuca cagucuauug ag 22  
 <210> 344  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 40 <400> 344  
 45 cuagaccrau cuqaaucgg uu 22  
 <210> 345  
 <211> 20  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 50 <400> 345  
 uagcaccrau ugaaucagu 20  
 <210> 346  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 55 <400> 346  
 60 uagcaccrau ugaaucggu ua 22  
 <210> 347  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 65

	<400> 347 uguaaacauc cucgacugga agc	23
5	<210> 348 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 348 cuuucagucg gauguuugca gc	22
15	<210> 349 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 349 uguaaacauc cuacacucag c	21
25	<210> 350 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 350 uguaaacauc cuacacucuc agc	23
35	<210> 351 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 351 uguaaacauc cccgacugga ag	22
45	<210> 352 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 352 uguaaacauc cuugacugga	20
55	<210> 353 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 353 ggcaagaugc uggcauagcu g	21
65	<210> 354 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 354 uauugeacau uacuaaguug c	21
	<210> 355 <211> 19 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 355 gugcauugua guugcauug	19



<210> 356  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 356  
 uggcaguguc uuagcugguu gu 22  
 10  
 <210> 357  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 357  
 aggcaguguc auuagcugau ug 22  
 20  
 <210> 358  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 358  
 aggcagugua guuagcugau ug 22  
 25  
 <210> 359  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <400> 359  
 uauugcacuu gucccggccu gu 22  
 35  
 <210> 360  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 360  
 aaagugcugu ucgugcaggu ag 22  
 40  
 <210> 361  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 361  
 uucaegggu auuuauugag ca 22  
 50  
 <210> 362  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 55  
 <400> 362  
 uuuggcacua gcacauuuuu gc 22  
 <210> 363  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 60  
 <400> 363  
 ugagguagua aguuguauug uu 22  
 65  
 <210> 364  
 <211> 22  
 <212> ARN

<213> *Homo sapiens*  
 <400> 364  
 aaccgguaga uccgaucuug ug 22  
 5  
 <210> 365  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10  
 <400> 365  
 cacccguaga accgaccuug cg 22  
 15  
 <210> 366  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 20  
 <400> 366  
 uacaguacug ugauaacuga ag 22  
 25  
 <210> 367  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 367  
 uacaguacug ugauaacuga ag 22  
 30  
 <210> 368  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <400> 368  
 agcagcauug uacagggcua uga 23  
 40  
 <210> 369  
 <211> 20  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 369  
 ucaaaugcuc agacuccugu 20  
 45  
 <210> 370  
 <211> 24  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 50  
 <400> 370  
 aaaagugcuu acagugcagg uagc 24  
 55  
 <210> 371  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 371  
 uaaagugcug acagucaga u 21  
 60  
 <210> 372  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 65

<400> 372  
 agcagcauug uacagggcua uca 23

5 <210> 373  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 373  
 uggaguguga caaugguguu ugu 23

15 <210> 374  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 374  
 uuaaggcacg cggugaaugc ca 22

25 <210> 375  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 375  
 ucccugagac ccuuuaaccu gug 23

35 <210> 376  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 376  
 ucccugagac ccuaacuugu ga 22

45 <210> 377  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 377  
 cauuaauacu uuugguacgc g 21

55 <210> 378  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 378  
 ucguaccgug aguaauaauug c 21

65 <210> 379  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 379  
 ucggauccgu cugagcuugg cu 22

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

<400> 380  
 ucacagugaa cggucucuu uu 22

<210> 381  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 381  
 ucacagugaa cggucucuu uc 22  
 <210> 382  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10  
 <400> 382  
 cuuuuugcgg ucuggguug c 21  
 <210> 383  
 <211> 20  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 20  
 <400> 383  
 cagugcaaug uaaaaagge 20  
 <210> 384  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 384  
 cagugcaaug augaaagggc au 22  
 <210> 385  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <400> 385  
 uaacagucua cagccauggu cg 22  
 <210> 386  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <400> 386  
 uuggucccu ucaaccagcu gu 22  
 <210> 387  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 40  
 <400> 387  
 uuggucccu ucaaccagcu a 21  
 <210> 388  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 50  
 <400> 388  
 ugugacuggu ugaccagagg g 21  
 <210> 389  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 60  
 65

<213> *Homo sapiens*  
 <400> 389  
 uauggcuuuu uauuccuaug uga 23  
 5  
 <210> 390  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10  
 <400> 390  
 uauggcuuuu cauuccuaug ug 22  
 <210> 391  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 391  
 acuccauuug uuuugaugau gga 23  
 20  
 <210> 392  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 392  
 uauugcuuaa gaauacgcgu ag 22  
 30  
 <210> 393  
 <211> 17  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <400> 393  
 agcuqguguu gugaauc 17  
 <210> 394  
 <211> 18  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 40  
 <400> 394  
 ucuacagugc acgugucu 18  
 45  
 <210> 395  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 50  
 <400> 395  
 agugguuuuu cccuauggua g 21  
 55  
 <210> 396  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 60  
 <400> 396  
 aacacugucu gguaaagaug g 21  
 <210> 397  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 65

