

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 438**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

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 12165748 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.03.2015** **EP 2502630**

54 Título: **Métodos y composiciones basados en los microARN para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del cáncer de pulmón**

30 Prioridad:

05.01.2006 US 756400 P

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

25.05.2015

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**CROCE, CARLO;
YANAIHARA, NOZOMU y
HARRIS, CURTIS**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 536 438 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 y composiciones basados en los microARN para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del cáncer de pulmón

5

Apoyo Gubernamental

Esta invención se llevó a cabo con el apoyo, en todo o en parte, con la subvención CA76259 y los fondos propios de CCR/NCI/NIH y por los fondos Federales de NCI/NIH bajo el Contrato N° NO1-CO-12400. El Gobierno tiene ciertos derechos en esta invención.

10

Antecedente de la invención

El cáncer de pulmón causa 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 primera causa de muerte por cáncer tanto entre hombres como entre mujeres. En 2002, la tasa de mortalidad por cáncer de pulmón se estimó en 134.900 muertes. El cáncer de pulmón también encabeza las muertes por cáncer en todos los países europeos y el número de muertes relacionadas con el cáncer de pulmón está aumentando rápidamente en los países en desarrollo.

15

La tasa de supervivencia a los cinco años entre todos los pacientes de cáncer de pulmón, sin tener en cuenta el estadio de la enfermedad en el momento del diagnóstico, es solo de aproximadamente el 13 %. Esto contrasta con una tasa de supervivencia a los cinco años del 46 % entre los casos detectados cuando la enfermedad está aún localizada. Sin embargo, solo el 16 % de los cánceres de pulmón se descubren antes de que la enfermedad se haya extendido. La detección precoz es difícil porque los síntomas clínicos a menudo no se observan hasta que la enfermedad alcanza un estadio avanzado. Normalmente, el diagnóstico se ayuda del uso de radiografías de tórax, el análisis del tipo de células que contiene el esputo y el examen del tracto bronquial con fibra óptica. Los regímenes de tratamiento se determinan por el tipo y estadio del cáncer, e incluyen la cirugía, la radioterapia y/o la quimioterapia. A pesar de las considerables investigaciones en terapias para este y otros tipos de cáncer, el cáncer de pulmón sigue siendo difícil de diagnosticar y tratar eficazmente. Por lo tanto, existe una gran necesidad de mejores métodos para detectar y tratar tales cánceres.

20

25

30

El análisis sistemático de los niveles de expresión de ARNm y proteínas entre miles de genes ha contribuido a definir la red molecular de carcinogénesis pulmonar (Meyerson y Carbone, J Clin. Oncol. 23: 3219-3226 (2005); Granville y Dennis, Cell Mol. Biol. 32: 169-176 (2005)). Por ejemplo, son comunes los defectos en las rutas *p53* y *RB/p16* en el cáncer de pulmón. Varios genes distintos, tales como *K-ras*, *PTEN*, *FHIT* and *MYO18B*, están alterados genéticamente en los cánceres de pulmón, aunque menos frecuentemente (Minna y col., Cancer Cell 1: 49-52 (2002); Sekido y col., Annu. Rev. Med. 54:73-87 (2003); Yokota y Kohno, Cancer Sci. 95: 197-204 (2004)). Aunque centrarse en los genes y proteínas conocidos ha dado una información útil, también se puede prestar atención a marcadores de cáncer de pulmón desconocidos previamente en la biología del cáncer de pulmón.

35

40

Los microARN (miARN) son una clase de ARN pequeños, no codificantes que controlan la expresión génica hibridándose con y desencadenando la represión traduccional o, menos frecuentemente, la degradación de un ARN mensajero (ARNm) diana. El descubrimiento y estudio de los miARN han revelado mecanismos génicos reguladores mediados por miARN que tienen papeles importantes en el desarrollo de organismos y varios procesos celulares, tales como diferenciación celular, crecimiento celular y muerte celular (Cheng, A.M. y col., Nucleic Acids Res. 33: 1290-1297 (2005)). Los estudios recientes sugieren que la expresión aberrante de miARN particulares puede estar implicada en enfermedades humanas, tales como trastornos neurológicos (Ishizuka, A. y col., Genes Dev. 16: 2497-2508 (2002)) y cáncer. Los genes microARN están altamente asociados con las características cromosómicas implicadas en la etiología de distintos cánceres. Por lo tanto la evaluación de la expresión génica de miR puede utilizarse para indicar la presencia de una lesión cromosómica causante de cáncer en un sujeto. Como el cambio en el nivel de la expresión génica de miR producido por una característica cromosómica asociada con el cáncer puede contribuir también a cancerogénesis, un determinado cáncer se puede tratar restaurando el nivel de la expresión génica a los valores normales (documento WO 2005/078139). En particular, se ha descubierto una expresión errónea de miR-16-1 y/o miR-15a en leucemias linfocíticas crónicas (Calin, G.A. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99: 15524-15529 (2002)). Además, la expresión reducida del microARN let-7 en cánceres de pulmón humanos se correlacionó con la supervivencia tras la resección potencialmente curativa (Takamizawa J. y col., Cancer Research 64, 3753-3756, June 1 (2004)). La familia de los microARN let-7 regula negativamente el let-60/RAS. La expresión de let-7 es menor en tumores pulmonares que en el tejido pulmonar normal, al tiempo que la proteína RAS es significativamente más alta en los tumores pulmonares (Johnson S.M. y col., Cell 120, 635-647, March 11 (2005)).

45

50

55

60

El desarrollo y uso de micromatrices que contienen todos los microARN conocidos ha permitido un análisis simultáneo de la expresión de cada miARN en una muestra (Liu, C.G. y col., Proc Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 9740-9744 (2004)). Estas micromatrices de microARN no sólo se han utilizado para confirmar que el miR-16-1 está mal regulado en las células humanas de LLC, sino también para generar firmas de expresión de miARN que se asocian con cuadros clinicopatológicos bien definidos de LLC humanas (Calin, G.A. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 1175-11760 (2004)). Se puede utilizar el aislamiento, el enriquecimiento y/o el marcado de moléculas de miARN

65

para preparar matrices u otras técnicas de detección para el análisis de miARN. Los perfiles de miARN se pueden emplear en aplicaciones terapéuticas, diagnósticas y pronósticas (documento WO 2005/118806).

La identificación de microARN que se expresan diferencialmente en las células del cáncer de pulmón ayudaría al diagnóstico, el pronóstico y el tratamiento del cáncer de pulmón. Además, la identificación de las supuestas dianas de estos miARN ayudaría a desvelar su papel patogénico. La presente invención proporciona métodos nuevos métodos para el pronóstico del cáncer de pulmón.

Sumario

La presente invención se basa, en parte, en la identificación de los miARN específicos asociados con niveles de expresión alterados en las células del cáncer de pulmón.

La presente divulgación engloba métodos para diagnosticar si un sujeto tiene, o está en riesgo de desarrollar, un cáncer de pulmón. Según los métodos desvelados en el presente documento, el nivel de al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo del sujeto se compara con el nivel de un correspondiente producto génico de miR en una muestra control. Una alteración (por ejemplo, un aumento, un descenso) del nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo, con respecto al nivel de un correspondiente producto génico de miR en la muestra control, es indicativa de que el sujeto tiene, o está en riesgo de desarrollar, cáncer de pulmón. El al menos un producto génico de miR puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-192-prec, miR-224, miR-126, miR-24-2, miR-30a-5p, miR-212, miR-140, miR-9, miR-214, miR-17-3p, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216-prec, miR-219-1, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-125a-prec, miR-26a-1-prec, miR-146, miR-203, miR-199b-prec, let-7a-2-prec, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c-prec, miR-150, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125a y let-7f-1. En una divulgación en particular, el al menos un producto génico de miR se seleccionan entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-155, miR-210, miR-126* y miR-224. En otra divulgación, el al menos un producto génico de miR se selecciona entre el grupo que consiste miR-21, miR-205 y miR-216. En otra divulgación más, el cáncer de pulmón es un adenocarcinoma de pulmón y el al menos un producto génico de miR se selecciona entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-155, miR-210, miR-126*, miR-126, miR-24-2, "miR-219-1, miR-95, miR-192-prec, miR-220, miR-216-prec, miR-204-prec, miR-188, miR-198, miR-145 y miR-224.

