

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

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

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

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

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 ACCCACCACUGGGAGUAACUAUAACAUCUACUGUCUUUCCU AACGUG	1
<i>let-7a-2</i>	AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUUAUCAUAAAG GGAGUAACUGUACAGCCUCCUAGCUUUUCCU	2
<i>let-7a-3</i>	GGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUUGGGGCUUCGCCUCCU AUGGGAUAACUAUAACAUCUACUGUCUUUCCU	3
<i>let-7a-4</i>	GUGACUGCAUGCUCGCCAGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU UAGAAUUAACAAGGGAGUAACUGUAACAAGCCUCCUAGCUUU CCUUGGUCUUGCACUAACAAC	4
<i>let-7b</i>	GGCGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUUCAGGGCAGUGA UGUUGCCCCUCGGAAGAUAACUAUAACAACUACUGCCUCCU UG	5
<i>let-7c</i>	GCAUCCGGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAUACA CCUUGGGAGUUAAACUGUAACAACCUUCUAGCUUCCUUGGAGC	6
<i>let-7d</i>	CCUAGGAAGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUUUAGGGCAGGGAU UUUGCCCCACAAGGAGGUAACUUAACGACCUCUGCCUUCUU AGG	7
<i>let-7d-v1</i>	CUAGGAAGAGGUAGUAGUUUGCAUAGUUUAGGGCAAGAAGAU UUUGCCCCACAAGUAGUUAGCUUAACGACCUCAGCCUUCUUUGU AG	8

<i>let-7d-v2</i>	CUGGCUGAGGUA <u>GUUUGUCUGUUGGUCGGGUUGUGACA</u> UUGCCCCUGUGGAGUAACUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUA G	9
<i>let-7e</i>	CCCGGCUGAGGUA <u>GGUUGUAUAGUUGAGGAGACACC</u> AAGGAGUCACUAACGGCCUCCUAGCUTUCCCCAGG	10
<i>let-7f-1</i>	UCAGAGGAGGUA <u>GUAGUUGUAUAGUUGGGGUAAGU</u> UUACCCUUGUACGGAGUAACUAUACAUCUAUUGCCUUC CUGA	11
<i>let-7f-2-1</i>	CUGGGAGGUA <u>GUAGAUUGUAUAGUUGGGUAGUG</u> AUUUACCCUUGCAGGAGUAACUAUACAUCUAUUGCCU CCCUGA	12
<i>let-7f-2-2</i>	CUGGGAGGUA <u>GUAGUUGUAUAGUUGGGUCAUA</u> CCCCAUCUUGGAGUAACUAUACAGUCUACUGUCUUC GG	13
<i>let-7g</i>	UUGCCUGAUCCAGGCU <u>GAGGUAGUUGUACAGUUGAG</u> GGUCUUGAUACCCCGGUACAGGAGUAACUGUACAGGCC ACUGCCUUGCCAGGACACGGCGC	14
<i>let-7i</i>	CUGGCUGAGGUA <u>GUUUGUCUGUUGGUCGGGUUGUGACA</u> UUGCCCCUGUGGAGUAACUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUA G	15
<i>miR-1b-1-1</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUAUGUACCCCAUAUGAACA UACA AUGCUAUGGAAUGUAAGAAAGUAUGUAUJUUGGUAG GC	16

<i>miR-1b-1-2</i>	CAGCUAAACAUCUAGUAAUAACCUACUCACAGACAUACUUCU UUUAGUACCCCAUUGAACAUACAUGCUAUGGAAUGUAAAAGA 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 UGUUUUAGAUACUAAUCGACAACA AUACACAGUCUGCCA UAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACA	21
<i>miR-7-1b</i>	UUUGAUUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGGAAGACUAGUGAUUUUG UUUUUUUAGAUACUAAUCGACAACA AUACACAGUCUGCC AUUGGCACAGGCCAUGCCUCUACAG	22
<i>miR-7-2</i>	CUGGAUACAGAGUGGACCGGCCUGGCCCAUCUGGAAGACUAG UGAUUUUGUUUGUUCUUAUCUGCCUCAACA AAUCCCCAG UCUACCUAAUUGGUGCCA GCCAUCCGA	23
<i>miR-7-3</i>	AGAUAGAGUGGCCUGGUUCUAGUGUCUGUGGGAAGACUAGU GAUUUUUGUUUGUUCUAGUAGUACUACGACAACAAGUCACAGCCG GCCUCAUAGCCGACAGACUCCCUUCGAC	24

<i>miR-9-1</i>	CGGGUUGGUUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUUGUAUGAGUGG UGUGGAGUCUUC <u>AAAGCUAGAUACC</u> GAAAGUA ²⁵ AAUA CCCCA
<i>miR-9-2</i>	GGAGCGGUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUUGUAUGAGUGU AUUGGUCUUC <u>AAAGCUAGAUACC</u> GAAAGUA ²⁶ AAACUCCU UCA
<i>miR-9-3</i>	GGAGCCCGUUCUCUUUGGUUAUCUAGCUUGUAUGAGUGC CACAGCCGUC <u>AAAGCUAGAUACC</u> GAAAGUA ²⁷ GAAUUGA 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>UACCCUGUA</u> GAA <u>CCGA</u> <u>AUUUGUGUGUAUCC</u> GUUAUGUCACAGAUUCGAUUCUAGGGG AAUAUUGGCCG <u>GAU</u> GCAAAA <u>CUUCA</u>
<i>miR-15a-2</i>	GCGCGAAUGUGUGUUA ³⁰ AAAAUA ³⁰ AAACC <u>UUGGAGU</u> AAAG <u>UAGCAGCACAUAAU</u> GGUUGGGAUUUUGAAAGGUGCAGGC CAUAUUGCGCGCCUCA ³⁰ AAAUAC
<i>miR-15a</i>	CCUUGGAGUAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUUGGGAUUUUG AAAAGGUGCAGGCCAU <u>AUUGUGCUGCCUCA</u> AAAUACAAGG ³¹
<i>miR-15b-1</i>	CUGUAGCAGCACAU <u>CAUGGUUUA</u> CAUGCUACAGUCAAGAU <u>GC</u> GAUCAUUAUUUGCGCCUCA ³²

<i>miR-15b-2</i>	<p>UUGAGGCCUUAAAGUACUGUAGCAGCACAUC<u>UUGGUUUACA</u> GCUACAGUCAAGAUGCCGAUCAUUUAUUJGCGUCUCUAAGAAU UUAGGA<u>AUUUCA</u></p>	33
<i>miR-16-1</i>	<p>GUCAGCAGUGCCUUAGCAGCAGUAAUAUUGGCGUUAA<u>G</u> UCUAAAUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUCUGAA<u>GUAAGG</u> UUGAC</p>	34
<i>miR-16-2</i>	<p>GU<u>UCCACUCUAGCAGCAGUAAUAUUGGCGUAGUGAAUAU</u> AAUUAACAACCAAUUAUUAUCUGUGCUCUUJAGUGGAC</p>	35
<i>miR-16-13</i>	<p>GCAGUGCCUJAGCAGCAGUAAUAUUGGCGUUAAGAUUCUA AAUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUCUGAA<u>GUAAGG</u></p>	36
<i>miR-17</i>	<p>GUCAGAAUAUUGUCAAAGUGCUJACAGUGCAGGJAGU<u>GAU</u> GUGCAUCUAUCUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUUAUGGUGAC</p>	37
<i>miR-18</i>	<p>UGUUCUAAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAA<u>GUA</u>GAUUAGC AUCUACUGCCCUAAGUGCUCUUCUGGCA</p>	38
<i>miR-18-13</i>	<p>UUUUUGUUUUAAGGUGCAUCUA<u>GUGCAGAUAGUGAA</u>GUAGAU UAGCAUCUAUCUGCCCUAAGUGCUCUUCUGGCAUAAGAA</p>	39
<i>miR-19a</i>	<p>GCAGUCCUCUGUJAGUUUGCAUAGUUGCACAUA<u>CAAGA</u>AGAA UGUAGUUGGCAA<u>AUCUAUGCAA</u>AACUGAUGGUGGCCUCC</p>	40
<i>miR-19a-13</i>	<p>CAGUCCUCUGUJAGUUUGCAUAGUUGCACAUA<u>CAAGA</u>AGAA GUAGUUGGCAA<u>AUCUAUGCAA</u>AACUGAUGGUGGCCUCC</p>	41
<i>miR-19b-1</i>	<p>CACUGUUCUAUGGUUA<u>GUUUJUGCAGGUUUUGCAUCC</u>AGCUGUG UGAUU<u>UUCUGCUGGCAA</u>AUCCCAUGCAA<u>AAACUGACUGUGG</u>UA GUG</p>	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 AAUUGUGCCUGUGCAA <u>AUCCAU</u> GGCAAACUGAUUGUGAU	45
<i>miR-20 (miR-20a)</i>	GUAGCAUAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUUUAGUUUAUC UACUGCAUUAUGAGCACUUAAGUACUGC	46
<i>miR-21</i>	UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCA UGGCAACACCAAGUCGAUGGGCUGUCUGACA	47
<i>miR-21-17</i>	ACCUUGCCGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAU CUCAUGGCAACACCAAGUCGAUGGGCUGUCUGACAUUUUG	48
<i>miR-22</i>	GGCUGAGCCGCAGUAUUUCUUCAGUGGCAAGCUUUAUGUCCU GACCCAGCUAAAGCUGCCAGUUUGAAGAA <u>CUGU</u> UGCCCCUCUGC C	49
<i>miR-23a</i>	GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUUGCUUCCUGUCAC AAAUACA <u>UUGCCAGGGAU</u> UUCCAACCGACC	50
<i>miR-23b</i>	CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGGUUCUCCUGGCAUGCUGAUUUG UGACUUAAGAUA <u>AAAU</u> CACA <u>UUGCCAGGGAU</u> UACCAACCGCAA CCACGACCUUGGC	51
<i>miR-23-19</i>	CCACGGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUUGCUUCCUG UCACAAUACA <u>UUGCCAGGGAU</u> UUCCAACCGACCCUGA	52

<i>miR-24-1</i>	CUCCGGGCCUACUGAGCUGAUUACAGUUCUUAUUUACACA CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	53
<i>miR-24-2</i>	CUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGUUGGUUUG UGUACACUGGCCUCAGUUCAGCAGGAACAAGGG	54
<i>miR-24-19</i>	CCUUGGGUCUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGU UGGUUUGUGUACACUGGCCUCAGUUCAGCAGGAACAAGGGG	55
<i>miR-24-9</i>	CCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUACAGUUCUCAUUUUACA CACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAACAUC	56
<i>miR-25</i>	GGCAGUGUUGAGAGCCGGAGACUUGGGCAAUUGCUGGACGC UGCCUUGGGCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACAGUGCCGGCC	57
<i>miR-26a</i>	AGGCCUGGCCUCGUUCAAGUAUCCAGGAUAGGCUUGUCAG GUCCCAUUGGCCUAUCUUGGUUACUUGCACCGGGGACCGCGGGC CU	58
<i>miR-26a-1</i>	GUGGCCUCGUUCAAGUAUCCAGGAUAGGCUUGUCAGGUCCCC AAUGGGCCUAUUCUUGGUUACUUGCACCGGGGACCGC	59
<i>miR-26a-2</i>	GGCUGUGGCCUGGAUUCAGUAUCCAGGAUAGGCUUGUUCUCA UCUGAGGCCUAUUCUUGAUUACUUGUUCUGGAGGCAAGCU	60
<i>miR-26b</i>	CCGGGACCCAGUUCAGUAUUCAGGAUAGGUUUGUGUCUGU CCAGCCUGUUCUCAUUAUCUUGGCCUGGGGACCCGG	61
<i>miR-27a</i>	CUGAGGACGAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACC AAGUCGUUUCACAGUGGCCUAAAGUUCGCCGCCCCAG	62
<i>miR-27b-1</i>	AGGUCAGAGCUAAGCUGAUUGGUGAACAGUGAUUGGUUUC GCUUUGUUCACAGUGGCCUAAAGUUCUGCACCU	63

<i>miR-27b-2</i>	ACCUCUUAACAAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUUGGUGAACAG UGAUUGGUUUCCGCUUJUGUUCACAGUGGCCUAAGUUUCUGCACC UGAAGAGAGGGUG	64
<i>miR-27-19</i>	CCUGAGGAGCAGGGCCUJAGCUGCUJUGAGCAGGGGUCCACAC CAAGUCGUGUUCACAGUGGCCUAAGUUCGCCCCCCAGG	65
<i>miR-28</i>	GGUCCUUGCCCUCAAGGAGCUCACAGUCUAUUGAGUUAACUU UCUGACUUUCCCAUAAGAUUGAGCUCUCCUGGAGGGCAGGCA CU	66
<i>miR-29a-2</i>	CCUUCUGAGCCCUIUAGAGGAUGACUGAUUUCUJUUGGUGU UCAGAGUCAAUUAUAAUUUCUAGCACCAUCUGAAAUCCGGUJA UAAUGAUUGGGGAAGAGCCCAUG	67
<i>miR-29a</i>	AUGACUGAUUUCUJUUGGUGUUCAGAGUCAUAUAUUUUCU AGCACCAUCUGAAAUCCGGUJAU	68
<i>miR-29b-1</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAU AUGGGUGGUUJAGAUUUAUAG UGAUUGUCUAGCACCAUJUGAAAUCAUGUGUUCUUGGGGG	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>UGUAAUACAUGGAUUGGCUG</u> GGAGGUGGAUGUUUACGU	73
<i>miR-30b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUC <u>AGUAAACA</u> <u>UCCUACACUCAGCUGUAA</u> UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	74
<i>miR-30c</i>	AGAUACUGUAAACA <u>UCCUACACUCAGCUGGAAAGUAAG</u> AAAGCUGGGAAGAGGCUGUUUACUCUUUCU	75
<i>miR-30d</i>	GUUGUUGUAAACA <u>UCCCGACUCUGGAAGCUGUAAAGACACAGCU</u> AAGCUUCAGUCAGAUUUUGCUUCUAC	76
<i>miR-30e</i>	<u>CUGUAAACA</u> <u>UCCUUGACUUGAA</u> <u>GCUGUAAAGGUGUUCAGAGGA</u> GCUUCAGUCGGAUGUUUACAG	77
<i>miR-31</i>	GGAGAGGAGGCAAGAU <u>GCUGGCAUAGCUUGUJUGAACUGGGAAC</u> CUGCUAUGCCCAACAUAJUGCCAUCUJUCC	78
<i>miR-32</i>	GGAGAUJUGCACA <u>UACUAAGUJUGCAUGUJUGCACGGCCUC</u> AAUGCAAUUUAUGUGUGUGAUUUUUC	79
<i>miR-33b</i>	GGGGCCGAGAGAGCGGGGGCCCGCGGUGCAUJUGCUGUU <u>GCAUUGCACGUGUGAGGGCGGGUGCAGUGCCUCGGCAGUGC</u> AGCCCGGAGCCCGCCUUGGCACCCAC	80
<i>miR-33b-2</i>	ACCAA <u>GUUUCAGUUCAGUAAACA</u> <u>UCCUACACUCAGCUGUAA</u> UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	81
<i>miR-33</i>	<u>CUGUGGCAUUGUA</u> <u>GUUGCAUUGCAUGUUCUGGUGGUACCC</u> AUGCAAUGUUUCCACAGUGCAUCACAG	82