	<400> 397 uguaguguuu ccuacuuuau gga	23
5	<210> 398 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 398 cauaaaguag aaagcacuac	20
15	<210> 399 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 399 ugagaugaag cacuguagcu ca	22
25	<210> 400 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 400 uacaguauag augauguacu ag	22
35	<210> 401 <211> 24 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 401 guccaguuuu cccaggaauc ccuu	24
45	<210> 402 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 402 ugagaacuga auuccauggg uu	22
55	<210> 403 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 403 guguguggaa augcuucugc	20
65	<210> 404 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 404 ucagugcacu acagaacuuu gu	22
	<210> 405 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 405 ucagugcauc acagaacuuu gu	22

<210> 406  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 406  
 ucuggcuccg ugucuucacu cc 22  
 10  
 <210> 407  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 407  
 ucucccaacc cuuguaccag ug 22  
 20  
 <210> 408  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 408  
 acuagacuga agcuccuuga gg 22  
 25  
 <210> 409  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <400> 409  
 ucagugcaug acagaacuug g 21  
 35  
 <210> 410  
 <211> 20  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 410  
 uugcauaguc acaaaaguga 20  
 40  
 <210> 411  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 411  
 uagguuaucc guguugccuu cg 22  
 50  
 <210> 412  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 55  
 <400> 412  
 aaucuaacac gguugaccua uu 22  
 <210> 413  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 60  
 <400> 413  
 uuaaugcuaa ucgugauagg gg 22  
 65  
 <210> 414  
 <211> 23  
 <212> ARN

<213> *Homo sapiens*  
 <400> 414  
 aacauucaac gcugucggug agu 23  
 5  
 <210> 415  
 <211> 24  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10  
 <400> 415  
 aacauucauu gcugucggug gguu 24  
 <210> 416  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 416  
 aacauucaac cugucgguga gu 22  
 20  
 <210> 417  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 417  
 uuuggcaaug guagaacuca ca 22  
 30  
 <210> 418  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <400> 418  
 ugguuucuaga cuugccaacu a 21  
 40  
 <210> 419  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 419  
 uauggcacug guagaauuca cug 23  
 <210> 420  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 50  
 <400> 420  
 uggacggaga acugauaagg gu 22  
 55  
 <210> 421  
 <211> 18  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 60  
 <400> 421  
 uggagagaaa ggcaguuc18  
 <210> 422  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 65



<400> 422  
 caaagaauc uccuuuuggg cuu 23

5 <210> 423  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 423  
 ucgugucuug uguugcagcc g 21

15 <210> 424  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 424  
 caucccuugc augguggagg gu 22

25 <210> 425  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 425  
 gugccuacug agcugauauc agu 23

35 <210> 426  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 426  
 ugauauguuu gauauuuag gu 22

45 <210> 427  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 427  
 caacggauc ccaaaagcag cu 22

55 <210> 428  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 428  
 cugaccuaug aaugacagc c 21

65 <210> 429  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 429  
 aacuggccua caaaguccca g 21

<210> 430  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 430  
 uguaacagca acuccaugug ga 22

<210> 431  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 431  
 uagcagcaca gaaauauugg c 21  
 <210> 432  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10  
 <400> 432  
 uagguaguuu cauguuguug g 21  
 <210> 433  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 20  
 <400> 433  
 uagguaguuu ccuguuguug g 21  
 <210> 434  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 434  
 uucaccaccu ucuccacca gc 22  
 <210> 435  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <400> 435  
 gguccagagg ggagauagg 19  
 <210> 436  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 40  
 <400> 436  
 cccaguguuc agacuaccug uuc 23  
 <210> 437  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 437  
 uacaguaguc ugcacauugg uu 22  
 <210> 438  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 50  
 <400> 438  
 cccaguguuu agacuaucug uuc 23  
 <210> 439  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 60  
 <210> 439  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 65

<213> *Homo sapiens*  
 <400> 439  
 5 uaacacuguc ugguaacgau gu 22  
 <210> 440  
 <211> 24  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10 <400> 440  
 cucuaauacu gccugguaau gaug 24  
 <210> 441  
 15 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 441  
 20 aauacugccg gguaaugaug ga 22  
 <210> 442  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 25 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 442  
 agagguauag ggcaugggaa ga 22  
 30 <210> 443  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35 <400> 443  
 gugaaauguu uaggaccacu ag 22  
 <210> 444  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 40 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 444  
 45 uucccuugu cauccuaugc cu 22  
 <210> 445  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 50 <400> 445  
 uccuucuuuc caccggaguc ug 22  
 <210> 446  
 55 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 446  
 60 uggaauguaa ggaagugugu gg 22  
 <210> 447  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 65 <213> *Homo sapiens*

<400> 447  
 auaagacgag caaaaagcuu gu 22

5 <210> 448  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 448  
 cugugcgugu gacagcggu g 21

15 <210> 449  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 449  
 uuccuuugu cauccuucg cu 22

25 <210> 450  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 450  
 uaacagucuc cagucacggc c 21

35 <210> 451  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 451  
 accaucgacc guugauugua cc 22

45 <210> 452  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 452  
 acagcaggca cagacaggca g 21

55 <210> 453  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 453  
 augaccuaug aauugacaga c 21

65 <210> 454  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 454  
 uaaucucagc uggcaacugu g 21

<210> 455  
 <211> 24  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 455  
 uacugcauca ggaacugauu ggau 24