El nivel del al menos un producto génico de miR se puede medir utilizando varias técnicas que son bien conocidas por los expertos en la técnica (por ejemplo, RT-PCR semicuantitativa o cuantitativa, análisis de transferencia de Northern, detección de hibridación en solución). En una realización particular, el nivel de al menos un producto génico de miR se mide haciendo la transcripción inversa del ARN de una muestra de ensayo obtenida de un sujeto, que proporciona una serie de oligodesoxinucleótidos diana, hibridando los oligodesoxinucleótidos diana con uno o más oligonucleótidos sonda específicos de miARN (por ejemplo, en una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN) que proporciona 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 control. Una alteración en la señal de al menos un miARN en la muestra de ensayo con respecto a la muestra control es indicativa de que el sujeto o tiene o está en riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón. En una divulgación particular, la micromatriz comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN de una parte sustancial de todos los miARN humanos conocidos. La micromatriz puede comprender oligonucleótidos sonda específicos de miARN para uno o más de los miARN seleccionados entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-192-prec, miR-224, miR-126, miR-24-2, miR-30a-5p, miR-212, miR-140, miR-9, miR-214, miR-17-3p, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216-prec, miR-219-1, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-125a-prec, miR-26a-1-prec, miR-146, miR-203, miR-199b-prec, let-7a-2-prec, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c-prec, miR-150, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125a y let-7f-1.

La presente invención proporciona métodos para determinar el pronóstico de un sujeto con cáncer de pulmón, que comprenden la medición del nivel de productos génicos de miR en una muestra de ensayo del sujeto, estando asociados dichos productos génicos con un pronóstico adverso en el cáncer de pulmón. De acuerdo con estos métodos, una alteración en el nivel de los productos génicos de miR, que se asocian con un pronóstico adverso, en la muestra de ensayo, cuando se compara con el nivel de los correspondientes productos génicos de miR en una muestra control, es indicativa de pronóstico adverso. El cáncer de pulmón es un adenocarcinoma de pulmón y los productos génicos de miR consisten en miR-155 y let-7a-2. Además, el nivel del producto génico de miR-155 en la muestra de ensayo es mayor que el nivel del producto génico de miR correspondiente y el nivel del producto génico de let-7a-2 en la muestra de ensayo es menor que el nivel del producto génico de miR correspondiente en la muestra de control. En ciertas realizaciones, los productos génicos de miR son un grupo de productos génicos de miR que consiste en miR-155, miR-17-3p, miR-106a, miR-93, let-7a-2, miR-145, let-7b, miR-20 y miR-21. El nivel del al menos un producto génico de miR se puede medir como se describe en el presente documento (por ejemplo, por RT-PCR semicuantitativa o cuantitativa, análisis de transferencia de Northern, detección de hibridación en solución, análisis por micromatrices). Una alteración en la señal de al menos un miARN en la muestra de ensayo, con respecto a la muestra control es indicativa de que el sujeto o tiene o está en riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón con un pronóstico adverso. En una divulgación en particular, una alteración en la señal de miR-125a, miR-

125b-1, miR-224 y/o miR-21 es indicativa de que el sujeto o tiene o está en riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón con un pronóstico adverso. En cierta divulgación, la micromatriz comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para uno o más de los miARN seleccionados entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-192-prec, miR-224, miR-126, miR-24-2, miR-30a-5p, miR-212, miR-140, miR-9, miR-214, miR-17-3p, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216-prec, miR-219-1, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-125a-prec, miR-26a-1-prec, miR-146, miR-203, miR-199b-prec, let-7a-2-prec, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c-prec, miR-150, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125a y let-7f-1.

También se desvelan métodos para el tratamiento del cáncer de pulmón en un sujeto, en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado negativamente, regulado positivamente) en las células cancerosas del sujeto. Cuando al menos un producto génico de miR aislado está regulado negativamente en las células del cáncer de pulmón, el método comprende la administración de una cantidad eficaz de un producto génico aislado de miR o una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del mismo, de forma que se inhiba la proliferación de las células cancerosas en el sujeto. Cuando al menos un producto génico de miR aislado está regulado positivamente en las células cancerosas, el método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR, de forma que se inhiba la proliferación de las células del cáncer de pulmón.

En una divulgación relacionada, los métodos para el tratamiento del cáncer de pulmón en un sujeto comprenden adicionalmente la etapa de determinar en primer lugar la cantidad de al menos un producto génico de miR en las células del cáncer de pulmón del sujeto y comparar ese nivel con el nivel del correspondiente producto génico de miR en las células control. Si la expresión del producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado negativamente, regulado positivamente) en las células del cáncer de pulmón, los métodos además comprenden la alteración de la cantidad del al menos un producto génico de miR expresado por las células del cáncer de pulmón. En una divulgación, la cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerígenas es menor que la cantidad del producto génico de miR expresado en las células control y se administra al sujeto una cantidad eficaz del producto génico de miR o una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del mismo. En otra divulgación, la cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas es mayor que la cantidad del producto génico de miR expresado en las células control y se administra al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto que inhibe la expresión del al menos un gen miR.

También se desvelan composiciones farmacéuticas para el tratamiento del cáncer de pulmón. En una divulgación, las composiciones farmacéuticas comprenden al menos un producto génico de miR aislado o una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una divulgación particular, el al menos un producto génico de miR corresponde a un producto génico de miR que tiene un nivel de expresión disminuido en las células del cáncer de pulmón con respecto al de las células control adecuadas. En ciertas divulgaciones el producto génico de miR aislado se selecciona entre el grupo que consiste en miR-126*, miR-143, miR-192, miR-224, miR-126, miR-30a-Sp, miR-140, miR-9, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216, miR-219-1, miR-125a, miR-26a-1, miR-199b, let-7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, let-7f-1 y una combinación de los mismos.

En otra divulgación, las composiciones farmacéuticas comprenden al menos un compuesto inhibidor de la expresión de miR. En una divulgación particular, el al menos un compuesto inhibidor de la expresión de miR es específico para un producto génico de miR cuya expresión es mayor en las células del cáncer de pulmón que en las células control. En ciertas divulgaciones, el compuesto inhibidor la expresión de miR es específico para uno o más productos génicos de miR seleccionados entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-210, miR-155, miR-205, miR-24-2, miR-212, miR-214, miR-17-3p, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-146, miR-203, miR-150 y una combinación de los mismos.

La divulgación también engloba métodos para identificar un agente anticáncer de pulmón, 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 divulgación, 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 disminuidos en las células del cáncer de pulmón. Un incremento en el nivel del producto génico de miR en la célula, con respecto a una célula control adecuada, es indicativo de que el agente de ensayo es un agente anticáncer de pulmón. En una divulgación particular, el al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión disminuidos en las células del cáncer de pulmón se seleccionan entre el grupo que consiste en miR-126*, miR-143, miR-192, miR-224, miR-126, miR-30a-5p, miR-140, miR-9, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216, miR-219-1, miR-125a, miR-26a-1, miR-199b, let-7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, let-7f-1 y una combinación de los mismos.

En otras divulgaciones, 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 las células del cáncer de pulmón. Un descenso en la célula del nivel del producto génico de miR asociado con niveles de expresión aumentados en el cáncer de pulmón, con respecto a una célula control adecuada, es indicativo de que el agente de

ensayo es un agente anticáncer de pulmón. En una divulgación particular, el al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión aumentados en las células del cáncer de pulmón se seleccionan entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-210, miR-155, miR-205, miR-24-2, miR-212, miR-214, miR-17-3p, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-146, miR-203, miR-150 y una combinación de los mismos.

5

Breve descripción de los dibujos

El documento de patente o solicitud contiene al menos un dibujo ejecutado en color. Las copias de esta publicación de patente o solicitud de patente con dibujos en color se proporcionarán por la Oficina bajo pedido y pago de las tasas necesarias.

10

La FIG. 1 muestra unos gráficos que representan el nivel de expresión relativa de miR-21 precursor humano (*hsa-mir-21*; paneles superiores), de miR-126* precursor humano (*hsa-mir-126**; paneles medios) y de miR-205 precursor humano (*hsa-mir-205*; paneles inferiores) en tejidos con cáncer de pulmón (Ca) y no cancerosos (N), que se determinaron por análisis RT-PCR en tiempo real. Las muestras de cáncer fueron de adenocarcinoma o de carcinoma de células escamosas (SCC). Se llevó a cabo un ensayo t pareado para asegurar la significación estadística entre los niveles de expresión en tejidos de cáncer de pulmón y tejidos no cancerosos de pulmón.