<i>miR-34-a</i>	GGCCAGCUGUGAGUGUUUCUUUUGGCAGUGUCUUAGCUGGUUG UUGAGCAAUAAGUAGGAAGCAUACAGCAAGUAUACUGCCC UAGAGUGCUGCACGUUGGGGCC	83
<i>miR-34-b</i>	GUGCUGGUUUGUAGGCAGUGUCAUUAAGCUGAUUGUACUGUG GUGUUACAACUACAUAACUCCACUGCCAUAACAAGGCAC	84
<i>miR-34-c</i>	AGUCUAGUUACUAGGCAGUGUAGUAGCUGAUUGCUAAUAGU ACCAAUCACUAAACCACACGGCCAGGUA AAAAGAUU	85
<i>miR-91-13</i>	UCAGAAUAUUGUCAAGUGCUUACAGUGCAGGUAUGUAUUG UGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAACAUAUGGUGA	86
<i>miR-92-1</i>	CUUUCUACACAGGUUGGGAUCGGUUGCAUUGCUGGUUUCUG UAUGGUUUUGCACUUGUCCCCGGCCUGUUGAGUUUGG	87
<i>miR-92-2</i>	UCAUCCUGGGUGGGAUUUGUUGCAUUA CUUGUGUUCUAUA UAAAGUAUUGCACUUGUCCCCGGCCUGUGGAAGA	88
<i>miR-93-1 (miR-93-2)</i>	CUGGGGCUCCAAAGUUCUGUUCGUGCAGGUAAGUGAUUAC CCAAACCUACUGCUGAGCUAGCACUUCCCCGAGCCCCCGG	89
<i>miR-95-4</i>	AACACAGUGGGCACUCAUAUAUGUCUGUUGAAUUGAAUUGC GUUACAUAUCAACGGGUUUUUUUUUGAGCACCCACUCUGUG	90
<i>miR-96-7</i>	UGGCCGAUUUUUGGCACUAGCACAUUUUUUGCUUGUCUCUCC GCUCUGAGCAAUCAUUGCAGUGCCCAAUAUUGGAAA	91
<i>miR-97-6 (miR-30*)</i>	GUGAGCAGUCUJAAACAUCUCCUGCAGUGGAAAGCUGUGAAGCCA CAGAUUGGCUUUCAGUCGGAUUUUGCAGCUGCCUACU	92
<i>miR-98</i>	GUGAGGUAGUAAGUUUGUAUUUGUUGGGGUJAGGGAUAUAG GCCCAAUAAGAAGUAACUAUAACAACUACUACUUCUCC	93

<i>miR-99b</i>	GGCA <u>CC</u> CA <u>CC</u> CGUAGAA <u>CC</u> GAC <u>CU</u> JUGGGGGCCUJCGCCGCAC ACAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCGUGUC	94
<i>miR-99a</i>	CCCAUUGGCAUAA <u>AC</u> CCGUA <u>GA</u> JCCGAUCUJUGGUGAAAGUG GACCGACAAGCUCGCUUCUAUGGGGUCUGUGUCAGUGUG	95
<i>miR-100-1/2</i>	AAGAGAA <u>GA</u> UAU <u>GA</u> GAGCCUGUUGCCACA <u>AA</u> CCCGUA <u>GA</u> <u>CC</u> GA <u>CU</u> UGUGUAU <u>UA</u> GU <u>CC</u> GCACA <u>AG</u> CU <u>U</u> GU <u>UA</u> CU <u>UA</u> AGG UAUGUCUGUUA <u>GG</u> CA <u>U</u> CU <u>C</u> AC	96
<i>miR-100-11</i>	CCUGUUGCCACA <u>AA</u> CCCGUA <u>GA</u> UCCGA <u>AC</u> UJUGUGUUAUAGU CCGCACAAGCUGUAUCUA <u>UA</u> GGUAUGUGUCUGUUAAGG	97
<i>miR-101-1/2</i>	AGGCUGCCCGCUCAGUUA <u>U</u> CA <u>C</u> AGUGCUGAUGCUGUCU <u>UA</u> UCUAAAGGU <u>AC</u> AGU <u>AC</u> UGU <u>GA</u> UA <u>AC</u> UGAA <u>GG</u> AUGGCAGCCAU CUU <u>AC</u> CU <u>U</u> CC <u>U</u> CA <u>G</u> AGGAGCC <u>U</u> C <u>AC</u>	98
<i>miR-101</i>	UCA <u>GU</u> UA <u>U</u> CA <u>C</u> AGUGCUGAUGCUGUCC <u>U</u> CUAA <u>AG</u> GU <u>AC</u> AG UA <u>CU</u> GU <u>GA</u> UA <u>AC</u> UGA	99
<i>miR-101-1</i>	UGCCCGCUCAGUUA <u>U</u> CA <u>C</u> AGUGCUGAUGCUGUCU <u>UA</u> U <u>CU</u> UA AAGGUACAGUACUGUGAUA <u>AC</u> UGAA <u>GG</u> AUGGCA	100
<i>miR-101-2</i>	ACUGUCCU <u>U</u> U <u>U</u> TCGGU <u>UA</u> U <u>CA</u> UGGU <u>AC</u> CGAUGCUGUAU <u>UCU</u> GAAAGGUACAGUACUGUGAUA <u>AC</u> UGAA <u>GG</u> AUGGUGU	101
<i>miR-101-9</i>	UGUCCU <u>U</u> U <u>U</u> CGGU <u>UA</u> U <u>CA</u> UGGU <u>AC</u> CGAUGCUGUAU <u>UCUGA</u> AAGGUACAGUACUGUGAUA <u>AC</u> UGAA <u>GG</u> AUGGUG	102
<i>miR-102-1</i>	CUUCUGGAA <u>GC</u> UGU <u>U</u> CA <u>C</u> AGUGGCGU <u>UA</u> GAU <u>U</u> U <u>U</u> CC <u>AU</u> CUU <u>U</u> GU <u>UA</u> CU <u>U</u> AGCAC <u>CA</u> U <u>U</u> UGAA <u>U</u> CU <u>C</u> AGUGU <u>U</u> U <u>U</u> AGGAG	103

<i>miR-102-7.1 (miR-102-7.2)</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUUAGUGGUGGUUUAGAUUUAAAUAG UGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCAAGUGUUCUUGGGGG	104
<i>miR-103-2</i>	UUGUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGUAGCAUUC GGUCAAGCAACAUTUGUACAGGGCUAUGAAAGAACCA	105
<i>miR-103-1</i>	UACUGCCCUCCGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGUUGCAUUG GAUCAAGCAGCAUTUGUACAGGGCUAUGAAGGCAUUG	106
<i>miR-104-17</i>	AAUUGUCAGACAGCCCAUCGACUGGUUUGCCAUGAGAUUCA ACAGUCAACAUCAGUCUGAUUAGCUACCCGACAAGG	107
<i>miR-105-1</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU CAUGCACCAACCGAUGUUGAGCAUGUGCUACGGUGUCUA	108
<i>miR-105-2</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU UAUGCACCAACCGAUGUUGAGCAUGUGCUAUGGUGUCUA	109
<i>miR-106-a</i>	CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGCUUUUUG AGAUUCUACUGCAUUGUAAAGCACUUCUUA CAUUAACCAUGG	110
<i>miR-106-b</i>	CCUGCCGGGGCUAAAGUGCUGACAGUGCAGAUAGUGGUCCUC UCCGUGCUACCGCACUGUGGGUA CUUGCUGCUC CAGCAGG	111
<i>miR-107</i>	CUCUCUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGUUGCCUUGUGGCAUG GAGUUCAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCAAAGCACAGA	112
<i>miR-108-1-small</i>	ACACUGCAAGAACAUAAGGAUUUUUAGGGGCAUUAUGACUG AGUCAGAAAACACAGCUGCCCCCUGAAAAGUCCCUCAUUUUUCU UGCUGU	113
<i>miR-108-2-small</i>	ACUGCAAGAGCAUAAGGAUUUUUAGGGGCAUUUAUGAUAGUG GAAUGGAAACACAUCUGCCCCCAAAAGUCCCUCAUUUU	114

<i>miR-122a-1</i>	CCUUAGCAGAGCUGGAGUGUGACAAUGGUUUGUUGUUGUCUA AACUAUCAACCGCCAUUAUCAACACUA AAUAAGCUACUGCCUAGG C	115
<i>miR-122a-2</i>	AGCUGGGAGUGUGACAAUGGGUUUUGUCCAAACUAUCA ACGCCAUUAUCACACUA AAUAAGCU	116
<i>miR-123</i>	ACAUUAUUACUUUUGGUACGGCCUGUGACACUUC AAACUCGU ACCGUGAGUAAUAUUGCCG	117
<i>miR-124a-1</i>	AGGCCUCUCUCGGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUG UCCAUACA UUAAAGGCACGGGGUGA UUGCC AGAAUGGGGCU G	118
<i>miR-124a-2</i>	AUCAAGAUUAGAGCCUCUCGUCUCCGGUUCACAGCGGACCU UGAUUUAAUGUCAUA CAAUAAAGGCACGGGUGAAUUGCCAAG AGCGGAGCCUACGGCUGCACUUGAAG	119
<i>miR-124a-3</i>	UGAGGGCCCCUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUG UCUAUACA AAUUAAGGCACGGGGUGA UUGCC AGAGAGGGCGCC UCC	120
<i>miR-124a</i>	CUCUGCGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCUAUCA UUAAAGGCACGGGGUGA AUGCCAAAGAG	121
<i>miR-124b</i>	CUCUCGGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCAUA CAAU UAAAGGCACGGGGUGAAUGCCAAAGAG	122
<i>miR-125a-1</i>	UGCCAGUCUCUAGGUCCCCUGAGACCCUUA ACCUGUGAGGAC 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> ACGGUUAAGCCUCUUGGGAGCUGCGGAGUCG 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>UGCGC</u>	128
miR-127-1	UGGAUCAUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGCUCUG AUCA <u>GAAAGA</u> UCAU <u>CGGAUCC</u> GUCCUGAG <u>CUUGGC</u> UGGUCGG AAGUCUCAUC	129
miR-127-2	CCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU <u>UCAGA</u> AAGAUCA UCGGAUCCGU <u>CUGAGCUUGGC</u> UGGUCGG	130
miR-128a	UGAGCUGU <u>GGAUUC</u> GGGGCCGUAGCACUGCUGAGAGGUUU ACAU <u>UUCACA</u> CAGUGAACCGGUCUCU <u>UUUUCAGC</u> UGCUUC	131
miR-128b	GCCCCGACCCACUGUGCAGUGGGAAAGGGGGCCGUAACACU GUACGAGAGUAGCAGGUCUCACAGUGA <u>ACCGGUCUCU</u> U <u>CCCU</u> ACUGUGCACACUCCUA <u>U</u> AGG	132

<i>miR-128</i>	GUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUCUCUGAGAGGUUUACAUUU CUACA <u>GUGAACCGGUCUCUUUUUCAGC</u>	133
<i>miR-129-1</i>	UGGAUCUUUU <u>UGCGGUCUGGGCUUGCUUCCUCUACAAGU</u> AGUCAGGAAGCCUU <u>ACCCCAA</u> AAAGUAUCUA	134
<i>miR-129-2</i>	UGCCCUUCGCGAAUCUUUU <u>UGCGGUCUGGGCUUGCUACA</u> AACUCAAUAGCCGGAAGCCCUUA <u>CCCCAAA</u> AGCAUUUGCGG AGGGCG	135
<i>miR-130a</i>	UGCUGCUGGCCAGAGCUCUUUUCACAUUGUGCUACUGUCUGC ACCUGUCACUA <u>GCAGUGCAAUGUUAAA</u> AGGGCAUUGGCCGUG UAGUG	136
<i>miR-131-1</i>	GCCAGGAGCGGGUUGGUUUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUG UAUGAGUGGUUGGAGUCUUA <u>AAAGCUAGAUAA</u> CCGAAAG UAAAUA <u>ACCCCAUACUCGCGCAG</u>	137
<i>miR-131-3</i>	CACGGCGGCAGCGGCACU <u>GGCUAAGGGAGGCCCGUUUCUC</u> UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGCCACAGAGCCGUC <u>AUA</u> AAGCUAGAUAA <u>CCGAAAGUA</u> GA <u>AAUG</u>	138
<i>miR-131</i>	GUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGUAUUGGUCU UCAUAAAGCUAGUA <u>ACCGAAAGUA</u> AAAAAC	139
<i>miR-132-1</i>	CCGCCCCCGGUCUCCAGGGCA <u>ACCGUUGCUUCCGAUUGUAC</u> UGUGGAAUCUGGAGGUAA <u>CAGUCUACAGCCAUUGGUCGCCCG</u> CAGCACGCCCCACGGCGC	140
<i>miR-132-2</i>	GGGCAACCGUGGCUUCCGAUUGUACUGUGGGAACUGGAGGU AACAGUCUACAGCCAUUGGUCGCCCG	141