<210> 456  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 456  
 uugugcuuga ucuaaccaug u 21  
 10  
 <210> 457  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 15  
 <400> 457  
 ugauugucca aacgcaauuc u 21  
 20  
 <210> 458  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 458  
 ccacaccgua ucugacacuu u 21  
 25  
 <210> 459  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <400> 459  
 agcuacauug ucugcugggu uuc 23  
 35  
 <210> 460  
 <211> 24  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 460  
 agcuacaucu ggcuacuggg ucuc 24  
 40  
 <210> 461  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 461  
 ugucaguuuug ucaaauacc c 21  
 50  
 <210> 462  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 55  
 <400> 462  
 caagucacua gugguuccgu uua 23  
 <210> 463  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 60  
 <400> 463  
 agggccccc cucaauccug u 21  
 65  
 <210> 464  
 <211> 22  
 <212> ARN

<213> *Homo sapiens*  
 <400> 464  
 5 uquuuuaccq ucccacauac au 22  
 <210> 465  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10 <400> 465  
 cagugcaaua gusuugucaa age 23  
 <210> 466  
 15 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 466  
 20 uaagugcuuc cauguuuugg uga 23  
 <210> 467  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 25 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 467  
 acuuuaacau ggaagugcuu ucu 23  
 30 <210> 468  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35 <400> 468  
 uaagugcuuc cauguuuuag uag 23  
 <210> 469  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 40 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 469  
 45 uuuacaugg gguaccugc ug 22  
 <210> 470  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 50 <400> 470  
 uaagugcuuc cauguucag ugg 23  
 <210> 471  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 55 <400> 471  
 60 uaagugcuuc cauguugag ugu 23  
 <210> 472  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 65 <213> *Homo sapiens*

<400> 472  
 aaaagcuggg uugagagggc gaa 23

5 <210> 473  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 473  
 uaagccaggg auuguggguu c 21

15 <210> 474  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 474  
 gcacauuaca cggucgaccu cu 22

25 <210> 475  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 475  
 cgcauccccu agggcauugg ugu 23

35 <210> 476  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 476  
 ccacugeecc aggugcugcu gg 22

45 <210> 477  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 477  
 ccuaguaggu guccaguaag u 21

55 <210> 478  
 <211> 20  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 478  
 ccucugggcc cuuccuccag 20

65 <210> 479  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 479  
 cuggcccucu cugcccuucc gu 22

<210> 480  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*

<400> 480  
 gcaaagcaca cggccugcag aga 23

<210> 481  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <400> 481  
 gccccugggc cuauccuaga a 21  
 <210> 482  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10  
 <400> 482  
 ucaagagcaa uaacgaaaa ugu 23  
 <210> 483  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 20  
 <400> 483  
 uccagcuccu auaugaugcc uuu 23  
 <210> 484  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 25  
 <400> 484  
 uccagcauca gugauuuugu uga 23  
 <210> 485  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <400> 485  
 uccuguccu ccaggagcuc a 21  
 <210> 486  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 40  
 <400> 486  
 uccgucucag uuacuuuaua gcc 23  
 <210> 487  
 <211> 24  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 45  
 <400> 487  
 ucucacacag aaaucgcacc cguc 24  
 <210> 488  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 50  
 <400> 488  
 ugcugacucc uaguccaggg c 21  
 <210> 489  
 <211> 23  
 <212> ARN



<213> *Homo sapiens*  
 <400> 489  
 5 ugucugcccg caugccugcc ucu 23  
 <210> 490  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 10 <400> 490  
 aauugcacuu uagcaauggu ga 22  
 <210> 491  
 15 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 491  
 20 acauagagga aauuccacgu uu 22  
 <210> 492  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 25 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 492  
 aauaaucacu gguugaucuu u 21  
 30 <210> 493  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 35 <400> 493  
 gccugcuggg guggaaccug g 21  
 <210> 494  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 40 <213> *Homo sapiens*  
 <400> 494  
 45 gugccgccau cuuuugagug u 21  
 <210> 495  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 50 <400> 495  
 aaagugcugc gacauuugag cgu 23  
 <210> 496  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> *Homo sapiens*  
 55 <400> 496  
 60 acucaaaaug ggggcgcuu cc 22  
 <210> 497  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 65 <213> *Homo sapiens*

<400> 497  
gaagugcuuc gauuuugggg ugu 23

5 <210> 498  
<211> 22  
<212> ARN  
<213> *Homo sapiens*

10 <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 primer producto génico de miR-107 en una muestra de tejido de colon, páncreas o estómago del sujeto,  
 en el que una alteración en el nivel del primer producto génico de miR-107 en la muestra, en relación con el nivel del primer producto génico de miR-107 en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer sólido seleccionado del grupo que consiste en cáncer de colon, páncreas y estómago.

10 2. El método de la reivindicación 1, en que un aumento en el nivel del primer producto génico de miR-107 se usa para diagnosticar cáncer de colon.

15 3. El método de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el primer producto génico de miR 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:

20 miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-24-1, miR-24-2, miR-155, miR-20a, miR-32, miR-30c, miR-221, miR-106a, miR-10a, miR-203, miR-126\*, miR-99b prec, miR-213, miR-150, miR-9-3 y combinaciones de los mismos.

4. El método de la reivindicación 1, en el que un aumento en el nivel del primer producto génico de miR-107 se usa para diagnosticar cáncer pancreático.