15

La FIG. 2 representa la expresión de los miARN maduros para miR-21 (*hsa-mir-21*), miR-126* (*hsa-mir-126**) y miR-205 (*hsa-mir-205*) en muestras de cáncer de pulmón (es decir, adenocarcinomas (Adeno) y carcinomas de células escamosas (SCC)), detectados por hibridación en solución. Ca representa tejidos cancerosos de pulmón y N representa tejidos de pulmón no cancerosos. El ARNr 5S sirvió como un control de carga.

20

La FIG. 3A es un dendrograma que representa un agrupamiento jerárquico que se basa en los perfiles de expresión de microARN de 13 líneas celulares de cáncer de pulmón que representan carcinomas de pulmón de células pequeñas (SCLC) y carcinomas de pulmón de células no pequeñas (NSCLC).

25

La FIG. 3B describe una vista de grupo de la expresión de un miARN de 13 líneas celulares de cáncer de pulmón (arriba), que corresponde a los que se enumeraron en la FIG. 3A. Los niveles de expresión de varios miARN, enumerados a la derecha de la figura, se indican según el color. El azul indica los niveles de expresión por debajo de la media, el negro indica los niveles de expresión que son aproximadamente iguales a la media y el naranja indica los niveles de expresión que son mayores que la media. El gris indica puntos de datos perdidos.

30

La FIG. 4 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Los casos de adenocarcinoma en los que la intensidad de hibridación era diferente de los antecedentes (véase el Ejemplo 4) se clasificaron de acuerdo con la expresión de *hsa-mir-155* y los datos de supervivencia se compararon utilizando un ensayo de intervalo logarítmico. La relación de expresión media se define como la relación de expresión media = media de la expresión del tumor / media de la expresión del tejido no canceroso. El grupo de alta expresión del *hsa-mir-155* (es decir, el grupo con una relación de expresión \geq la relación de expresión media (1,42); n=27) se comparó con los correspondientes tejidos de pulmón no cancerosos. El grupo de baja expresión del *hsa-mir-155* (es decir, el grupo con una relación de expresión $<$ la relación de expresión media (1,42); n=28) se comparó con los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos. Las relaciones representan la intensidad de la señal de hibridación en la muestra de cáncer de pulmón con respecto a los controles no cancerosos.

40

La FIG. 5 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Los casos de adenocarcinoma en los que la intensidad de la hibridación fue diferente del antecedente (véase el Ejemplo 4) se clasificaron de acuerdo con la expresión del *hsa-let-7a-2* y los datos de supervivencia se compararon utilizando un ensayo de intervalo logarítmico. La relación de expresión media se definió como relación de expresión media = media de expresión del tumor / media de la expresión del tejido no canceroso. El grupo de alta expresión del *hsa-let-7a-2* (es decir, el grupo con una relación de expresión \geq que la relación de expresión media (0,95); n=34) se comparó con los tejidos pulmonares no cancerosos correspondientes. El grupo de baja expresión del *hsa-let-7a-2* (es decir, el grupo con una relación de expresión $<$ relación de expresión media (0,95); n=18) se comparó con los tejidos pulmonares no cancerosos correspondientes.

45

La FIG. 6 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Treinta y dos casos de adenocarcinoma de una cohorte original se clasificaron de acuerdo con la expresión del *hsa-miR-155* precursor y los datos de supervivencia se compararon utilizando un ensayo de intervalo logarítmico. La relación de expresión media se definió como relación de expresión media = media de expresión tumoral / media de expresión del tejido no canceroso. El grupo de expresión alta del precursor *hsa-miR-155* (es decir el grupo con una relación de expresión \geq que la relación de expresión media (1,19); n=19) se comparó con los tejidos de pulmón no cancerosos correspondientes.

50

La FIG. 7 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Treinta y dos casos de adenocarcinoma de una cohorte original se clasificaron de acuerdo con la expresión del precursor del *hsa-let-7a-2* y los datos de supervivencia se compararon utilizando un ensayo de intervalo logarítmico. La relación media de expresión se definió como relación de expresión media = media de la expresión tumoral / media de la expresión del tejido no canceroso. El grupo de expresión alta del precursor del *hsa-let-7a-2* (es decir, el grupo con una relación de expresión \geq la relación de expresión media (0,92); n=18) se comparó con los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos. El grupo de expresión baja del *hsa-let-7a-2* precursor (es decir, el grupo con una relación de expresión $<$ la relación de expresión media (0,92); n=14) se comparó con los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos.

55

La FIG. 8 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Treinta y dos

casos de una cohorte adicional independiente se clasificaron de acuerdo con la expresión del *hsa-mir-155* precursor y los datos de supervivencia se compararon utilizando el ensayo de intervalo logarítmico. El grupo de alta expresión del *hsa-mir-155* precursor (n=14); el grupo de baja expresión del *hsa-mir-155* precursor (n=18).

La FIG. 9 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Treinta y dos casos de adenocarcinoma de una cohorte adicional independiente se clasificaron de acuerdo con la expresión del *hsa-let-7a-2* precursor y los datos de supervivencia se compararon utilizando el ensayo de intervalo logarítmico. El grupo de alta expresión del precursor *hsa-let-7a-2* (n=15); el grupo de baja expresión del precursor *hsa-let-7a-2* (n=17).

La FIG. 10 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Sesenta y cuatro casos de la combinación de 2 cohortes independientes se clasificaron de acuerdo con la expresión del *hsa-mir-155* precursor, estimado por el análisis RT-PCR en tiempo real. Los datos de supervivencia se compararon utilizando el ensayo de intervalo logarítmico. La relación de expresión media se definió como relación de expresión media = media de la expresión tumoral / media de expresión de los tejidos no cancerosos.

El grupo de alta expresión del *hsa-miR-155* precursor (es decir el grupo con una relación de expresión \geq relación de la media de expresión (1,19); n=27) se comparó con los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos. El grupo de baja expresión del *hsa-miR-155* precursor (es decir el grupo con una relación de expresión $<$ la relación de expresión media (1,19); n=37) se comparó con los correspondientes tejidos tumorales no cancerosos.

La FIG. 11 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Sesenta y cuatro casos de adenocarcinoma de una combinación de 2 cohortes independientes se clasificaron de acuerdo con la expresión del *hsa-let-7a-2* precursor, como se estimó por análisis RT-PCR en tiempo real. Los datos de supervivencia se compararon utilizando el ensayo de intervalo logarítmico. La relación de expresión media se definió como la relación de expresión media = media de la expresión tumoral / media de la expresión de tejido no canceroso. El grupo de alta expresión del *hsa-let-7a-2* precursor (es decir, el grupo con una relación de expresión \geq relación de expresión media (0,92); n=33) se comparó con los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos. El grupo de baja expresión del *hsa-let-7a-2* precursor (es decir, el grupo con una relación de expresión $<$ la relación de expresión media (0,92); n=31) se comparó con los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos.

La FIG. 12 describe la expresión de ARNm *MYO18B* tras el tratamiento con 5-aza-dC y/o TSA en dos líneas celulares de cáncer de pulmón (H157, A549), como se determinó por análisis RT-PCR. Calle 1, sin tratamiento; Calle 2, tratamiento con 5-aza-dC 1,0 μ M durante 72 h; Calle 3, tratamiento con TSA 1,0 μ M durante 24 h; Calle 4, tratamiento con 5-aza-dC 1,0 μ M durante 72 horas, seguido por tratamiento con TSA 1,0 μ M durante 24 h. La expresión de *GAPDH* sirvió como control de carga.

Descripción detallada

La presente invención se basa, en parte, en la identificación de microARN particulares que tienen alterada la expresión en células de cáncer de pulmón con respecto a células normales de control y en la asociación de estos microARN con características pronósticas particulares.

Como se usa en el presente documento de manera intercambiable, un "producto génico de miR", "microARN", "miR" o "miARN" se refiere al ARN procesado o sin procesar transcrito a partir de un gen miR. Como los productos génicos de miR no se traducen en proteínas, la expresión "productos génicos de miR" no incluye proteínas. El gen miR transcrito no procesado también se llama "miR precursor" y normalmente comprende un ARN transcrito de una longitud aproximada de 70-100 nucleótidos. El miR precursor se puede procesar por digestión con ARNasa (por ejemplo, Dicer, Argonaut, ARNasa III (por ejemplo ARNasa III de *E. coli*)) en una molécula de ARN activa con 19-25 nucleótidos. Esta molécula activa de ARN de 19-25 nucleótidos también se llama gen transcrito de miR "procesado" o miARN "maduro".