<i>miR-133a-1</i>	ACAUGCUUUGCUAGAGCUGGUA ^{AA} UUGGAACCA ^{AA} AUUGGCCU CUUCA ^{AA} UGGAUUUGGU <u>CCCCUJCAACCA</u> GCUGUAGCUAUGCA UUGA	142
<i>miR-133a-2</i>	GGGAGCCA ^{AA} AUGCUUUGCUAGAGCUGGUA ^{AAA} AUGGAACCA ^{AA} UCGACUGUCCA ^{AA} UGGAUUUGGU <u>CCCCUJCAACCA</u> GCUGUAGC UGUGCAUUGAUGGGCGCG	143
<i>miR-133</i>	GCUAGAGCUGGUA ^{AAA} AUGGAACCA ^{AA} AUGGCCU <u>CUUCA</u> AUGGA UUUGGU <u>CCCCUJCAACCA</u> GCUGUAGC	144
<i>miR-133b</i>	CCUCAGAA ^{GA} AGAUUGCCCCU <u>GCUCUGGCU</u> GGUCAA ^{CGGA} ACCAAGUCCGUCUCCUGAGAGGU <u>UUGGUCCCCUJCAACCA</u> <u>CUACAGCAGGCGGCAA</u> UGCCCA <u>GUCCUJGGAGA</u>	145
<i>miR-133b-small</i>	GCCCCUGCUCUGGCU <u>GGUCAACCGAA</u> CCAAGUCCGUCUCC UGAGAGGU <u>UUGGUCCCCUJCAACCA</u> GCUGAAGCGG	146
<i>miR-134-1</i>	CAGGGUGUGAGCUGGU <u>UAGCCAGAGGGGCA</u> UGCACUGUGU CACCCUGUGGGCCACC <u>UAGUCACCA</u> ACCCU	147
<i>miR-134-2</i>	AGGGUGUGAGCUGGU <u>UAGCCAGAGGGGCA</u> UGCACUGUGU ACCCUGUGGGCCACC <u>UAGUCACCA</u> ACCCU	148
<i>miR-135a-1</i>	AGGCCUGGCU <u>GUUCUUAUGGCUUUUUUUUU</u> CUAUGUGAUUC UACUGCUCACUCAUAAGGGAUUGGAGCCGUGGGCCACGGCG GGGACA	149
<i>miR-135a-2 (miR-135-2)</i>	AGAUAA <u>UUUCACUCUA</u> GU <u>GCUUUAUGGCUUUUUUU</u> CUAUG <u>UGAUGUAUA</u> AAAGUCUCAUGAAGGGAUGGAAAGCCAU <u>GAAU</u> ACA <u>UUGUGAAAAUCA</u>	150

<i>miR-135</i>	CU <u>AUGGC</u> UUUU <u>AUUCCUAUGUGAUU</u> CUACUGCU <u>CACUCAUA</u> UAGGGAUUGGAGCCGGUGG	151
<i>miR-135b</i>	CACUCUGCUGUGGGCCU <u>AUGGC</u> UUU <u>UCAUCCUAUGUGAUUGC</u> UGUCCCAAACUCAUGUAGGGCUAAAGCC <u>AUGGGCUACAGUG</u> AGGGCGGAGCUCC	152
<i>miR-136-1</i>	UGAGCCCUCCGGAGGACUCC <u>AUUUUUUUGAUUGGAUUUCUU</u> AUGCUCCAUCAUCGUCUCA <u>AUGAGUCUUCAGAGGGUUUCU</u>	153
<i>miR-136-2</i>	GAGGACUCC <u>AUUUUUGAUUGAUGGAUUUCUUAUGCUCCAU</u> C AUCGUUC <u>CAAUGAGUCUUC</u>	154
<i>miR-137</i>	CUUCGGUGACGGGUAU <u>UCUUGGGUGGAUAUAACGGAUUACGU</u> UGUU <u>AUUGCUUAAGAAUAACGGUA</u> GUCGAGG	155
<i>miR-138-1</i>	CCUUGCAUGGUGUGGUGGGCC <u>AGCUGGUUUUGAAUCAAGG</u> CCGUUGCCAAU <u>CAGAGAACGGCUACUUCACACACCA</u> GGGCC ACACCA <u>CACUACAGG</u>	156
<i>miR-138-2</i>	CGUUGCUGCAGCUGGUGUU <u>UGAAUCAGGCCGACGACGAGCGG</u> CAUCCU <u>UACCCGGCUAUUUCACGACACCA</u> GGGUUGCAUCA	157
<i>miR-138</i>	CAGCUGGUGUU <u>GUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCGCAUCCUCU</u> UACCCGGCU <u>AUUUCACGACACCA</u> GGGUUG	158
<i>miR-139</i>	GUGUAU <u>UCACAGUGCACCGUGUCUCCAGUGGCUCCGGAGGC</u> UGGAGACGGGGCCUGUUGGAGUAAC	159
<i>miR-140</i>	UGUGUCUCUCUCUGUGUCCUGCC <u>AGUGGUUUUACCCUUAUGGU</u> AGGU <u>UACGUCAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCA</u> CGGAC AGGAUACCGGGGCACC	160

<i>miR-140as</i>	UCCUGCCAGUGGUUUUA <u>CCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUG</u> UUCUACCACAGGGUAGAACCCACGGACAGGA	161
<i>miR-140s</i>	CCUGCCAGUGGUUUUA <u>CCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUGU</u> UCUACCACAGGGUAGAACCCACGGACAGG	162
<i>miR-141-1</i>	CGGCCGCCUUGGUCCAUUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGU CUAAUUGUGAAGCUCCU <u>AACACUGUCUGGUAAAGAU</u> GGCUCC CGGUGGGUUC	163
<i>miR-141-2</i>	GGGUCCAUCUUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUUAAUUGUGAA GCUCCUACACUGUCUGGUAAAGAU <u>GGCCC</u>	164
<i>miR-142</i>	ACCUAAAGUAGAAAGCACUACUAAACAGCACUGGAGGGU <u>GU</u> AGUUUCCUACUUUAUGGAUG	165
<i>miR-143-1</i>	GCGCAGGCCUUGUCUCCCAGCCUGAGGUGGCAGUGCUGCAUC UCUGGUCAGUUGGAGUCUGAGAU <u>GAAGCACU</u> GUAGCUCACAGG AAGAGAGAAGUUUUCUGCAGC	166
<i>miR-143-2</i>	CCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCU <u>GGA</u> GAUGAAGCACUCUGAAGCUCAGG	167
<i>miR-144-1</i>	UGGGCCUUGGCUUGGGAUAUCAUAUAUCUGUAAGUUUGCG AUGAGACACU <u>ACAGUAUA</u> GAUGAUGAUCUA <u>GUCCGGGCACCC</u> CC	168
<i>miR-144-2</i>	GGCUGGGAUAUCAUAUAUCUGUAAGUUUGCGGAUGAGACAC UACAGUAUAUGAUGAUCUAGUC	169

miR-145-1	CACCUUGUCCUCACGGU <u>CCAGUUUUUCCCAGGAU</u> UCCCUUAGA UGCUAAGAUGGGGAUCCUGGA ^A AUACUGUUCUUGAGGUCAU GGUU	170
miR-145-2	CUCACGGUCCAGUU <u>UCCCAGGAU</u> CCCUUAGAUGCUAAGAU GGGAUCCUGGA ^A AUACUGUUCUUGAG	171
miR-146-1	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUUGAGAA <u>CUGAAU</u> UCCAUUGGGUU GUGUCAGUGUCAGACCUUGAA <u>UUUCAGUU</u> CUUCAGCUGGGA UAUCUCUGUCAUCGU	172
miR-146-2	AGCUUUGAGAA <u>CUGAUU</u> CCAUUGGGUUGUGUCAGUGUCAGAC CUGGAA <u>AUUCAGUU</u> CUUCAGCU	173
miR-147	AAUCUAAAGACAACA <u>UUUCUGCACACACCAGACUA</u> UGGAA GCCAGUGUGGAA <u>AUGCUUCU</u> CGUAAGAUU	174
miR-148a (miR-148)	GAGGCAAAGUUUCUGAGACACUCCGACUCUGAGUAUGAUAGAA GUCAGUGCACUACAGAA <u>CUUJUGUCUC</u>	175
miR-148b	CAAGCACGAUUAGCAUUUGAGGGUGAA <u>GUUCUGUU</u> AUACACUC AGGCUUGGCCUCUCUGAAAGUCAG <u>UGCAUCACAGAA</u> CUUUGU CUCGAAAGCUUUCUA	176
miR-148b-small	AAGCACGAUUAGCAUUUGAGGGUGAA <u>GUUCUGUU</u> AUACACUCA GGCUGUGGCCUCUCUGAAAGUCAGUGGCAU	177
miR-149-1	GCCGGGCCCGAGCU <u>UUGGCCU</u> CCGUGUCUUCACUCCCGUGCUU GUCCGAGGAGGGA <u>GGGACGGG</u> GCUGUGCGUGGGGCAGC UGGA	178

<i>miR-149-2</i>	GUCUGGCCUCCGUGUCUUCACUCCCGUGUCUUGUCCGAGGAGG GAGGGAGGGAC	179
<i>miR-150-1</i>	CUCCCCAUGGCCUUCUCCCAACCCUUGUACCAAGUGUGGGC UCAGACCCUUGUACAGGCCUUGGGGACAGGGACCCUGGGGAC	180
<i>miR-150-2</i>	CCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAAGUGUCUGGGCUCAGACCCUG GUACAGGCCUUGGGGACAGGG	181
<i>miR-151</i>	UUUCCUCCCCUCGAGGAGCUCACAGUCUAGUAGUUCUCAUCC CCUACUAGACUGAAGCUCUUGAGGACAGG	182
<i>miR-151-2</i>	CCUGUCCUCAAGGAGCUCUAGUCUAGUAGGGGAUGAGACAU CUAGACUGUGAGCUCUCCGAGGGCAGG	183
<i>miR-152-1</i>	UGUCCCCCGGCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGC UCUGGAGCAGUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCGGAAGGA CC	184
<i>miR-152-2</i>	GGCCCAAGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGCUUGGAGCA GUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCCCGG	185
<i>miR-153-1-1</i>	CUCACAGCUGCCAGUGUCAUUUUGUGAUCUGCAGCUAGU UCUCACUCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGCGAGG 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 AAAGUGAUCAUUG	189
<i>miR-154-1</i>	GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAUCCGUUGCCUCCGUUUUUAU UUGUGACGAAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUUCAGUACCAA	190
<i>miR-154-2</i>	GAA GAUAGGUUAUCCCGUUGCCUUCGCUUUAUUUGUGACGA AUCAUACA CCGGUUGACCUAUUUUUU	191
<i>miR-155</i>	CUGUUA AUGCUAAUUGUGAUAGGGGUUUUUUGCCUCCA ACUGA CUCCUACAUAUAGCAUUAACAG	192
<i>miR-156 = miR-157 = overlap miR-141</i>	CCUAAACACUGUCUGGUAAGAUGGCUCCCGGUGGGUUCUCU CGGCAGUA ACCUUCAGGGAGCCCUAGAAGACCAUGGAGGAC	193
<i>miR-158-small = miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUCCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAG CCAGUGCUCUCGUCUCCUCCUUGGCUGCCAAUUCCAUAGGUCA CAGGUAUGUUCGCCUCA AUGCCAGC	194
<i>miR-159-1-small</i>	UCCCGCCCCUGUAAACAGCAACUCCAUGUGGAAUGUCCCCACUG GUUCCAGUGGGGCUUCUGUUAUCUGGGGCGAGGGCCA	195
<i>miR-161-small</i>	AAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAGGAUGAGGUGACUUGUC UGGGCUACGCUAUGCUGCGGGCCUCGGG	196
<i>miR-163-1b-small</i>	CAUUGGCCUCCUAAAGCCAGGGAUUUGGGUUCGAGUCCCACC CGGGUAAAGAAGGCCGAUUU	197
<i>miR-163-3-small</i>	CCUAAAGCCAGGGAUUUGGGUUCGAGUCCCACCUGGGUAGA GGUGAAA GUUCCUUUAACGGGAUUUUUUU	198