25 5. El método de las reivindicaciones 1 o 4, en el que el primer producto génico de miR 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-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-181b-1, miR-20a, 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. El método de la reivindicación 1, en el que un aumento en el nivel del primer producto génico de miR-107 se usa para diagnosticar cáncer de estómago.

40 7. El método de las reivindicaciones 1 o 6, en el que el primer producto génico de miR y al menos un producto génico de miR adicional se usan para diagnosticar cáncer de estómago, seleccionándose el al menos un producto génico de miR adicional del grupo que consiste en:

45 miR-21, miR-191, miR-223, miR-24-1, miR-24-2, miR-92-2, miR-214, miR-25, miR-221, miR-218-2, miR-103-2, miR-136, miR-125b-2, miR-103-1, miR-222, miR-212 prec, miR-125b-1, miR-100, miR-92-1, miR-96, miR-192, miR-23a, miR-215, miR-7-2, miR-138-2, miR-99b, miR-33b y combinaciones de los mismos.

8. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer sólido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que medir el nivel de el al menos un producto génico de miR-107 comprende:

50 (1) transcribir de forma inversa:

ARN de al menos miR-107 de la muestra obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de ARN de miR-107; y

55 (2) hibridar:

60 el al menos un oligodesoxinucleótido diana de ARN de miR-107 a una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN que incluyen al menos un oligonucleótido sonda específico de ARN de miR-107 para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra.

y en el que determinar si hay una alteración en el nivel del primer producto génico de miR-107 en la muestra, en relación con el nivel del primer producto génico de miR-107 en una muestra de control comprende:

65 (3) comparar:

el perfil de hibridación de la muestra con un perfil generado de una muestra de control, en el que una alteración de la señal de miR-107 es indicativo de que el sujeto tiene dicho cáncer.