La molécula activa de ARN con 19-25 nucleótidos se pueden obtener a partir de miR precursor por medio de rutas de procesamiento natural (por ejemplo, utilizando células intactas o lisados celulares) o por rutas de procesamiento sintético (por ejemplo utilizando enzimas de procesamiento aisladas, tales como Dicer, Argonaut o ARNasa III aisladas). Se entiende que la molécula activa de ARN de 19-25 nucleótidos también se puede producir directamente por síntesis biológica o química, sin tener que procesarse a partir de miR precursor. Cuando en el presente documento se llama a un microARN por su nombre, el nombre corresponde tanto a la forma de precursor como a la madura, a menos que se indique otra cosa.

La presente divulgación engloba métodos para diagnosticar si un sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar cáncer de pulmón, comprendiendo la medición del nivel de al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo del sujeto y comparando el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo con el nivel del correspondiente producto génico de miR en una muestra de control. Como se utiliza en el presente documento, un "sujeto" puede ser cualquier mamífero que tenga o sea sospechoso de tener un cáncer de pulmón.

El cáncer de pulmón puede ser cualquier forma de cáncer de pulmón, por ejemplo, cánceres de pulmón de diferentes histologías (por ejemplo, adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas). Además, el cáncer de pulmón se puede asociar con un pronóstico particular (por ejemplo, tasa baja de supervivencia, progresión rápida).

Las Tablas 1a y 1b describen las secuencias de nucleótidos de microARN humanos precursores y maduros.

Tabla 1a- Secuencias de precursores de microARN humano

Nombre del Precursor	Secuencia (de 5' a 3')*	SEC ID Nº
<i>let-7A-1</i>	<u>CACUGUGGG</u> AUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUU AGGGUCACACCCACCACUGGGAGAUAAUAACA AUCUACUGUCUUUCCUAACGUG	1
<i>let-7a-2</i>	<u>AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU</u> AGAAUUA CAUCAAGGGAGAUAAUCUGUACAGCCUCCUAGCUU UCCU	2
<i>let-7a-3</i>	<u>GGGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU</u> UGGGGCUCU GCCUCGCUAUGGGAUAAUAACAUAUCUACUGUC UUCCU	3
<i>let-7a-4</i>	<u>GUGACUGCAUGC</u> UCCAGGUUGAGGUAGUAGGUU <u>GUUAGUU</u> AGAAUACACAAGGGAGAUAAUCUGU ACAGCCUCCUAGCUUCCUUGGGUCUUGCACUAA ACAAC	4
<i>let-7b</i>	<u>GGCGGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUUC</u> AGG GCAGUGAUGUUGCCCCUCGGAAGAUAAUAACA ACCUACUGCCUUCCUG	5
<i>let-7c</i>	<u>GCAUCCGGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUUUA</u> GAGUACACCCUGGGAGUUAACUGUACAACCUUC UAGCUUCCUUGGAGC	6
<i>let-7d</i>	<u>CCUAGGAAGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUUUU</u> AGG GCAGGGAUUUUGCCCACAAGGAGGUAAUAUACG ACCUGCUGCCUUCUAGG	7
<i>let-7d-v1</i>	<u>CUAGGAAGAGGUAGUAGUUUGCAUAGUUUU</u> AGGG CAAAGAUUUUGCCCACAAGUAGUAGCUAUACGA CCUGCAGCCUUUGUAG	8
<i>let-7d-v2</i>	<u>CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUCUGUUGGU</u> CGGG UUGUGACAUUGCCCUGUGGAGAUAAUCUGCGCA AGCUACUGCCUUGCUG	9
<i>let-7e</i>	<u>CCCGGGCUGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUUGAGGA</u> GGACACCCAAGGAGAUACUAUACGGCCUCCUAG CUUCCCCAGG	10
<i>let-7f-1</i>	<u>UCAGAGUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUUGUGGGG</u> UAGUGAUUUUACCCUGUUCAGGAGAUAAUAUAC AAUCUAUUGCCUUCCUGA	11
<i>let-7f-2-1</i>	<u>CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGG</u> GGUAGUGAUUUUACCCUGUUCAGGAGAUAAUAU ACAAUCUAUUGCCUUCCUGA	12
<i>let-7f-2-2</i>	<u>CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUUU</u> AG GGUCAUACCCAUCUUGGAGAUAAUAUACAGUC UACUGUCUUUCCACGG	13
<i>let-7g</i>	<u>UUGCCUGAUUCCAGGCUGAGGUAGUAGUUUGUAC</u> <u>AGUUUGAGGGUCUAUGAU</u> ACCACCCGGUACAGGA GAUAACUGUACAGGCCACUGCCUUGCCAGGAACA GCGCGC	14

<i>let-7i</i>	<u>CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGG</u> <u>UUGUGACAUUGCCCUGCUGUGGAGAUAAACUGCGCA</u> <u>AGCUACUGCCUUGCUG</u>	15
<i>miR-1b-1-1</i>	<u>ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCA</u> <u>UAUGAACAUACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGU</u> <u>AUGUAUUUUUGGUAGGC</u>	16
<i>miR-1b-1-2</i>	<u>CAGCUAACAAUCUAGUAAUACCUACUCAGAGUAC</u> <u>AUACUUCUUUAUGUACCCAUAUGAACAUACAAUG</u> <u>CUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAG</u> <u>GCAAUA</u>	17
<i>miR-1b-2</i>	<u>GCCUGCUUGGGAAACAUAUCUUCUUUAUAUGCCCA</u> <u>UAUGGACCUGCUAAGCUAUGGAAUGUAAAGAAGU</u> <u>AUGUAUCUCAGGCCGGG</u>	18
<i>miR-1b</i>	<u>UGGGAACAUAUCUUCUUUAUAUGCCCAUAUGGAC</u> <u>CUGCUAAGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUC</u> <u>UCA</u>	19
<i>miR-1d</i>	<u>ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCA</u> <u>UAUGAACAUACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGU</u> <u>AUGUAUUUUUGGUAGGC</u>	20
<i>miR-7-1a</i>	<u>UGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGU</u> <u>GAUUUUGUUGUUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAAC</u> <u>AAAUACAGUCUGCCAUAUGGCACAGGCCAUGCC</u> <u>UCUACA</u>	21
<i>miR-7-1b</i>	<u>UUGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAG</u> <u>UGAUUUUGUUGUUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAA</u> <u>CAAUACAGUCUGCCAUAUGGCACAGGCCAUGC</u> <u>CUCUACAG</u>	22
<i>miR-7-2</i>	<u>CUGGAUACAGAGUGGACCGGCUGGCCCCAUCUGG</u> <u>AAGACUAGUGAUUUUGUUGUUGUCUUACUGCGCU</u> <u>CAACAACAAUCCCAGUCUACCUAUUGGUGCCAG</u> <u>CCAUCGCA</u>	23
<i>miR-7-3</i>	<u>AGAUUAGAGUGGCUGUGGUCUAGUGCUGUGUGGA</u> <u>AGACUAGUGAUUUUGUUGUUCUGAUGUACUACGA</u> <u>CAACAAGUCACAGCCGGCCUCAUAGCGCAGACUCC</u> <u>CUUCGAC</u>	24
<i>miR-9-1</i>	<u>CGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGU</u> <u>AUGAGUGGUGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAA</u> <u>CCGAAAGUAAAAUAACCCCA</u>	25
<i>miR-9-2</i>	<u>GGAAGCGAGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGU</u> <u>AUGAGUGUAUUGGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACC</u> <u>GAAAGUAAAAACUCCUUA</u>	26
<i>miR-9-3</i>	<u>GGAGGCCCGUUUCUCUCUUUGGUUAUCUAGCUGU</u> <u>AUGAGUGCCACAGAGCCGUCAUAAAGCUAGAUAA</u> <u>CCGAAAGUAGAAAUGAUUCUCA</u>	27
<i>miR-10a</i>	<u>GAUCUGUCUGUCUUCUGUAUAUACCCUGUAGAUC</u> <u>CGAAUUUGUGUAAGGAAUUUUGUGGUCACAAAUU</u> <u>CGUAUCUAGGGGAUAUGUAGUUGACAUA AACAC</u> <u>UCCGCUCU</u>	28