<i>miR-162</i>	CAAUGUCAGCAGUGCCUUAGCAGCAGCGUAAAUUUGGCGUUA AGAUUCUAAA AUUAUCUCCAGUAUUAAACUGUGCUCUGAAGU AAGGUUGACCAUACUCUACAGUUG	199
<i>miR-175-small = miR-224</i>	GGCCUUUCAAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUUUGU GCAUUGUUUCAAAUUGGUGCCCUAGUGACUACAAGCCCC	200
<i>miR-177-small</i>	ACGCAAGUGUCCUAAAGGUGAGCUCAGGGAGCACAGAAACCUC CAGUGGAACAGAAAGGGCAAAAGCUCAUU	201
<i>miR-180-small</i>	CAUGUGUCACUUUCAAGGUGGAGUUUCAAGAGUCCCUUCCUGG UUCACCGUCUCCUUUGCUCUJCCACAAC	202
<i>miR-181a</i>	AGAAGGGCUAUCAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCCAAGGAACA <u>UUCACCGCUGCGGUGAGUUGGGAUUUGAAAAACCA</u> CUGA CCGUUGACUGUACCUUGGGGUCCUUA	203
<i>miR-181b-1</i>	CCUGUCAGAGAUUAUUUUUUAAGGUCACAUC <u>AACA</u> UUC <u>AUU</u> GCUGUCGGUGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA CAAUGAAUGCAAACUGUGGCCCGCUU	204
<i>miR-181b-2</i>	CUGAUGGCUGCACUC <u>AACA</u> UUAUUGCUUGCGGUGGUUUGA GUCUGAAUCAACUCACUGAUCAAUGAAUGCAAACUGCGGACC AAACA	205
<i>miR-181c</i>	CGGAAA <u>UUU</u> GCCAAGGGUUUGGGGGAACA <u>UU</u> CAACCUGUCCG <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> GUAGACAGUCUCAGUCAGUGAAU <u>U</u> ACCGAAGGGCCA 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	CCU <u>U</u> AUCACUUUCCAGCCCCAGCU <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> UUCCAAAGAA <u>U</u> UCUCCUUJUGGGCU <u>U</u> UCUGG UUUUUUUUAA <u>G</u> CCCCAAAGGUGAAUUUUUUJUGGGAAAGUUUGA GCU	214
miR-186-2	ACU <u>U</u> UCCAAAGAA <u>U</u> CUCCUUJUGGGCU <u>U</u> UCUGGUUUUUUU UAA <u>G</u> CCCCAAAGGUGAAUUUUUUJUGGGAAAGU	215

miR-187	GGUCCGGGCUCAACCAUGACACACAGUGUGAGACUCGGGGCUACAAC ACAGGACCCGGGGCGUCUCUGACCCCUUGUGUCUUGUGUU <u>GCAGCCGGAGGGACGCAGGUCCGCA</u>	216
miR-188-1	UGCUCUCCUCUCACA <u>CAUCCCUUGCAUGGU</u> GGAGGCUAGGCUU UCUGAAAACCCCUCCCA <u>CAUGCAGGGUUUGCA</u> GGAU <u>GGCGGAG</u> CC	217
miR-188-2	UCUCACA <u>UCCCUUGCAUGGGUGGAGGGUGAGCUUUCUGAAAAC</u> CCUCCCA <u>CAUGCAGGGUUUGCAGGA</u>	218
miR-189-1	CUGUCGAUU <u>GGACCCCGCCUCCGGUGCCUACUGAGCU</u> GAU <u>AU</u> <u>CAGUUCUCAUUUACACA</u> CUGGCCUCA <u>GUUCA</u> GCA <u>GGAACAGG</u> AGUCGAGCCCUUGAGCAA	219
miR-189-2	CUCCGGU <u>GCCUACUGAGCUGAU</u> AUCAGU <u>UCUCAUUU</u> UACACA CUGGCUCA <u>GUUCAGCAGGAACAGGAG</u>	220
miR-190-1	UGCAGGCCUCUGUGU <u>GAUUAUGUUUGAU</u> AU <u>AUAGGU</u> JUGU <u>AU</u> UUAAUCCAACUAUAUAUCAACAUAU <u>UCCUACAGUGUCUUGC</u> C	221
miR-190-2	CUGUGUAUAUGUUUGAUUAUAU <u>AGGUJGUUAUUU</u> AAUCCA ACUAUAUAUCAACAUAU <u>UCCUACAG</u>	222
miR-191-1	CGGCU <u>GACAGGGGCAACGGAAUCCCAAAAGCAGCU</u> JUGU CUCCAGAGCA <u>UUC</u> CAGCUGCGCU <u>UGGAUUUCGU</u> CCCCCGCUC UCCUGCCU	223
miR-191-2	AGCGGGCA <u>ACGGAAUCCCAAAAGCAGCU</u> JUGU <u>UCCAGAGC</u> AUCCAGCUGCGCU <u>UGGAUUUCGU</u> CCCCCGCU	224

miR-192-2/3	CCGAGACCGAGUGGCACAGGGCCUCUGACCUCUAGAAUUGACAGC CAGUGCUCUGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUUCCAUAGGUCAC AGGUAGUUJCGCCUCA AUGCCAG	225
miR-192	GCCGAGACCGAGUGGCACAGGGCCUCUGACCUCUAGAAUUGACAG CCAGUGCUCUGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUUCCAUAGGUC CAGGUAGUUJCGCCUCA AUGCCAGC	226
miR-193-1	CGAGAUUGGAGGCGUGAGGGCUGGGUCUUJUGGGGCGAGAUGA GGUGUCGGAUACAUCUGGCCUACAAGUCCCCAGUUCUCGGCC CCC	227
miR-193-2	GUCGGUCUUJUGGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAUACAUCUGG CCUACAAGUCCCCAGU	228
miR-194-1	AUGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGU ACCAAUJUCCAGUGGAGAUUCUGUJACUJUUGAUJGGUJACCA A	229
miR-194-2	GUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAAUJUCCAGU GGAGAUJCGUUAUCUUJUGAU	230
miR-195-1	AGCUUCCCCUGGCUCUAGCAGCACAGAAAUUJGGCACAGGGA AGCGAGUCUGCCAAUUAUJGGCUGUGGCUCUCCAGCCAGGGUG GUG	231
miR-195-2	UAGCAGCACAGAAAUUJGGCACAGGGAAGCGAGUCUGCCAA UAUJGGCUGUGCUGCU	232

<i>miR-196-1</i>	<u>CUAGGCUUGAAUUGGAAACUGCUGAGUGAAUUAGGUAGUUUC</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>UGCUCGCUACGUGAUCUGUGGCUUAGGUAGUJUUAUGUUGU</u> <u>UGGGAUUGAGUUUGAACUCGGCAACAAGAAACUGCCUGAGU</u> <u>UACAUCAGUCGGUJUUCGUCGAGGGC</u>	235
<i>miR-196</i>	<u>GUGAAUUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUCUGAA</u> <u>CACAACAACAUAACAACCCCGAUUCAC</u>	236
<i>miR-196b</i>	<u>ACUGGUCGGUGAUUUAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGAUCCAC</u> <u>CUUUCUCUGCACAGCACGACACUGCCUUCAUUACUUCAGUUG</u>	237
<i>miR-197</i>	<u>GGCUGUCCCGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAAAGAGCUCUU</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>CUUCUCUAUAGAAUAAUUGA</u>	240
<i>miR-199a-1</i>	<u>GCCAAACCCAGUUGUUCAGACUACCUUGUUCAGGAGGCUCUCAU</u> <u>GUGUACAGUAGUCUGGCACAUUGGUUJAGGC</u>	241
<i>miR-199a-2</i>	<u>AGGAAAGCUUCUGGAGAUCCUGUCCUGCCGCCCCAGUGUUCAG</u> <u>ACUAACCUUUUCAGGACA AUGCCGUUGUACAGUAGUCUUCGACA</u> <u>UUGGUUAGACUGGGCAAGGGAGAGCA</u>	242

<i>miR-199b</i>	CCAGAGGACACCUCCACUCCGUCUACCCAGUGUJUUAAGACU <u>AU</u> CU <u>GUUUCAGGACUCCCAAAUUGUAACA</u> GU <u>AGUCUCCACAUUGGU</u> UAGGCUGGGCUGGGUUAAGACCCUCGG	243
<i>miR-199s</i>	GCCAAACCCAGUGUUCAGACUACCUUGUUCAGGAGGCUCUCA <u>AAU</u> GUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAAGGC	244
<i>miR-200a</i>	GCCGUGGCCAUUCUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCAGG <u>UC</u> UCUAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACGGC	245
<i>miR-200b</i>	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGGCAUCUUAACUGGGCAGCAUUGGA UGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACGGCGG AGCCUCGGCACG	246
<i>miR-200c</i>	CCUCGUCUUAACCCAGCAGUJUUGGGUGCCGUGGGAGUCU CUAAUACUGCCGGUAAUGAUGGAGG	247
<i>miR-202</i>	GUUCCUUUUCUUAUGCAUAUACUUCUUAUGAUGGAUCUGG <u>CCU</u> AAAGAGGUUAAGGGCAUGGGAGAUGGAGC	248
<i>miR-203</i>	GUGUUGGGACUCGCGCGGUCUCCAGUGGUUCUUAACA <u>GU</u> UCAACAGUUCUGUAGCGCAAUUUGUGAAUUGUUUAAGGAC <u>CCACU</u> AGACCCGGCGGGCGCGGACAGCGA	249
<i>miR-204</i>	GGCUACAGUCUJUUCUJUCAUGUGACUCGGUGGACUJCC <u>CUUUGU</u> CAUCCU <u>UAGCCUGAGAAUAUAUGAAGGAGGCUGGGAAAGGCAA</u> AGGGACGUUCAUUGUCAUCACUGGC	250
<i>miR-205</i>	AAAGAUCUCAGACAAUCCAUUGUCUUCUCUJUG <u>CCUJUCAUJ</u> CCACCGGAGUCUGUCUCAUACCCCAACCCAGAUJUCA <u>GUGGAGU</u> GAAGUACAGGAGGC AUGGAGCUGACA	251

<i>mir-206-1</i>	UGC <u>UCCCGAGGCC</u> CAUGCUUCUUUAU <u>UCCCCAU</u> AUGGAU UACUU <u>GGCUAUGGAAUGUAAGGAAGGUA</u> GUGUGG <u>UUCGGCAAG</u> UG	252
<i>mir-206-2</i>	AGGCCAUGCUUCUUUAU <u>UCCCCAU</u> AUGGAU <u>UACUU</u> GGCU AUGGAU <u>GUAGGAAGGUA</u> GUGUG <u>UUUU</u>	253
<i>mir-208</i>	UGACGGCGAGCUUUUGGCCCGG <u>UUUAU</u> ACCUGAUGCUCACG UAUAAGACGAGCAAAAGCUUG <u>UUGGUCA</u>	254
<i>mir-210</i>	ACCGGCAGUGCCUCCAGGCGCAGGGCA <u>GCCCCUGCCCCACCGC</u> ACACUGCGCUGCCCCAGACCCAC <u>UGUGCGUGUGACA</u> GCGGCU GAUCUGCCUGGGCAGCGCGACCC	255
<i>mir-211</i>	UACCUGGCCAUUGAGACUUGUGGG <u>CUUCCCUU</u> UGUCAUCCUU CGCCUAGGGCUCUGAGCAGGGCAGGGGACAGCAAAGGGGUGCU CAGUUGUCACUCCACAGCA <u>CGGAG</u>	256
<i>mir-212</i>	CGGGCACCCCGCCGGACAGCGCGCCGGCACCUUGGGCU <u>CUAG</u> ACUGCUUACUGCCCCGGCC <u>CUCA</u> GUAA <u>CAGUCUCCAGUCA</u> CGGCCACCGACCGCCUGGGCCCGCC	257
<i>mir-213-2</i>	CCUGGCAGAGAUUUUUUUAAAGGUCACA <u>AAACAUIUC</u> AUUGCUUGCGGUGG <u>UUGAA</u> CUUGUGGACAAAGCUCACUGAA CAAUGAAUGCAA <u>CUUGGGCCCGCUU</u>	258
<i>mir-213</i>	GAGUUUGAGGUUGCUUCAGUGAA <u>CAUUCAA</u> CGCUGUGGGUG AGUUUGGAUUA <u>AAAUCAA</u> ACCAUCCGCGU <u>GAUUGUACC</u> CUAUGGCUAACCAUCAUCUACUCC	259

<i>miR-214</i>	GGCCUGGCCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUCUACAC UUGCUGUGCAGAACAUCCGCCUCA CCUGUACAGCAGGCACAGAG CAGGCAGUCACAUGACAA CCCAGCCU	260
<i>miR-275</i>	AUCAUUCAGAAAUGGUUAUACAGGAAA AUGACCUAUGAAUUGA <u>CAGACA</u> AUAUAGCUGAGUUUGUCUGUCAUUUCUUUAGGCCAA UAUUCUGUAUGACUGUCUACUUCAA	261
<i>miR-216</i>	GAUGGCUGUGAGUUGGCUUA <u>AAUUCUCAGCUGGCAACUGUGAGA</u> UGUUCAUACAAUCCUCACAGUGGUCUCUGGGAUU AUGCUAA ACAGAGCAAUUUCCUAGCCCCUCACGA	262
<i>miR-217</i>	AGUAUAUUUAUUA CAUAGUUUUUGAUGUCGCAGAU <u>ACUGCAU</u> <u>CAGGAACUGAUUGGAU</u> AAGAUAUCAGUCACCAUCAGUUCCUAA UGCAUUGCCUUCAGCAUCUAAACAAG	263
<i>miR-218-1</i>	GUGAUA AUGUAGCGAGAUUUUCUGUUGGCUUGAUUCUAACCA UGUGGUUGCGAGGU AUGAGUAAACA AUGGUUCCGUC AAGCAC CAUGGAACGUACGCAGCUUUCUACA	264
<i>miR-218-2</i>	GACCA GUCGCU GCGGGCUUCCUUGUGCUUGAUUCUAACCA UGUGGUGGAACGAUGGAAACGGAAACAUGGUUCUGUCAAGCAC CGCGGAAAGCACCCGUGCUCUCUGCA	265
<i>miR-219</i>	CCGCCCGGGCCGGCCUCCUGAUUGUCCAACCGCAAUUCUCG AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUC CCGAG CCGCCGCCCCCAAACCUCGAGCGGG	266