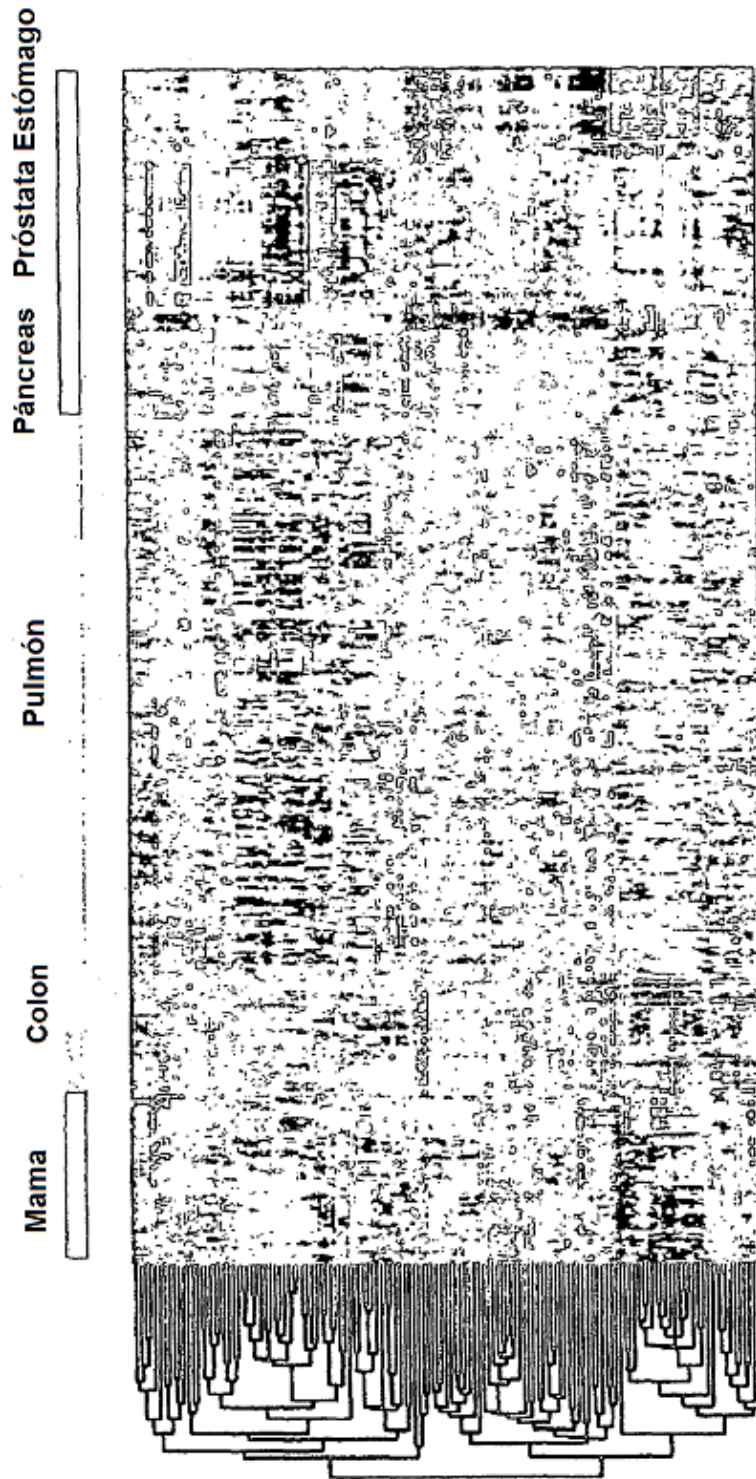


FIG. 1

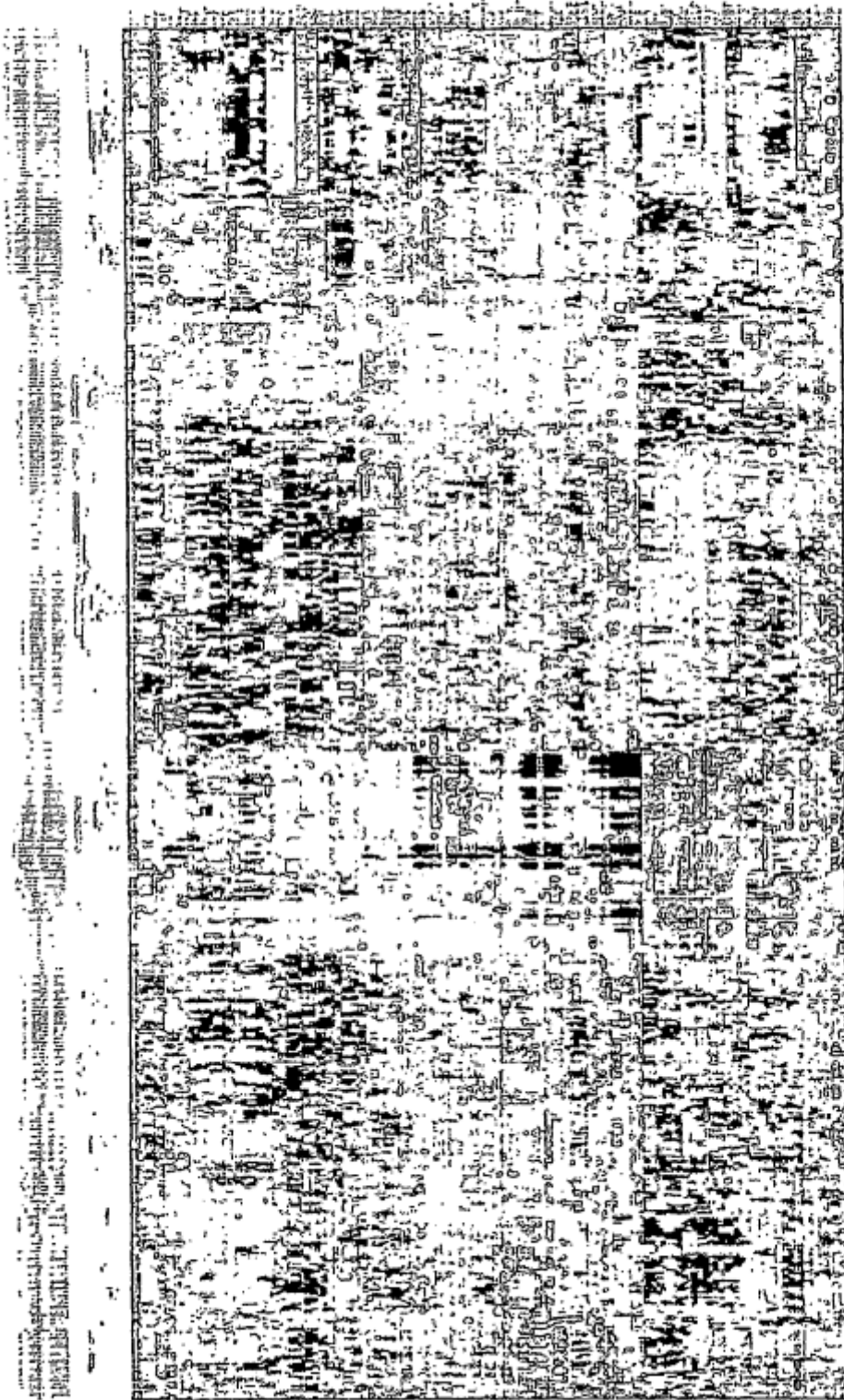


FIG. 2