<i>miR-10b</i>	<u>CCAGAGGUUGUAACGUUGUCUAUUAUACCCUGU</u> <u>AGAACCGAAUUGUGUGGUAUCCGUAUAGUCACA</u> <u>GAUUCGAUUCUAGGGGAAUUAUUGGUCGAUGCAA</u> <u>AAACUUCA</u>	29
<i>miR-15a-2</i>	<u>GCGCGAAUGUGUGUTUAAAAAAAAAAUAAAACCUUG</u> <u>GAGUAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUU</u> <u>UUGAAAAGGUGCAGGCCAUUUGUGCUGCCUCAA</u> <u>AAAUAC</u>	30
<i>miR-15a</i>	<u>CCUUGGAGUAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGU</u> <u>GGAUUUUGAAAAGGUGCAGGCCAUUUGUGCUGC</u> <u>CUCAAAAAUACAAGG</u>	31
<i>miR-15b-1</i>	<u>CUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAUGCUACAGU</u> <u>CAAGAUGCGAAUCAUUAUUUGCUGCUCUAG</u>	32
<i>miR-15b-2</i>	<u>UUGAGGCCUUAAGUACUGUAGCAGCACAUCAUG</u> <u>GUUACAUGCUACAGUCAAGAUGCGAAUCAUUAU</u> <u>UUGCUGCUCUAGAAAUUUAAGGAAUUCAU</u>	33
<i>miR-16-1</i>	<u>GUCAGCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGC</u> <u>GUUAAGAUAUCUAAAUAUCUCCAGUAUUAACUG</u> <u>UGCUGCUGAAGUAAGGUUGAC</u>	34
<i>miR-16-2</i>	<u>GUUCCACUCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUAG</u> <u>UGAAAUAUAUUAUAAACACCAAUAUUACUGUGCU</u> <u>GCUUUAGUGUGAC</u>	35
<i>miR-16-13</i>	<u>GCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUA</u> <u>AGAUAUCUAAAUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCU</u> <u>GCUGAAGUAAGGU</u>	36
<i>miR-17</i>	<u>GUCAGAAUAAUGUCAAAAGUGCUUACAGUGCAGGU</u> <u>AGUGAUUAGUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUU</u> <u>GUAGCAUUAUGGUGAC</u>	37
<i>miR-18</i>	<u>UGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGU</u> <u>AGAUAAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUG</u> <u>GCA</u>	38
<i>miR-18-13</i>	<u>UUUUUGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUG</u> <u>AAGUAGAUUAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCUCCU</u> <u>UCUGGCAUAAGAA</u>	39
<i>miR-19a</i>	<u>GCAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUAC</u> <u>AAGAAGAAUGUAGUUGUGCAAUUCUAUGCAAAC</u> <u>UGAUGGUGGCCUGC</u>	40
<i>miR-19a-13</i>	<u>CAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACA</u> <u>AGAAGAAUGUAGUUGUGCAAUUCUAUGCAAACU</u> <u>GAUGGUGGCCUG</u>	41
<i>miR-19b-1</i>	<u>CACUGUUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUC</u> <u>CAGCUGUGUGAUUUCUGCUGUGCAAUCCAUGC</u> <u>AAAACUGACUGUGGUAGUG</u>	42
<i>miR-19b-2</i>	<u>ACAUUGCUCUACUACAUAUAGUUUUGCAGGUUUGC</u> <u>AUUUCAGCGUAUAUAUGUAUAUGUGGCCUGUGCAA</u> <u>AUCCAUGCAAACUGAUUGUGAUUAUGU</u>	43

<i>miR-19b-13</i>	<u>UUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCU</u> <u>GUGUGAUUUCUGCUGUGCAAUCCAUGCAAAC</u> <u>UGACUGUGGUAG</u>	44
<i>miR-19b-X</i>	<u>UUACAAUJAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGCGU</u> <u>AUAUAUGUAUAUGUGGCUGUGCAAUCCAUGCAA</u> <u>AACUGAUUGUGAU</u>	45
<i>miR-20 (miR-20a)</i>	<u>GUAGCACUAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUU</u> <u>UAGUUAUCUACUGCAUUAUGAGCACUAAAGUAC</u> <u>UGC</u>	46
<i>miR-21</i>	<u>UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUU</u> <u>GAAUCUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCU</u> <u>GACA</u>	47
<i>miR-21-17</i>	<u>ACCUUGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGAC</u> <u>UGUUGAAUCUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCU</u> <u>GUCUGACAUUUUG</u>	48
<i>miR-22</i>	<u>GGCUGAGCCGCAGUAGUUCUUCAGUGGCAAGCUU</u> <u>UAUGUCCUGACCCAGCUAAAGCUGCCAGUUGAAG</u> <u>AACUGUUGCCCUCUGCC</u>	49
<i>miR-23a</i>	<u>GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUUGGAUUUGCUU</u> <u>CCUGUCACAAAUCACAUUGCCAGGGAUUCCAAC</u> <u>CGACC</u>	50
<i>miR-23b</i>	<u>CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGGUUCUGGCAUG</u> <u>CUGAUUUGUGACUUAAGAUUAAAUCACAUUGCC</u> <u>AGGGAUUACCACGCAACCACGACCUUGGC</u>	51
<i>miR-23-19</i>	<u>CCACGGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUUGGAUUU</u> <u>GCUUCCUGUCACAAAUCACAUUGCCAGGGAUUUC</u> <u>CAACCGACCCUGA</u>	52
<i>miR-24-1</i>	<u>CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUUCAGUUCUCAU</u> <u>UUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG</u>	53
<i>miR-24-2</i>	<u>CUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGU</u> <u>UGGUUUGUGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAAC</u> <u>AGGG</u>	54
<i>miR-24-19</i>	<u>CCUGGGCUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAA</u> <u>ACACAGUUGGUUUGUGUACACUGGCUCAGUUCAG</u> <u>CAGGAACAGGGG</u>	55
<i>miR-24-9</i>	<u>CCCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUUCAGUUCUC</u> <u>AUUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGC</u> <u>AUC</u>	56
<i>miR-25</i>	<u>GGCCAGUGUUGAGAGGGCGGAGACUUGGGCAAUUG</u> <u>CUGGACGCUGCCCUGGGCAUUGCACUUGUCUCGG</u> <u>UCUGACAGUGCCGGCC</u>	57
<i>miR-26a</i>	<u>AGGCCGUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGG</u> <u>CUGUGCAGGUCCCAAUGGCCUAUCUUGGUUACUU</u> <u>GCACGGGGACGCGGGCCU</u>	58
<i>miR-26a-1</i>	<u>GUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGU</u> <u>CAGGUCCCAAUGGGCCUAUUCUUGGUUACUUGC</u> <u>CGGGGACGC</u>	59