<i>miR-219-1</i>	CCGCCCCGGCCGGGCUCCUGAUUGUCCAAACGCAAUUUCUG AGUCUAUGGCUCGCGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCGCCGAG CCGCGCCCCCAACCUCGAGCGGG	267
<i>miR-219-2</i>	ACUCAGGGGCUUCGCCACUGAUUGUCCAAACGCAAUUUCUUGU ACGAGUCUGCGGCCAACCGAGA AUUGUGGCUUGGACAUUCUGUG GCUGAGCUCCGGG	268
<i>miR-220</i>	GACAGUGGGCAUUGUAGGGGCUCCACACCGUAUCUGACACUU UGGGCGAGGGCACCAUGCUGAAGGUGUUAUGAUGCGGUCUG GGAACUCCUCACGGAUUCUACUGAUG	269
<i>miR-221</i>	UGAACAUCCAGGUCUGGGGCAUGAACCCUGGCAUACA AUGUAG AUUCUGUGUJUCGUUAGGCAACAGCUACA UUGUCUGCGUGGGU UUCAGGCUACCUUGGAAACAUGUUCUC	270
<i>miR-222</i>	GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCA AUGGCUCAGUAGCCAG UGUAGA UCCUGUCUUCGUAAUCAGCAGCUACAUCUGGCUJAC UGGGUCUCUGAUGGCAUCUCUAGCU	271
<i>miR-223</i>	CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACCGCUCGUGUAUUUGACAAGCU GAGUUGGACACUCCAUUGUGGUA GAGUGUCAGUUGUCAAAUA CCCCAAGUGCGGCACAUGCUUACCAG	272
<i>miR-224</i>	GGGCUUCAAGUCACUAGUGGUCGUCUUAAGUAGAUGAUUGU GCAUUGUUUCAAAAUGGUGCCCUAGUGACUACA AAGGCC	273

<i>miR-294-1 (chr16)</i>	CAAUCUCCUUUAUCAUGGUUAUGAUUUUUUUCAGUGCUUCCCCU UUUGUGAGAGAAGAU	274
<i>miR-296</i>	AGGACCCUUCAGAGGGCCCCCCCUCAAUCCUUGUUGGCCUAA UUCAGAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCCUGAAGGGCUCU	275
<i>miR-299</i>	AAGAAAUGGUUUACCGUCCCCACAUAUUUUUUAUUAUGUAUG UGGGAUGGUAAACCGCUUCU	276
<i>miR-301</i>	ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUUAUUUGCACUACUGUACUUU ACAGCUAGCAGUGCAAUAUAUUUUCAAAGCAUCUGAAAGCA GG	277
<i>miR-302a</i>	CCACCACUUAACGUGGAUGUACUUGCUUUGAAACUAAAGAA GUAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGAUGG	278
<i>miR-302b</i>	GCUCCCUUCAACUUUAACAUGGAAGUGCUUUUCUGACUUUA AAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUAUAUAGGAGU	279
<i>miR-302c</i>	CCUUUGCUUUAACAUGGGGUACCUUGCUUGUGAAACAAAAG UAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGGAGG	280
<i>miR-302d</i>	CCUCUACUUUAACAUGGAGGCACUUGCUUGACAUAGACAAAA AUAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGUGG	281
<i>miR-320</i>	GCUUCGCUCCCCUCCGUUCUUCUCCCGGUUUCUCCCGGAGU CGGGAAGAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA AAAAGGAUGAGGU	282
<i>miR-321</i>	UUUGGCCUCCUAAAGCCAGGGAUUUGGGUUCGAGUCCACCCCG GGGUAAAGAAAGGCCGA	283

miR-323	UUGGUA CUUGGAGAGAGGUGGUGCGGUGGGCGGUUCGCUUUUAU UU AUGGGCGCACAUUACACGGGUCGACCCUCUUGCAGUAUCUAA UC	284
miR-324	CUGACUAUGCCUCCCGCAUCCCCUAGGGCAUUGGUGUAAG CUGGAGACCCACUGCCCCAGGUGGUGGUGGGGUGUAGUC	285
miR-325	AUACAGUGCUUGGUUCCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGUUUGU GACAU AUUUGUUUAUUGAGGACCUCUUAUCAAUCAAGCACU GUGCUAGGCUCUGG	286
miR-326	CUCAUCUGUCUUGUGGCUUGGAGGCA GGCCUUUGUAAAGC GGGUGGUCUCAGAU CGCCUCUGGGCCCUUCCUCCAGCCCCGA GGCGAUUCA	287
miR-328	UGGAGUGGGGGGCGAGGAGGGGCU CAGGGAGAAAGUGCAUAC AGCCCCUGGCCCUUCUGCCCCUCCGUGCCCCUG	288
miR-330	CUUUGGCGAUCA CUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUUAAGGCUCU GCAA GAUCAACCGAGCAAAGCACACGGCCUUGCAGAGAGGCAG CGCUCUGCCC	289
miR-331	GAGUUUGGUUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGU AUGGUCCCCAGG GAUCCCGAUCA ACCAGGCCCCUUGGGCCU AUCCUAGAACCAA CCUAGGCUC	290
miR-335	UGUUUUGAGCGGGGUCAGAGCAAUAACGAA AA AUGUUUGU CAUAA CCGUUUUUCAAUU AUGCUCUCCUGACCUCUCCUCAUUU GCUAUAUUCA	291

miR-337	GUA GUCAGUA GUUGGGGGUGGGAACGGCUUCAUACAGGAGU UGAUGCACAGUUAUCCAGCUCCUAUAUGAUGCCUUCUCUCAU CCCCUCAA	292
miR-338	UCUCCAACAUAUCCUGGUGUGAGUGAUCACAGGGGACU CCAGCAUCAUGAUUUUGUUGAAGA	293
miR-339	CGGGGGCCGCCUCUCCUUGUCCUCCAGGAGCUACGUGUGCC UGCCUGAGCGCCUCGACGACAGGCCGGCCUCCCCCAGU GUCUGCGC	294
miR-340	UUGUACCU GGUGUAUUAAGCAAUGAGACUGAUUGUCAU AUGUCGUUUGUGGGAUCCGUCUCAGUACUUAUAGCCAUAAC CUGGUAUCUUA	295
miR-342	GAAACUGGGCUCAAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUUGAGGG ACAUGGUUAUUGGAUUGUCUCACACAGAAUCCGCACCCGUC ACCUUGGCCUACUUA	296
miR-345	ACCCAAACCCUAGGUCUGCUGACUCCUAGUCCAGGGCUCUG AUGGCUGUGGGCCUUGAACGAGGGGUCUGGAGGCCUUGGGUJ UGAAUAUCGACAGC	297
miR-346	GUCUGUCUGCCCGCAUGCCUCCUUCUGUJUGCUCUGAAGGA GGCAGGGGUCUGGGCCUGCAGCUGCCUGGGCAGAGCGGGCUCU 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>	GUGGCACUCAACUCUGUGGGGACUUCUCUGCUCUCUGGUGAA AGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUAC	303
<i>miR-372</i>	GUGGGCCUCAAUUGUGGAGCACUAUUCUGAUGUCCAAGUGGA AAGUCUGCGACAUUUGAGCGUCAC	304
<i>miR-373</i>	GGGAUACUCAAUUGGGGGCGUUCCUUUUUGUCUGUACUG GGAAGUCUUCG AUUUUGGGGUGUCCC	305
<i>miR-374</i>	UACAUCGGCCAUUAUAUAACAACCUGAUAAAGUGUUUAUAGCAC UUAUCAGAUUGUAUUGUAUUGUCUGUGUA	306
<i>miR-hes1</i>	AUGGAGCUCUACCCUGUGGGCCUCAAUUGUGGAGGAACUA UUUCUGAUGUCCAAAGUGGAAAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCA CCGGUGACGCCCAUAUCA	307
<i>miR-hes2</i>	GCAUCCCCUCAGCCUGUGGCACUCAACUCUGGGGGCACUUU CUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCGCCCAUCUUUUGAGUGUUACCG 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>	ugagguaguagguuguauaguu	310	<i>let-7a-1; let-7a-2; let-7a-3; let-7a-4</i>
<i>let-7b</i>	ugagguaguagguugugugguu	311	<i>let-7b</i>
<i>let-7c</i>	ugagguaguagguuguauugguu	312	<i>let-7c</i>
<i>let-7d</i>	agagguaguagguugcauagu	313	<i>let-7d; let-7d-v1</i>
<i>let-7e</i>	ugagguaggagguuguauagu	314	<i>let-7e</i>
<i>let-7f</i>	ugagguaguagauuguauaguu	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>	uggaauguaaagaaguauagua	318	<i>miR-1b; miR-1b-1; miR-1b-2</i>
<i>miR-7</i>	uggaagacuagugauuuuguu	319	<i>miR-7-1; miR-7-1a; miR-7-2; miR-7-3</i>
<i>miR-9</i>	ucuuugguuauacuagcuguauaga	320	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-9*</i>	uaaagcuagauaacccgaaagu	321	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-10a</i>	uaccuguagauccgaauuugug	322	<i>miR-10a</i>
<i>miR-10b</i>	uaccuguagauaccgaauuugu	323	<i>miR-10b</i>
<i>miR-15a</i>	uagcagcacauaauugguuugug	324	<i>miR-15a; miR-15a-2</i>
<i>miR-15b</i>	uagcagcacaucauugguuuaca	325	<i>miR-15b</i>
<i>miR-16</i>	uagcagcacguaauauuugcg	326	<i>miR-16-1; miR-16-2; miR-16-13</i>
<i>miR-17-5p</i>	caaagugcuuacagugcagguagu	327	<i>miR-17</i>
<i>miR-17-3p</i>	acugcagugaaggcacuugu	328	<i>miR-17</i>
<i>miR-18</i>	uaagugcaucuagugcagaua	329	<i>miR-18; miR-18-13</i>
<i>miR-19a</i>	ugugcaauucaugcaaaacuga	330	<i>miR-19a; miR-19a-13</i>
<i>miR-19b</i>	ugugcaauucaugcaaaacuga	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>	uagcuuauacagacugauguuga	333	<i>miR-21; miR-21-17</i>
<i>miR-22</i>	aagcugccaguugaagaacugu	334	<i>miR-22</i>
<i>miR-23a</i>	aucacauugccagggauuucc	335	<i>miR-23a</i>
<i>miR-23b</i>	aucacauugccagggauuaccac	336	<i>miR-23b</i>
<i>miR-24</i>	uggcucaguuacagcaggaacag	337	<i>miR-24-1; miR-24-2; miR-24-19; miR-24-9</i>
<i>miR-25</i>	cauugcacuugucucggucuga	338	<i>miR-25</i>
<i>miR-26a</i>	uucaaguaauccaggauaggcu	339	<i>miR-26a; miR-26a-1; miR-26a-2</i>
<i>miR-26b</i>	uucaaguaauucaggauaggu	340	<i>miR-26b</i>
<i>miR-27a</i>	uucacaguggcuuaguuuccgcc	341	<i>miR-27a</i>
<i>miR-27b</i>	uucacaguggcuuaguuucug	342	<i>miR-27b-1; miR-27b-2</i>
<i>miR-28</i>	aaggagcucacagucuuuagag	343	<i>miR-28</i>
<i>miR-29a</i>	cuagcaccuucgaaucgguu	344	<i>miR-29a-2; miR-29a</i>
<i>miR-29b</i>	uagcaccuuuugaaucagu	345	<i>miR-29b-1; miR-29b-2</i>
<i>miR-29c</i>	uagcaccuuuugaaucgguu	346	<i>miR-29c</i>
<i>miR-30a-5p</i>	uguuaaacaucucgacuggaagc	347	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30a-3p</i>	cuuucagucggauguuugcagc	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>	gugcauuuguaguugcauug	355	<i>miR-33; miR-33b</i>
<i>miR-34a</i>	uggcagugucuuagcugguuugu	356	<i>miR-34a</i>
<i>miR-34b</i>	aggcagugucuuagcugguuugu	357	<i>miR-34b</i>
<i>miR-34c</i>	aggcagugucuuagcugguuugu	358	<i>miR-34c</i>
<i>miR-92</i>	uauugcacuuuguccggccugu	359	<i>miR-92-2; miR-92-1</i>
<i>miR-93</i>	aaagugcuguuucgucagguag	360	<i>miR-93-1; miR-93-2</i>
<i>miR-95</i>	uucacggguuuuuuugagca	361	<i>miR-95</i>
<i>miR-96</i>	uuuggcacuaagcauuuuugc	362	<i>miR-96</i>
<i>miR-98</i>	ugagguaguaguuguauuuugu	363	<i>miR-98</i>
<i>miR-99a</i>	aaccguagaucggaucuuugug	364	<i>miR-99a</i>
<i>miR-99b</i>	caccguagaaccgacuuugcg	365	<i>miR-99b</i>
<i>miR-100</i>	uacaguacugugauaacugaag	366	<i>miR-100</i>
<i>miR-101</i>	uacaguacugugauaacugaag	367	<i>miR-101-1; miR-101-2</i>