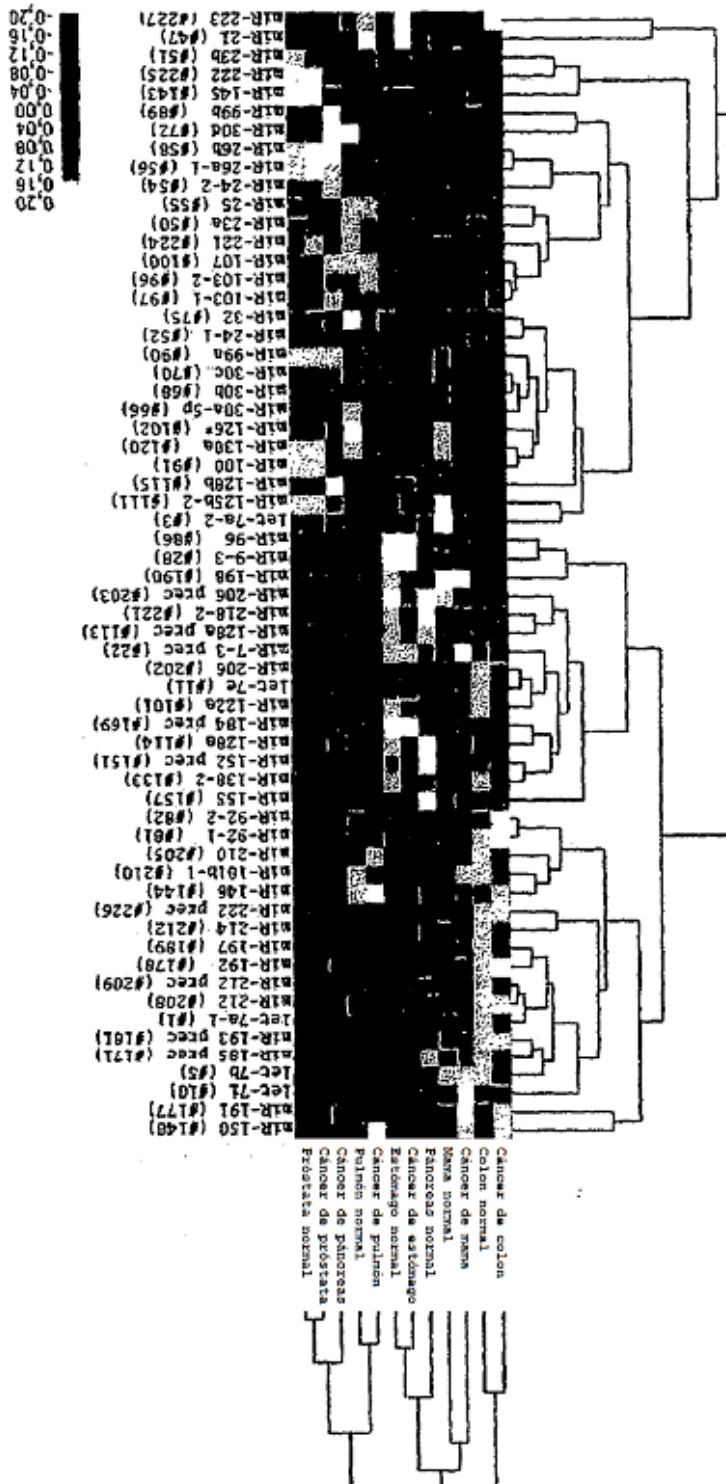


FIG. 3

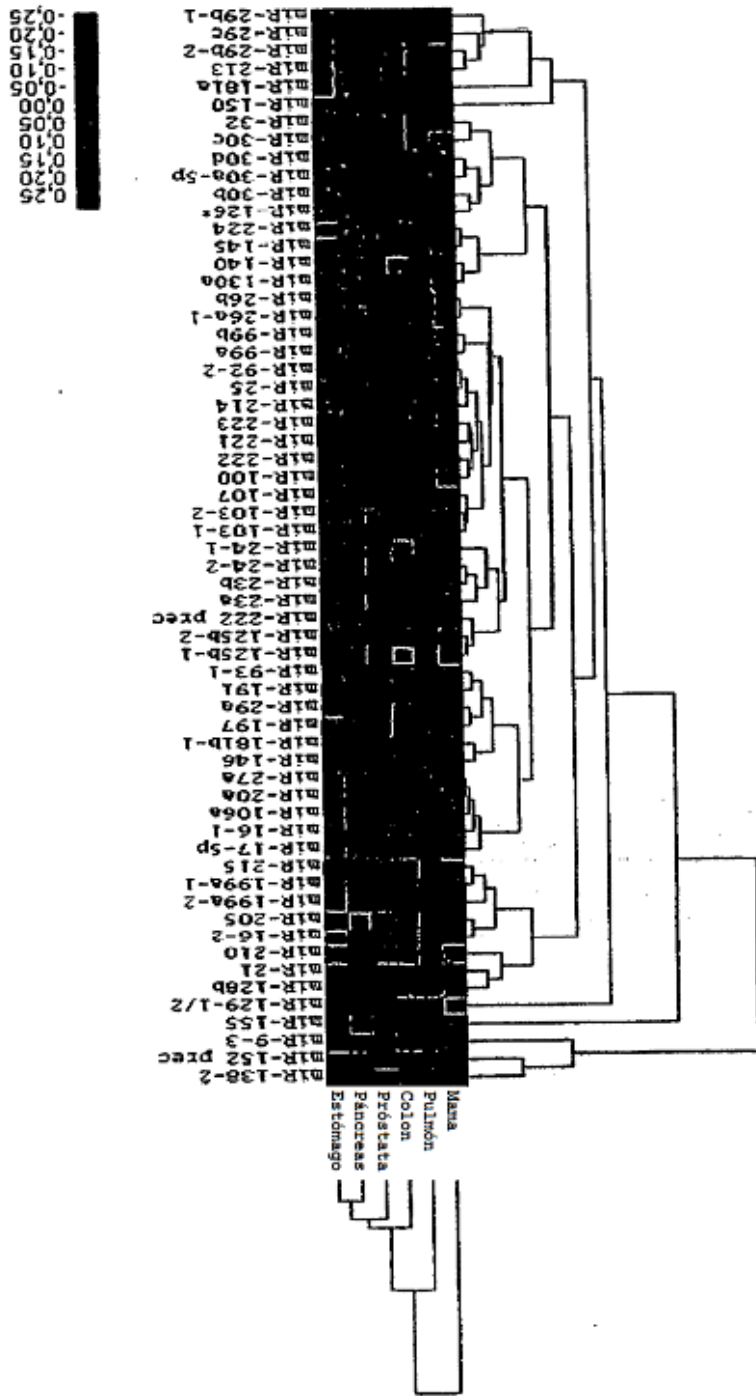


FIG. 4



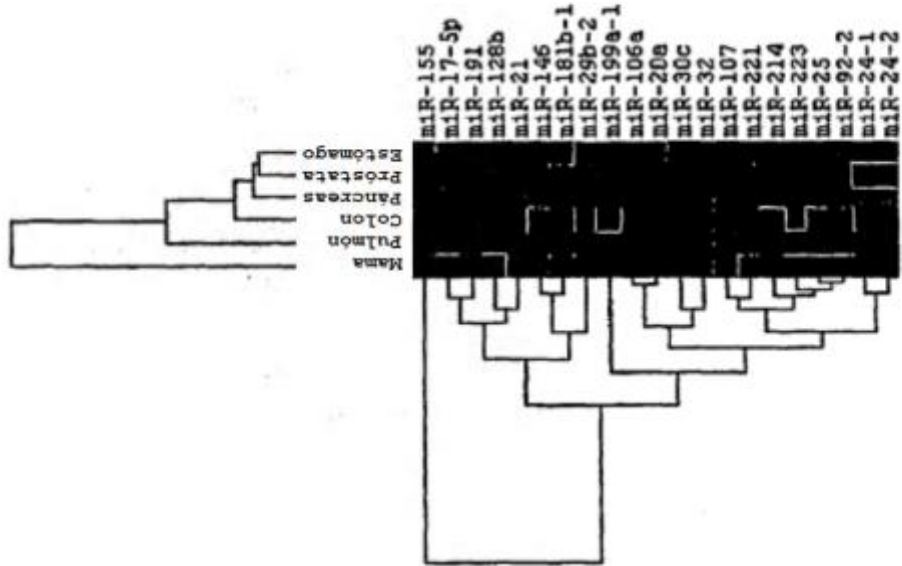