<i>miR-26a-2</i>	<u>GGCUGUGGCUGGAUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGC</u> <u>UGUUUCCAUCUGUGAGGCCUAUUCUUGAUUACUU</u> <u>GUUUCUGGAGGCAGCU</u>	60
<i>miR-26b</i>	<u>CCGGGACCCAGUUCAAGUAAUUCAGGAUAGGUUG</u> <u>UGUGCUGUCCAGCCUGUUCUCCAUAUACUUGGCUC</u> <u>GGGGACCGG</u>	61
<i>miR-27a</i>	<u>CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGG</u> <u>UCCACACCAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUC</u> <u>CGCCCCCAG</u>	62
<i>miR-27b-1</i>	<u>AGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAGUGAU</u> <u>UGGUUUCGCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUG</u> <u>CACCU</u>	63
<i>miR-27b-2</i>	<u>ACCUCUCUAACAAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUG</u> <u>GUGAACAGUGAUUGGUUUCGCUUUGUUCACAGU</u> <u>GGCUAAGUUCUGCACCUGAAGAGAAGGUG</u>	64
<i>miR-27-19</i>	<u>CCUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGG</u> <u>GUCCACACCAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUU</u> <u>CCGCCCCCAGG</u>	65
<i>miR-28</i>	<u>GGUCCUUGCCCUCAAGGAGCUCACAGUCUAUUGA</u> <u>GUUACCUUUCUGACUUCCACUAGAUUGUGAGC</u> <u>UCCUGGAGGGCAGGCACU</u>	66
<i>miR-29a-2</i>	<u>CCUUCUGUGACCCCUUAGAGGAUGACUGAUUUCU</u> <u>UUUGGUGUUCAGAGUCAAUUAUAAUUUCUAGCAC</u> <u>CAUCUGAAAUCGGUUAUAUUGAUUGGGGAAGAGC</u> <u>ACCAUG</u>	67
<i>miR-29a</i>	<u>AUGACUGAUUUCUUUUGGUGUUCAGAGUCAAUAU</u> <u>AAUUUUCUAGCACCAUCUGAAAUCGGUUAU</u>	68
<i>miR-29b-1</i>	<u>CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUAUGGUGGUUUAGAU</u> <u>UUAAAUAGUGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUC</u> <u>GUGUUCUUGGGGG</u>	69
<i>miR-29b-2</i>	<u>CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCUUAGAU</u> <u>UUUCCAUCUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUC</u> <u>AGUGUUUUAGGAG</u>	70
<i>miR-29c</i>	<u>ACCACUGGCCCAUCUCUUACACAGGCUGACCGAUU</u> <u>UCUCCUGGUGUUCAGAGUCUGUUUUUGUCUAGCA</u> <u>CCAUUUGAAAUCGGUUAUGAUGUAGGGGGAAAAG</u> <u>CAGCAGC</u>	71
<i>miR-30a</i>	<u>GCGACUGUAAACAUCCUCGACUGGAAGCUGUGAA</u> <u>GCCACAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGC</u> <u>UGC</u>	72
<i>miR-30b-1</i>	<u>AUGUAAACAUCCUACACUCAGCUGUAAUACAUGG</u> <u>AUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACGU</u>	73
<i>miR-30b-2</i>	<u>ACCAAGUUUCAGUUCAUUGUAAACAUCCUACACUC</u> <u>AGCUGUAAUACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUG</u> <u>UUUACUUCAGCUGACUUGGA</u>	74
<i>miR-30c</i>	<u>AGAUACUGUAAACAUCCUACACUCUCAGCUGUGG</u> <u>AAAGUAAGAAAGCUGGGAGAAGGCUGUUUACUCU</u> <u>UUCU</u>	75

<i>miR-30d</i>	GUUGUUGUAAACA <u>UCCCCGACUGGAAGCUGUAAG</u> ACACAGCUAAGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCU AC	76
<i>miR-30e</i>	CUGUAAACA <u>UCCUUGACUGGAAGCUGUAAGGUGU</u> UCAGAGGAGCUUUCAGUCGGAUGUUUACAG	77
<i>miR-31</i>	GGAGAGGAGGCAAGA <u>UGCUGGCAUAGCUGUUGAA</u> CUGGGAACCUGCUAUGCCAACAUAUUGCCAUCU UCC	78
<i>miR-32</i>	GGAGAU <u>AUUGCACAUUACUAAGUUGCAUGUUGUC</u> ACGGCCUCA <u>AUGCAAUUUAGUGUGUGUGAUUUU</u> UC	79
<i>miR-33b</i>	GGGGCCGAGAGAGGCGGGCGGCCCGCGG <u>UGCA</u> <u>UUGCUGUUGCAUUGCACGUUGUGAGGCGGGUGC</u> AGUGCCUCGGCAGUGCAGCCCGGAGCCGGCCCCUG GCACCAC	80
<i>miR-33b-2</i>	ACCAAGUUUCAGU <u>UCAUGUAAACAUCCUACACUC</u> <u>AGCUGUAAUACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUG</u> UUUACUUCAGCUGACUUGGA	81
<i>miR-33</i>	CUGUGGUGCAU <u>UGUAGUUGCAUUGCAUGUUCUGG</u> UGGUACCAUGCAAUGUUUCCACAGUGCAUCACA G	82
<i>miR-34-a</i>	GGCCAGCUGUGAGUGU <u>UUCUUUGGCAGUGUCUUA</u> <u>GCUGGUUGUUGUGAGCAAUAGUAAGGAAGCAAUC</u> AGCAAGUAUACUGCCCUAGAAGUGCUGCACGUUG UGGGGCC	83
<i>miR-34-b</i>	GUGCUCGGUUUGUAGGCAGUGCAU <u>UAGCUGAUU</u> <u>GUACUGUGGUGGUUACAAUCACUAACUCCACUGC</u> CAUCAAAACAAGGCAC	84
<i>miR-34-c</i>	AGUCUAGUUACUAGGCAGUGUAGUUAGCUGAU <u>UG</u> CUAAUAGUACCA <u>AUCACUAACCACACGGCCAGGU</u> AAAAGA <u>UU</u>	85
<i>miR-91-13</i>	UCAGAAUAAUGUCAAAAGUGCU <u>UACAGUGCAGGUA</u> <u>GUGAU AUGUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUG</u> UAGCAUUAUGGUGA	86
<i>miR-92-1</i>	CUUUCUACACAGGUUGGGAU <u>CGGUUGCAAUGCUG</u> UGUUUCUGUAUGGU <u>AUUGCACUUGUCCCGGCCUG</u> UUGAGUUUGG	87
<i>miR-92 -2</i>	UCAUCCUGGGUGGGGAUUUGUUGCAU <u>UACUUGU</u> GUUCUAUAUAAAGUA <u>UUGCACUUGUCCCGGCCUG</u> UGGAAGA	88
<i>miR-93-1 (miR-93-2)</i>	CUGGGGGCUC <u>CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAGU</u> GUGAUUACCCAACCUACUGCUGAGCUAGCACUUC CCGAGCCCCCGG	89
<i>miR-95-4</i>	AACACAGUGGGCACUCAUA <u>AAUUGUCUGUUGAAU</u> UGAA <u>AUGCGUACA</u> U <u>UCAACGGGU</u> AUUUAUUGAG CACCCACUCUGUG	90

<i>miR-96-7</i>	<u>UGGCCGAUUUUUGGCACUAGCACAUUUUUUGCUUGU</u> <u>GUCUCUCCGCUCUGAGCAAUCAUGUGCAGUGCCA</u> <u>AUAUGGGAAA</u>	91
<i>miR-97-6 (miR-30*)</i>	<u>GUGAGCGACUGUAAACAUC CUCGACUGGAAGCUG</u> <u>UGAAGCCACAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUG</u> <u>CAGCUGCCUACU</u>	92
<i>miR-98</i>	<u>GUGAGGUAGUAAGUUGUAUUUGUUGUGGGGUAGGG</u> <u>AUAUUAGGCCCAAUUAGAAGAUAAACUAUACAAC</u> <u>UUACUACUUUC</u>	93
<i>miR-99b</i>	<u>GGCACCCACCCGUAGAACCGACCUUGCGGGGCCU</u> <u>CGCCGCACACAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCGUGU</u> <u>C</u>	94
<i>miR-99a</i>	<u>CCCAUUGGCAUAAACCCGUAGAUC CGAUCUUGUG</u> <u>GUGAAGUGGACCGCACAGCUCGCUUCUAUGGGU</u> <u>CUGUGUCAGUGUG</u>	95
<i>miR-100-1/2</i>	<u>AAGAGAGAAGAUAUUGAGGCCUGUUGCCACAAAC</u> <u>CCGUAGAUC CGAACUUGUGGUAUUAGUCCGCACA</u> <u>AGCUUGUAUCUAUAGGU AUGUGUCUGUUAGGCAA</u> <u>UCUCAC</u>	96
<i>miR-100-11</i>	<u>CCUGUUGCCACAAACCCGUAGAUC CGAACUUGUG</u> <u>GUAUUAGUCCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGGU AU</u> <u>GUGUCUGUUAGG</u>	97
<i>miR-101-1/2</i>	<u>AGGCUGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUG</u> <u>CUGUCUAUUCUAAAGGUACAGUACUGUGAUAAUCU</u> <u>GAAGGAUGGCAGCCAUCUUAACCUCCAUCAGAGG</u> <u>AGCCUCAC</u>	98
<i>miR-101</i>	<u>UCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCCAUUCUAA</u> <u>AGGUACAGUACUGUGAUAAACUGA</u>	99
<i>miR-101-1</i>	<u>UGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGU</u> <u>CUAUUCUAAAGGUACAGUACUGUGAUAAACUGAAG</u> <u>GAUGGCA</u>	100
<i>miR-101-2</i>	<u>ACUGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGU</u> <u>GUUAUAUCUGAAAGGUACAGUACUGUGAUAAACUGA</u> <u>AGAAUGGGUGU</u>	101
<i>miR-101-9</i>	<u>UGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGU</u> <u>AUAUCUGAAAGGUACAGUACUGUGAUAAACUGAAG</u> <u>AAUGGUG</u>	102
<i>miR-102-1</i>	<u>CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGGUGGCUUAGAU</u> <u>UUUCCAUCUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUC</u> <u>AGUGUUUUAGGAG</u>	103
<i>miR-102-7.1 (miR-102-7.2)</i>	<u>CUUCAGGAAGCUGGUUUCAU AUGGUGGUUUAGAU</u> <u>UUAAAUAGUGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCA</u> <u>GUGUUCUUGGGGG</u>	104
<i>miR-103-2</i>	<u>UUGUGC UUUCAGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGU</u> <u>AGCAUUCAGGUCAAGCAACAUUGUACAGGGCUAU</u> <u>GAAAGAACCA</u>	105