<i>miR-103</i>	agcagcauuguacagggcuaua	368	<i>miR-103-1</i>
<i>miR-105</i>	ucaaauugcucagacuccugu	369	<i>miR-105</i>
<i>miR-106-a</i>	aaaagugcuuacagugcagguagc	370	<i>miR-106-a</i>
<i>miR-106-b</i>	uaaagugcugacagugcagau	371	<i>miR-106-b</i>
<i>miR-107</i>	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>	uauggcuuuauuccuauugug	390	<i>miR-135b</i>
<i>miR-136</i>	acuccauuuguuuugaugaugga	391	<i>miR-136-1; miR-136-2</i>
<i>miR-137</i>	uaugcuuaagaauacgcuag	392	<i>miR-137</i>
<i>miR-138</i>	agcugguguuugugauc	393	<i>miR-138-1; miR-138-2</i>
<i>miR-139</i>	ucuacagugcagugucu	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>	ugagaugaagcacugagcuca	399	<i>miR-143-1</i>
<i>miR-144</i>	uacagauauagauagucacuag	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>	aaucacuacacggugaccuauu	412	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-155</i>	uuauugcuauucgugauagggg	413	<i>miR-155</i>
<i>miR-181a</i>	aacauucaacgcugcggugagu	414	<i>miR-181a</i>
<i>miR-181b</i>	aacauucauugcugcggugguu	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>	ucgugucuuguguugcagccg	423	<i>miR-187</i>
<i>miR-188</i>	caucccuugcaugguggagggu	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>	uuccaccuucuccaccagc	434	<i>miR-197</i>
<i>miR-198</i>	gguccagaggggagauagg	435	<i>miR-198</i>
<i>miR-199a</i>	cccaguguucagacuaccguuc	436	<i>miR-199a-1; miR-199a-2</i>
<i>miR-199a*</i>	uacaguagucgcacauuguu	437	<i>miR-199a-1; miR-199a-2; miR-199s; miR-199b</i>
<i>miR-199b</i>	cccaguguuuagacuauugcuuc	438	<i>miR-199b</i>
<i>miR-200a</i>	uaacacugucugguaacgaugu	439	<i>miR-200a</i>
<i>miR-200b</i>	cucuauuacugccugguaaugaug	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>	uggaaguaaggaagugugugg	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>	agcuacauugucugcugguuuc	459	<i>miR-221</i>
<i>miR-222</i>	agcuacauucuggcuacugggucuc	460	<i>miR-222</i>
<i>miR-223</i>	ugucaguuuugucaaaacc	461	<i>miR-223</i>
<i>miR-224</i>	caagucacuagugguuccguua	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>	uaagugcuuccauguuuaguag	468	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302c*</i>	uuuaacauggggguaccugcug	469	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302c</i>	uaagugcuuccauguuucagugg	470	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302d</i>	uaagugcuuccauguuugagugu	471	<i>miR-302d</i>
<i>miR-320</i>	aaaagcuggguugagagggcgaa	472	<i>miR-320</i>
<i>miR-321</i>	uaagccagggauugugguuc	473	<i>miR-321</i>
<i>miR-323</i>	gcacauuacacggcugaccucu	474	<i>miR-323</i>
<i>miR-324-5p</i>	cgcaucccuaggcgauggugu	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>	uccagcuccuauaugaugccuuu	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>	ucucacacagaaaucgacccguc	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 ^3H , ^{32}P , ^{33}P , ^{14}C o ^{35}S ; un metal pesado; un ligando capaz de actuar como un miembro de par de unión específico para un ligando marcado (por ejemplo, biotina, avidina o un anticuerpo); una molécula fluorescente; una molécula quimioluminiscente; una enzima o similares.

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

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

5 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.

10 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.

20 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.

25 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.

40 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.

55 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.

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
 45
 50

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, Proligo
 55
 60

(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
40

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.
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 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.
30

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/10⁵ células. Por ejemplo, puede usarse una relación de aproximadamente 0,5 microgramos de vector plasmídico en 3 microgramos de DOTAP por cada 10⁵ células.

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, 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
50 inyección directa en el tumor.
55

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 péctico, ácido neuramínico, ácido alginico, carragenina; polisacáridos u oligosacáridos aminados (lineales o ramificados); o polisacáridos u oligosacáridos carboxilados, por ejemplo, que han reaccionado con derivados de ácidos carbónicos con enlace resultante de grupos carboxílicos. Preferentemente, el resto de inhibición de la opsonización es un PEG, PPG o un derivado de los mismos. Los liposomas modificados con PEG o derivados de PEG se denominan en ocasiones "liposomas PEGilados".

El resto inhibidor de la opsonización puede estar unido a la membrana del liposoma por una cualquiera de numerosas técnicas bien conocidas. Por ejemplo, un éster de N-hidroxisuccinimida de PEG puede estar unido a un anclaje soluble en lípidos de fosfatidiletanolamina, y después unido a una membrana. De forma similar, un polímero de dextrano puede derivatizarse con un anclaje soluble en lípidos de estearilamina mediante aminación reductora usando Na(CN)BH₃ 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^a 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
 5 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,
 10 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
 15 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,
 20 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
 25 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.
 30

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
 35 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.

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

Ejemplificación

45 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
 50 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.
 55

Micromatriz de microARN

Se realizó análisis de micromatriz como se ha descrito previamente (Liu, C.-G., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA
 60 101: 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/NaH₂PO₄ 60 mM · H₂O/EDTA 8 mM, pH 7,4)/formamida 30 % a 25 °C durante 18 h, se lavaron en TNT 0,75x (Tris-HCl/NaCl/Tween 20) a 37 °C durante 40 minutos, y se procesaron
 65 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) 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).

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

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

miR	ID	Media de Cáncer	Media Normal	Estadística de ensayo	p sin procesar	p Aj
miR-21	Nº 47	11,538663	9,648338	7,861136	2,00E-06	2,00E-06
miR-141	Nº 137	9,024091	7,905398	6,238014	2,00E-06	2,00E-06
miR-212	Nº 208	13,540651	14,33617	-6,57942	2,00E-06	2,00E-06
miR-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).

5

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

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

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

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/, o como se indica por OMIM en 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 CO₂ 5 %. Las células se cotransfectaron en placas de 12 pocillos usando siPORT neoFX (Ambion, Austin, TX), de acuerdo con el protocolo del fabricante, con 0,4 µg del vector indicador de luciferasa de luciérnaga y 0,08 µg del vector de control que contiene luciferasa de Renilla, pRL-TK (Promega). Para cada pocillo, se usaron oligonucleótidos de microARN (Dharmacon Research, Lafayette, CO) y oligonucleótidos antisentido o
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 (TGFB2) y gen de adenoma pleiomórfico 1 (PLAG1), se confirmaron experimentalmente por ensayos *in vitro*. Usando un ensayo de indicador de luciferasa, tres microARN ensayados (miR-106a, miR-20a y miR-26a-1) provocaron una reducción significativa de la traducción de proteínas en relación con los oligoARN de control mezclados en células MEG-01 transfectadas (FIGURA 6). Se descubrió, por ejemplo, que las UTR 3' de retinoblastoma 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:Bcl2. Notablemente, miR-17-5p y miR-16 son miembros del distintivo de cáncer sólido de miARN descrito en la presente memoria.

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

Gen de miARN	Nombre del gen	Descripción del gen
miR-26a, miR-146	ABL2	homólogo de oncogén viral de leucemia murina de Abelson v-abl 2 (arg, gen relacionado con Abelson)
miR-107	AF5q31	gen fusionado con ALL1 de 5q31
miR-20, miR-125b	AKT3	homólogo de oncogén viral de timoma murino v-akt 3
miR-26a, miR-155 miR-125b	APC	poliposis adenomatosa de colon
miR-26a, miR-218	ARHGEF12	factor de intercambio de nucleótidos de guanina de RHO (GEF) 12 (LARG)
miR-107, miR-221	ARNT	translocador nuclear de receptores de hidrocarburos de arilo
miR-192	ATF1	factor de transcripción activador 1
miR-26a	ATM	ataxia telangiectasia mutada (incluye grupos de complementación A, C y D)
miR-24	AXL	tirosina quinasa receptora de AXL
miR-26a, miR-107, miR-146, 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 o presentados por OMIM en 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.
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.
- 20 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.
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.
- 25 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.
- 30 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;
 - 35 (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;
 - 40 (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;
 - 45 (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;
 - 50 (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
 - 55 (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.
 - 60 10. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene, o está en riesgo de desarrollar, un cáncer sólido, que comprende:
 - 65

- (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 a 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

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

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

	cugugggauG agguaguaga uuguauaguu guggggguagu gauuuuaccc uguucaggag	60
	auaacuauac aaucuauugc cuucccuga	89
5	<210> 13 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 13	
	cugugggauG agguaguaga uuguauaguu uuagggucuu accccaucuu ggagauaacu	60
10	auacagucua cugucuuucc cacgg	85
15	<210> 14 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 14	
	uugccugauu ccaggcugag guaguaguuu guacaguug agggucaug auaccacccg	60
20	guacaggaga uaacuguaca ggcacugcc uugccaggaa cagcgcgc	108
25	<210> 15 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 15	
	cuggcugagg uaguaguug ugcuguuggu cggguuguga cauugcccgc uguggagaua	60
30	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
35	<210> 16 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 16	
	accuacucag aguacauacu ucuuuugua cccauaugaa cauacaugc uauggaugu	60
	aaagaaguau guauuuugg uaggc	85
40	<210> 17 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 17	
	çagcuaacaa cuuaguaua ccuacucaga guacauacuu cuuuuugua ccauangaac	60
	auacaugcu auggaugua aagaaguug uauuuuuggu aggcaua	108
50	<210> 18 <211> 85 <212> ARN	

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

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

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

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

ES 2 526 787 T3

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

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

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

ES 2 526 787 T3

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

	augacugauu ucuuuuggug uucagaguca auauuuuuu cuagcaccuau cugaaucgg	60
	uuau	64
5	<210> 69 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 69	
	cuucaggaag cugguuucau auggugguuu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccuau	60
10	ugaaucagu guucuugggg g	81
15	<210> 70 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 70	
	cuucuggaag cugguuucac auggugguuu agauuuuuuu aucuuuguau cuagcaccuau	60
20	uugaaucag uguuuuagga g	81
25	<210> 71 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 71	
	accacugggc caucucuac acaggcugac cgauuuucucc ugguguucag agucuguuuu	60
	ugucuagcac cauuuuagaau cgguuuagau guagggggaa aagcagcagc	110
30	<210> 72 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 72	
	gcgacuguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gaugggcuuu cagucggau	60
	uuugcagcug c	71
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		
		accaaguuuc aguucaugua acauccuac acucagcugu aaucaugga uggcuggga	60
		gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88
5	<210> 75 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 75		
		agauacugua acauccuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug	60
		uuuacucuuu cu	72
15	<210> 76 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 76		
		guuguuguaa acauccccga cuggaagcug uaagacacag cuaagcuuuc agucagaugu	60
		uugcugcuac	70
25	<210> 77 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 77		
		cuguaaacau ccuugacugg aagcuguaag guguucagag gagcuuucag ucgganguuu	60
30		acag	64
35	<210> 78 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 78		
		ggagaggagg caagaucug gcauagcugu ugaacuggga accugcuauug ccaacauuu	60
		gccaucuuuc c	71
40	<210> 79 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 79		
		ggagauuuug cacauuacua aguugcaugu ugucacggcc ucaaugcaau uuagugugug	60
		ugauuuuuuc	70
50	<210> 80 <211> 110		

ES 2 526 787 T3

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

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

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

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

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

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

	aucaagauua gaggcucugc ucuccguguu cacagcggac cuugauuuua ugucauacaa	60
	uuuaggcacg cggugaaugc caagagcggga gccuacggcu gcacuugaag	110
5	<210> 120 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 120	
	ugagggcccc ucugcuguguu cacagcggac cuugauuuua ugucauacaa auuaaggcac	60
10	gcgugugaug ccaagagagg cgccucc	87
15	<210> 121 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 121	
	cucugcuguu ucacagcggga ccuugauuuua augucauac auuaaggcac cgcgugaaug	60
20	gccaagag	68
25	<210> 122 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 122	
	cucuccgugu ucacagcggga ccuugauuuua augucauac auuaaggcac gcgugugaug	60
30	ccaagag	67
35	<210> 123 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 123	
	ugccagucuc uagguccug agaccuuua accugugagg acauccaggg ucacagguga	60
	gguuccuuggg agccuggcgu cuggcc	86
40	<210> 124 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 124	
	gguccugag accuuuaac cugugaggac auccaggguc acaggugagg uuccuugggag	60
45	ccugg	65
50	<210> 125 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

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

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

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

	<210> 148		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 148		
	aggguugugug acugguugac cagaggggca ugcacugugu ucaccugug ggccaccuag	60	
	ucaccaaccc u	71	
10	<210> 149		
	<211> 90		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 149		
	aggccucgcu guucucuauug gcuuuuuauu ccuauugugau ucuacugcuc acucauauag	60	
	ggauugggagc cgugggcgac ggcggggaca	90	
20	<210> 150		
	<211> 100		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 150		
	agauaaaauuc acucuagugc uuuauggcuu uuuaauccua ugugauagua auaaagucuc	60	
	auguagggau ggaagccaug aaauacauug ugaaaaauca	100	
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		
	.cacucugcug uggccuauug cuuuucauuc cuauugugauu gcugucccaa acucauguag	60	
	ggcuaaaagc caugggcuac agugaggggc gagcucc	97	
45	<210> 153		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 153		
	ugagcccucg gaggacucca uuuguuuuga ugauuggauuc uuauugcucca ucaucgucuc	60	
	aaauagucuc ucagaggguu cu	82	