FIG. 5

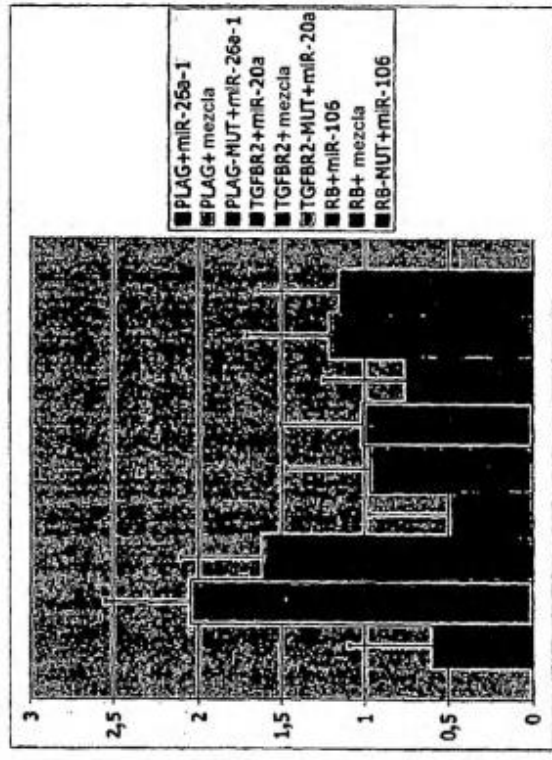
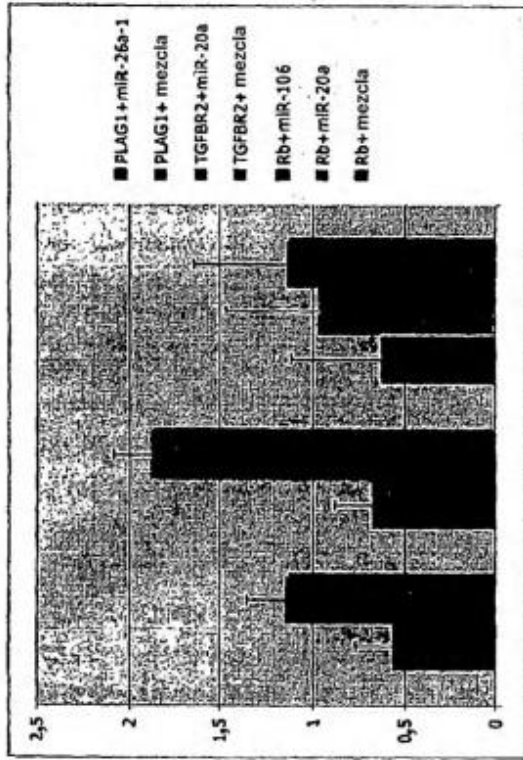