<i>miR-103-1</i>	<u>UACUGCCCUCGGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGU</u> <u>UGCAUAUGGAUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAU</u> <u>GAAGGCAUUG</u>	106
<i>miR-104-17</i>	<u>AAAUGUCAGACAGCCCAUCGACUGGUGUUGCCAU</u> <u>GAGAUUCAACAGUCAACAUCAGUCUGAUAAGCUA</u> <u>CCCGACAAGG</u>	107
<i>miR-105-1</i>	<u>UGUGCAUCGUGGUCAA AUGCUCAGACUCCUGUGG</u> <u>UGGCUGCUC AUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGU</u> <u>GCUACGGUGUCUA</u>	108
<i>miR-105-2</i>	<u>UGUGCAUCGUGGUCAA AUGCUCAGACUCCUGUGG</u> <u>UGGCUGCUC AUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGU</u> <u>GCUAUGGUGUCUA</u>	109
<i>miR-106-a</i>	<u>CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUA</u> <u>GCUUUUUGAGAUCUACUGCAAUGUAAGCACUUCU</u> <u>UACAUUACCAUGG</u>	110
<i>miR-106-b</i>	<u>CCUGCCGGGGCUAAAGUGCUGACAGUGCAGAUAG</u> <u>UGGUCCUCUCCGUGC UACCGCACUGUGGGUACUU</u> <u>GCUGCUC CAGCAGG</u>	111
<i>miR-107</i>	<u>CUCUCUGCUCUUCAGCUUCUUACAGUGUUGCCUU</u> <u>GUGGCAUGGAGUUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCU</u> <u>AUCAAAGCACAGA</u>	112
<i>miR-108-1-pequeño</i>	<u>ACACUGCAAGAACAUAAGGAUUUUUAGGGGGCAU</u> <u>UAUGACUGAGUCAGAAAACACAGCUGCCCCUGAA</u> <u>AGUCCCUCAUUUUUCUUGCUGU</u>	113
<i>miR-108-2-pequeño</i>	<u>ACUGCAAGAGCAAUAAGGAUUUUUAGGGGGCAUUA</u> <u>UGAUAGUGGAAUGGAAACACAUCUGCCCCCAAAA</u> <u>GUCCCUCAUUUU</u>	114
<i>miR-122a-1</i>	<u>CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUU</u> <u>UGUGUCUAAACUAUCA AACGCCAUAUCACACUA</u> <u>AAUAGCUACUGCUAGGC</u>	115
<i>miR-122a-2</i>	<u>AGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCCAA</u> <u>ACUAUCA AACGCCAUAUCACACUAAA UAGCU</u>	116
<i>miR-123</i>	<u>ACAUU AUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUUC</u> <u>AAACUCGUACCGUGAGUAAUAAUGCGC</u>	117
<i>miR-124a-1</i>	<u>AGGCCUCUCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGA</u> <u>UUUAAAUGUCCAUA CAUUUAAGGCACGCGGUGAA</u> <u>UGCCAAGAAUGGGGCGUG</u>	118
<i>miR-124a-2</i>	<u>AUCAAGAUUAGAGGCUCUGCUCUCCGUGUUCACA</u> <u>GCGGACCUUGAUUUAAUGUCAUACA AUUAAGGCA</u> <u>CGCGGUGAAUGCCAAGAGCGGAGCCUACGGCUGC</u> <u>ACUUGAAG</u>	119
<i>miR-124a-3</i>	<u>UGAGGGCCCCUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUG</u> <u>AUUUAAUGUCUAUACA AUUAAGGCACGCGGUGAA</u> <u>UGCCAAGAGAGGCGCCUCC</u>	120
<i>miR-124a</i>	<u>CUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGU</u> <u>CUAUACA AUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG</u>	121
<i>miR-124b</i>	<u>CUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGU</u> <u>CAUACA AUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG</u>	122

<i>miR-125a-1</i>	<u>UGCCAGUCUCUAGGU</u> <u>UCCCUGAGACCCU</u> <u>UUAACCU</u> <u>GUGAGGACA</u> <u>UCCAGGGUCACAGGUGAGGUUCUUG</u> <u>GGAGCCUGGCGUCUGGCC</u>	123
<i>miR-125a-2</i>	<u>GGUCCCUGAGACCCU</u> <u>UUAACCU</u> <u>GUGAGGACA</u> <u>UCC</u> <u>AGGGUCACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGG</u>	124
<i>miR-125b-1</i>	<u>UGC</u> <u>GCUC</u> <u>CCUCUCAGU</u> <u>CCCUGAGACCCUA</u> <u>ACUUGUG</u> <u>AUGUUUACCGUUUAAUCCACGGGUUAGGCUCUU</u> <u>GGGAGCUGCGAGUCGUGCU</u>	125
<i>miR-125b-2</i>	<u>ACCAGACUUUCCUAGU</u> <u>CCCUGAGACCCUA</u> <u>ACUU</u> <u>GUGAGGUUUUUAGUAACA</u> <u>UCAACAAGUCAGGCUC</u> <u>UUGGGACCUAGGCGGAGGGGA</u>	126
<i>miR-126-1</i>	<u>CGCUGGCGACGGGACA</u> <u>UUUUACUUU</u> <u>GGUACGC</u> <u>GCUGUGACACU</u> <u>CAAACUCGU</u> <u>ACCGUGAGUAAUA</u> <u>AUGCGCCGUCCACGGCA</u>	127
<i>miR-126-2</i>	<u>ACAUUUUACUUU</u> <u>GGUACGC</u> <u>CGUGUGACACUUC</u> <u>AAACUCGU</u> <u>ACCGUGAGUAAUAAUGCGC</u>	128
<i>miR-127-1</i>	<u>UGUGAUCACUGUC</u> <u>UCCAGCCUGCUGAAGCUCAGA</u> <u>GGGCUCUGAUUCAGAAAGAUCAUCGGAUCCGUCU</u> <u>GAGCUUGGCUGGUCGGAAGUCUCAUCAUC</u>	129
<i>miR-127-2</i>	<u>CCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAG</u> <u>AAAGAUCAUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUC</u> <u>GG</u>	130
<i>miR-128a</i>	<u>UGAGCUGUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUG</u> <u>AGAGGUUUACA</u> <u>UUUCUCACAGUGA</u> <u>ACCGGUCUCU</u> <u>UUUCAGCUGCUUC</u>	131
<i>miR-128b</i>	<u>GCCCGGCAGCCACUGUGCAGUGGGAAGGGGGGCC</u> <u>GAUACACUGUACGAGAGUGAGUAGCAGGUCUCAC</u> <u>AGUGA</u> <u>ACCGGUCUCUUCCCUACUGUGUCACACU</u> <u>CCUAAUGG</u>	132
<i>miR-128</i>	<u>GUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGU</u> <u>UUACA</u> <u>UUUCUCACAGUGA</u> <u>ACCGGUCUCUUUUCA</u> <u>GC</u>	133
<i>miR-129-1</i>	<u>UGGAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGUUCUC</u> <u>UCAACAGUAGUCAGGAAGCCCUUACCCCAAAAAG</u> <u>UAUCUA</u>	134
<i>miR-129-2</i>	<u>UGCCCUUCGCGAAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUG</u> <u>CUGUACA</u> <u>UAACUCAAUAGCCGGAAGCCCUUACCC</u> <u>AAAAGCAUUUGCGGAGGGCG</u>	135
<i>miR-130a</i>	<u>UGCUGCUGGCCAGAGCUCUUUUCACAUUGUGCUA</u> <u>CUGUCUGCACCUGUCACUAGCAGUGCAAUGUUAA</u> <u>AAGGGCAUUGGCCGUGUAGUG</u>	136
<i>miR-131-1</i>	<u>GCCAGGAGGCGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUA</u> <u>UCUAGCUGUAUGAGUGGUGUGGAGUCUUCAUAAA</u> <u>GCUAGAUAA</u> <u>CCGAAAGUAAAAUAACCCCAUACA</u> <u>CUGCGCAG</u>	137