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

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

ES 2 526 787 T3

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

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

ES 2 526 787 T3

	<211> 99		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 176		
	caagcaccgau uagcauuuga ggugaaguuc uguuauacac ucaggcugug gcucucugaa	60	
	agucagugca ucacagaacu uugucucgaa agcuuucua	99	
10	<210> 177		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 177		
	aagcaccgau agcauuugag gugaaguucu guuauacacu caggcugug gcucucugaa	60	
	gucagugcau	70	
20	<210> 178		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 178		
	gccggcgccc ggcucuggc uccgugucu cacucccgug cuuguccgag gagggaggga	60	
	gggacggggg cugugcuggg gcagcugga	89	
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		
	cucccaugg ccugucucc caaccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg	60	
	ccugggggac agggaccugg ggac	84	
50	<210> 181		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
55	<400> 181		
	ccugucucc caaccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg ccugggggac	60	
	aggg	64	
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 ggcccagguu cugugauaca cuccgacucq ggcucuggag cagucagugc 60

augacagaac uugggccccq aaggacc 87

25

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

30

<400> 185

ggcccagguu cugugauaca cuccgacucq ggcucuggag cagucagugc augacagaac 60

uugggccccq g 71

35

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

40

<400> 186

cucacagcug ccagugucau uuuugugauc ugcagcuagu auucucacuc caguugcaua 60

gucacaaaag ugaucuuugq caggugugq 90

45

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

<400> 187

	ucucucucuc ccucacagcu gccaguguca uugucacaaa agugaucuu ggcaggugug	60
	gcugcugcaw g	71
5	<210> 188 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 188	
	agcgguggcc agugucuuu uugugauguu gcagcuagua auaugagccc aguugcawag	60
10	ucacaaaagu gawcawugga aacugug	87
15	<210> 189 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 189	
	cagugucawu uuugugaugu ugcagcuagu aauaugagcc cawugcawu gucacaaaag	60
20	ugawcawug	69
25	<210> 190 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 190	
	gugguacuwg aagawugguu auccguguwg ccuucgcuu auuugugacg aawcawacac	60
30	ggugaccua uuuucagua cca	84
35	<210> 191 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 191	
	gaagawuggu uauccguguu gccuucgcuu auuugugac gawcawaca cggugaccu	60
40	auuuuu	66
	<210> 192 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 192	
	cuguuauugc uauccgugau agggguuuu gccuccaacu gacuccuaca uauugcawu	60
45	aacag	65
50	<210> 193 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

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

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

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

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

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

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

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

ES 2 526 787 T3

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

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

ES 2 526 787 T3

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

35

40

45

50

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

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

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

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

ES 2 526 787 T3

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

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

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

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

	auggagcugc ucaccugug gcccucaau guggaggaac uauucugaug uccaagugga	60
	aagugcugcg acuuugagc gucaccggug acgcccauu ca	102
5	<210> 308 <211> 101 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 308	
	gcauucccuc agccuguggc acucaaacug ugggggcacu uucugcucuc uggugaaagu	60
10	gccgccaucu uuugaguguu accgcuugag aagacucaac c	101
15	<210> 309 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 309	
	cgaggagcuc auacugggau acucaaaaug gggggcguuu ccuuuuuguc uguuacuggg	60
20	aagugcuucg auuuugggu guccuguuu gaguagggca uc	102
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 gguuguaugg 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
 55
 <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
 10
 <210> 382
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 382
 cuuuuugcgg ucuggguug c 21
 20
 <210> 383
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 383
 cagugcaaug uaaaaagge 20
 25
 <210> 384
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30
 <400> 384
 cagugcaaug augaaagggc au 22
 35
 <210> 385
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 385
 uaacagucua cagccauggu cg 22
 40
 <210> 386
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 386
 uuggucccu ucaaccagcu gu 22
 50
 <210> 387
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 387
 uuggucccu ucaaccagcu a 21
 55
 <210> 388
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 60
 <400> 388
 ugugacuggu ugaccagagg g 21
 65
 <210> 389
 <211> 23
 <212> ARN

<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> *Homo sapiens*

10 <400> 398
 cauaaaguag aaagcacuac 20

15 <210> 399
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 399
 ugagaugaag cacuguagcu ca 22

25 <210> 400
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 400
 uacaguauag augauguacu ag 22

35 <210> 401
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 401
 guccaguuuu cccaggaauc ccuu 24

45 <210> 402
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 402
 ugagaacuga auuccauggg uu 22

55 <210> 403
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 403
 guguguggaa augcuucugc 20

65 <210> 404
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 404
 ucagugcacu acagaacuuu gu 22

<210> 405
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<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
 uagguuaucg 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
 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
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 441
 20 aauacugccg gguaaugaug ga 22
 <210> 442
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 442
 agagguauag ggcaugggaa ga 22
 <210> 443
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 443
 35 gugaaauguu uaggaccacu ag 22
 <210> 444
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <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
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 55 <400> 446
 60 uggaauguaa ggaagugugu gg 22
 <210> 447
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 65

<400> 447
 auaagacgag caaaaagcuu gu 22

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

10 <400> 448
 cugugcgugu gacagcggcu g 21

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

20 <400> 449
 uuccuuugu cauccuucgc 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
 uqquuuaccq ucccacauac au 22
 5
 <210> 465
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 10
 <400> 465
 cagugcaaua gusuugucaa age 23
 15
 <210> 466
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 20
 <400> 466
 uaagugcuuc cauguuuugg uga 23
 25
 <210> 467
 <211> 23
 <212> ARN
 <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
 40
 <210> 469
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 469
 uuuacaugg gguaccugc ug 22
 45
 <210> 470
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50
 <400> 470
 uaagugcuuc cauguucag ugg 23
 55
 <210> 471
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 60
 <400> 471
 uaagugcuuc cauguugag ugu 23
 65
 <210> 472
 <211> 23
 <212> ARN
 <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
 10 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 482
 15 ucaagagcaa uaacgaaaaa ugu 23
 <210> 483
 <211> 23
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 483
 uccagcuccu auaugaugcc uuu 23
 25 <210> 484
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 484
 uccagcauca gugauuuugu uga 23
 <210> 485
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35 <400> 485
 uccuguccu ccaggagcuc a 21
 40 <210> 486
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 486
 uccgucucag uuacuuuaua gcc 23
 50 <210> 487
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 487
 55 ucucacacag aaaucgcacc cguc 24
 <210> 488
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 60 <400> 488
 ugcugacucc uaguccaggg c 21
 65 <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.