FIG. 6A

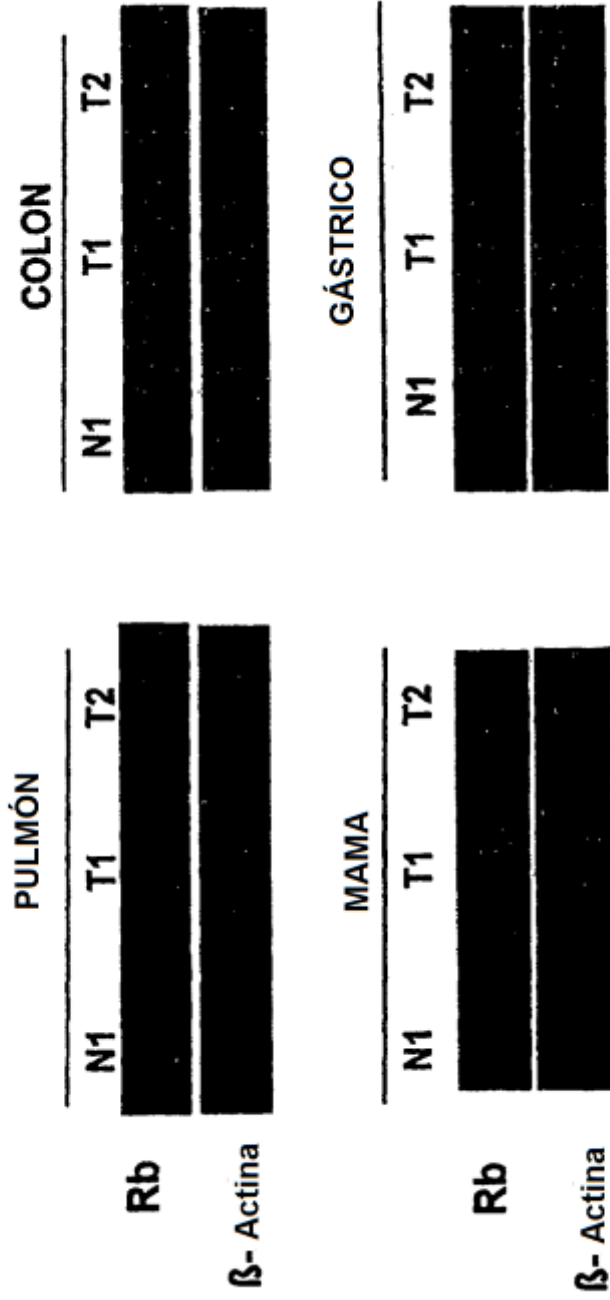


FIG. 6B

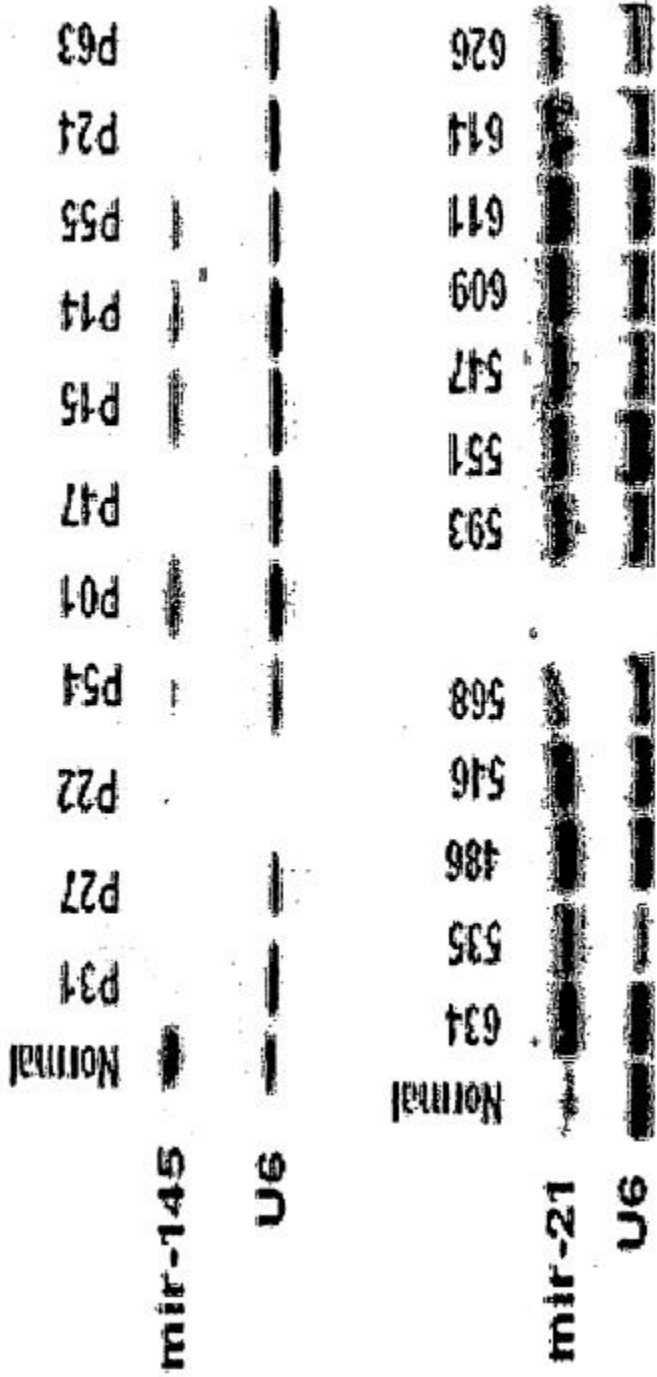


FIG. 7