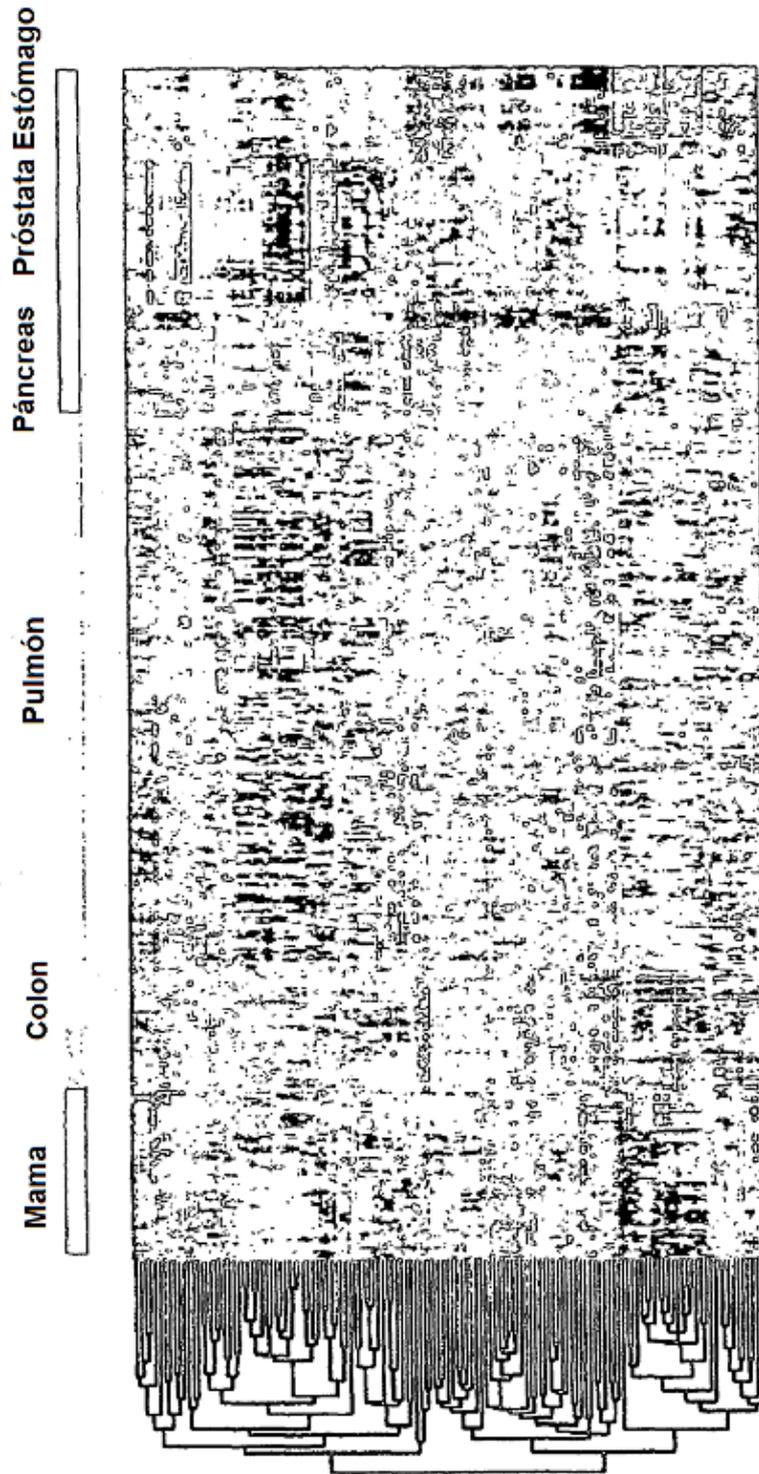


FIG. 1

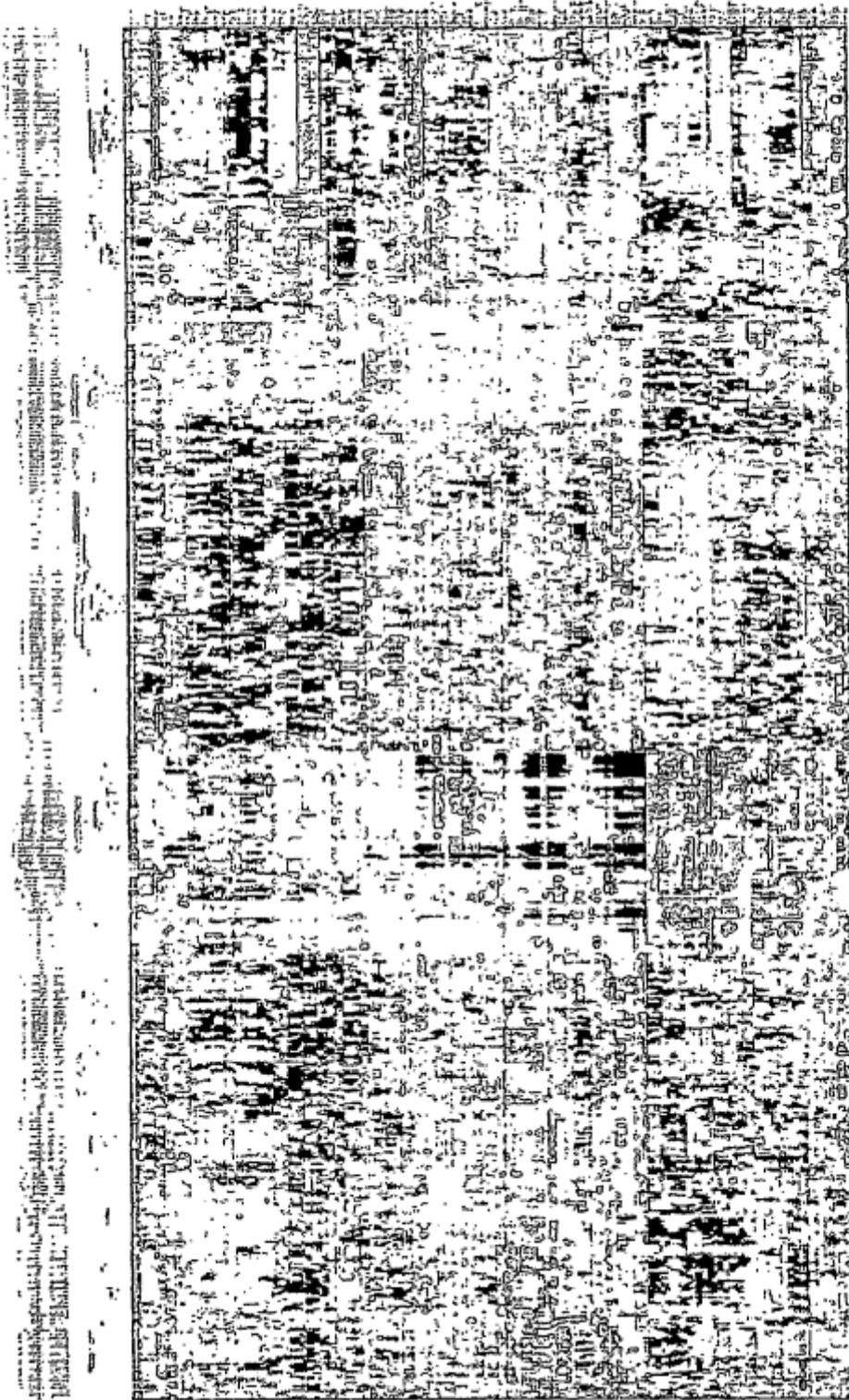


FIG. 2

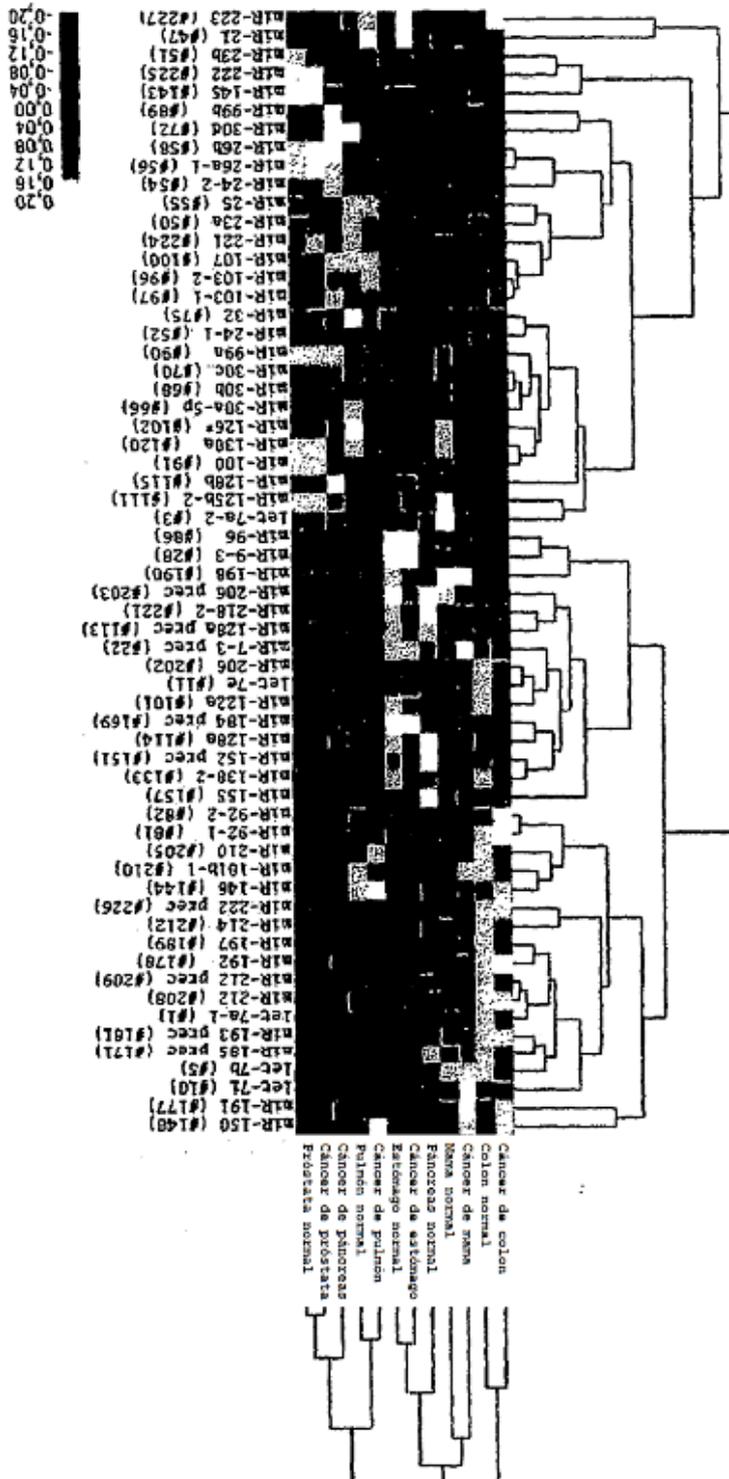


FIG. 3

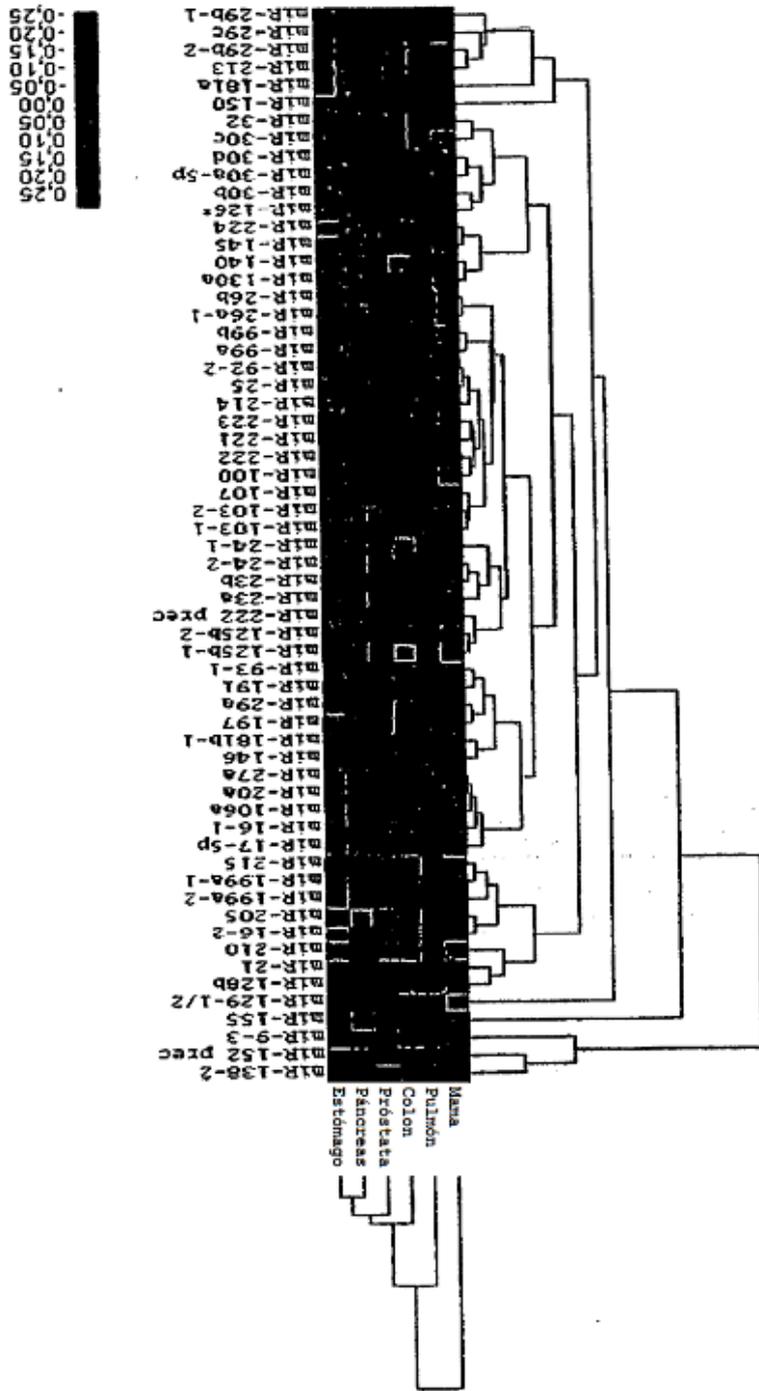


FIG. 4

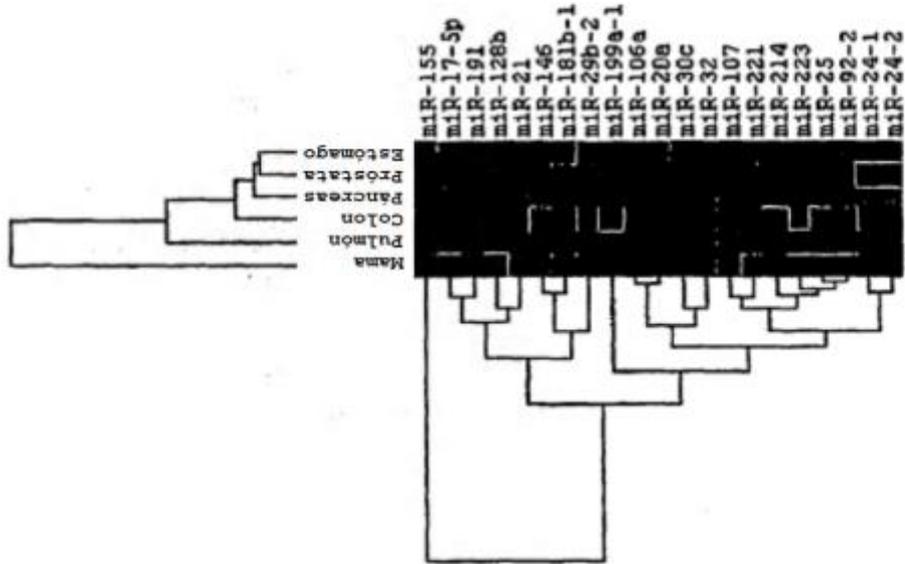


FIG. 5

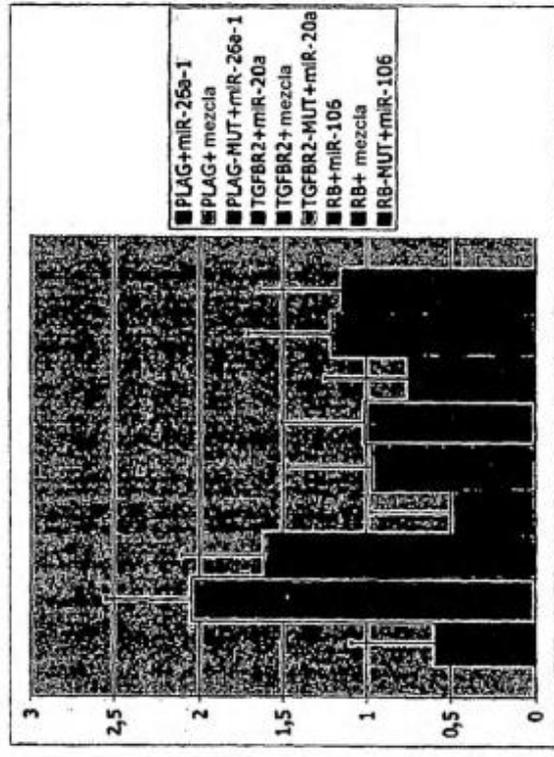
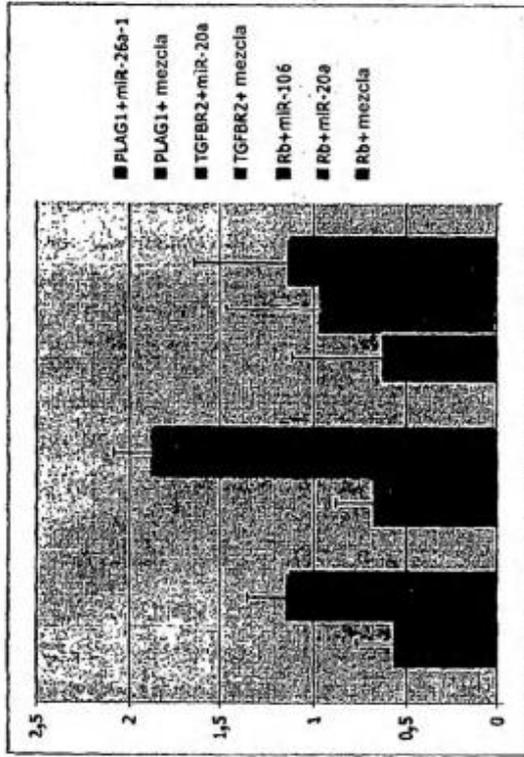


FIG. 6A



FIG. 6B

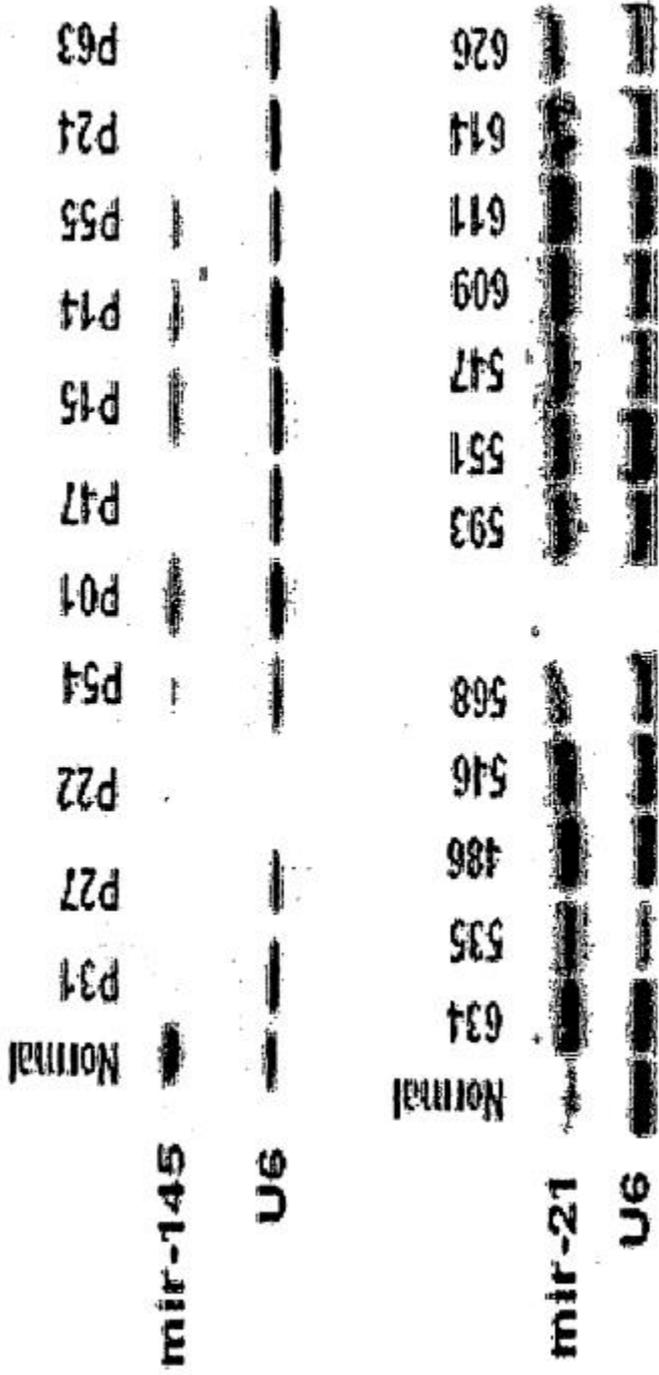


FIG. 7