<i>miR-131-3</i>	<u>CACGGCGCGGCAGCGGCACUGGCCUAAGGGAGGCC</u> <u>CGUUUCUCUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUG</u> <u>CCACAGAGCCGUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAG</u> <u>UAGAAAUG</u>	138
<i>miR-131</i>	<u>GUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGU</u> <u>AUUGGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAA</u> <u>AAAC</u>	139
<i>miR-132-1</i>	<u>CCGCCCCCGCUCUCCAGGGCAACCGUGGCCUUUCG</u> <u>AUUGUUAACUGUGGGAAACUGGAGGUAAACAGUCUAC</u> <u>AGCCAUGGUCGCCCCGCAGCACGCCACGCGC</u>	140
<i>miR-132-2</i>	<u>GGGCAACCGUGGCCUUUCGAUUGUUACUGUGGGAA</u> <u>CUGGAGGUAAACAGUCUACAGCCAUGGUCGCC</u>	141
<i>miR-133a-1</i>	<u>ACAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCA</u> <u>AAUCGCCUCUCAAUGGAUUUGGUCCCCUACAAC</u> <u>CAGCUGUAGCUAUGCAUUGA</u>	142
<i>miR-133a-2</i>	<u>GGGAGCCAAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUG</u> <u>GAACCAAUCGACUGUCCAAUGGAUUUGGUCCCC</u> <u>UUCAACCAGCUGUAGCUGUGCAUUGAUGGCGCCG</u>	143
<i>miR-133</i>	<u>GCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAUCGCCUCU</u> <u>UCAAUUGGAUUUGGUCCCCUACAACCAGCUGUAGC</u>	144
<i>miR-133b</i>	<u>CCUCAGAAGAAAGAUGCCCCUGCUCUGGCUGGU</u> <u>CAAACGGAACCAAGUCCGUCUCCUGAGAGGUUU</u> <u>GGUCCCCUACAACCAGCUACAGCAGGGCUGGCAA</u> <u>UGCCAGUCCUUGGAGA</u>	145
<i>miR-133b-pequeño</i>	<u>GCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUC</u> <u>CGUCUCCUGAGAGGUUUGGUCCCCUACAACCAG</u> <u>CUACAGCAGGG</u>	146
<i>miR-134-1</i>	<u>CAGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGC</u> <u>ACUGUGUUCACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAAC</u> <u>CCUC</u>	147
<i>miR-134-2</i>	<u>AGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCA</u> <u>CUGUGUUCACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAACC</u> <u>CU</u>	148
<i>miR-135a-1</i>	<u>AGGCCUCGCUGUUCUCUAUGGCCUUUUUAUCCUA</u> <u>UGUGAUUCUACUGCUCACUCAUAUAGGGAUUGGA</u> <u>GCCGUGGCGCACGGCGGGGACA</u>	149
<i>miR-135a-2 (miR-135-2)</i>	<u>AGAUAUUUCACUCUAGUGCUUUUAUGGCCUUUUUA</u> <u>UCCUAUGUGAUAGUAAUAAAGUCUCAUGUAGGG</u> <u>AUGGAAGCCAUGAAAUACAUUGUGAAAAAUCA</u>	150
<i>miR-135</i>	<u>CUAUGGCCUUUUUAUCCUAUGUGAUUCUACUGCU</u> <u>CACUCAUAUAGGGAUUGGAGCCGUGG</u>	151
<i>miR-135b</i>	<u>CACUCUGCUGUGGCCUAUGGCCUUUCAUCCUAU</u> <u>GUGAUUGCUGUCCCAAACUCAUGUAGGGCUAAAA</u> <u>GCCAUGGGCUACAGUGAGGGGCGAGCUCC</u>	152
<i>miR-136-1</i>	<u>UGAGCCCUCGGAGGACUCCAUUUGUUUGAUGAU</u> <u>GGAUUCUUAUGCUCCAUCAUCGUCUCAAUGAGU</u> <u>CUUCAGAGGGUUCU</u>	153

<i>miR-136-2</i>	<u>GAGGACUCCA</u> UUUGUUUGAUGGAUUCUUAU GCUCCAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCUUC	154
<i>miR-137</i>	CUUCGGUGACGGGUAUUCUUGGGUGGAUAAUACG GAU <u>UACGUUGUUAUUGCUAAGAAUACGCGUAGU</u> CGAGG	155
<i>miR-138-1</i>	CCUGGCAUGGUGUGGUGGGGCAGCUGGUGUUGU GAAU <u>CAGGCCGUUGCCAUCAGAGA</u> ACGGCUACU UCACAACACCAGGGCCACACCACACUACAGG	156
<i>miR-138-2</i>	CGUUGCUGCAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGAC GAGCAGCGCAUCCUCU <u>UACCCGGCUAUUUCACGAC</u> ACCAGGGUUGCAUCA	157
<i>miR-138</i>	<u>CAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCG</u> CAUCCUCU <u>UACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGU</u> UG	158
<i>miR-139</i>	GUGUAUUCUACAGUGCACGUGUCUCCAGUGUGGC UCGGAGGCUGGAGACGCGGCCCU <u>GUUGGAGUAAC</u>	159
<i>miR-140</i>	UGUGUCUCUCUCUGUGUCCUGCCAGUGGUUUAC CCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUGUUCUACCACA GGGUAGAACCACGGACAGGAUACCGGGGCACC	160
<i>miR-140as</i>	UCCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACG UCAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGAC AGGA	161
<i>miR-140s</i>	CCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGU CAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGACA GG	162
<i>miR-141-1</i>	CGGCCGGCCCUGGGUCCAUCUCCAGUACAGUGU UGGAUGGUCUAAUUGUGAAGCUCCUAACACUGUC UGGUAAAGAUGGCUC <u>CCGGGUGGGUUC</u>	163
<i>miR-141-2</i>	GGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUCUA AUUGUGAAGCUCCUAACACUGUCUGGUAAAGAUG GCCC	164
<i>miR-142</i>	ACCAUAAAGUAGAAAGCACUACUACAGCACUG GAGGGUGUAGUGUUCCUACUUUAUGGAUG	165
<i>miR-143-1</i>	GCGCAGCGCCUGUCUCCAGCCUGAGGUGCAGUG CUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAA GCACUGUAGCUCAGGAAGAGAGAAGUUGUUCUGC AGC	166
<i>miR-143-2</i>	CCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGG GAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGG	167
<i>miR-144-1</i>	UGGGGCCCUGGCUGGGUAU <u>UCAUCAUAUCUGUA</u> AGUUUGCGAUGAGACACUACAGUAUAGAUGAUGU ACUAGUCCGGGCACCCCC	168
<i>miR-144-2</i>	GGCUGGGUAU <u>UCAUCAUAUCUGUAAGUUUGCGA</u> UGAGACACUACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUC	169
<i>miR-145-1</i>	CACCUUGUCCUCACGGUCCAGUUUCCAGGAAUC CCU <u>UAGAUGC</u> UAAGAUGGGGAUCCUGGAAAUAC UGUUCUUGAGGUCAUGGUU	170

<i>miR-145-2</i>	<u>CUCACGGUCCAGUUU</u> <u>UCCCAGGAAUCCCUU</u> <u>JAGAU</u> <u>GCUAAGAUGGGGAU</u> <u>UCCUGGAAUACUGUUCU</u> <u>UG</u> <u>AG</u>	171
<i>miR-146-1</i>	<u>CCGAUGUGUAUCCUCAGCUU</u> <u>UGAGAACUGAAUUC</u> <u>CAUGGGUUGUGUCAGUGUCAGACCU</u> <u>CUGAAAUC</u> <u>AGUUCUUCAGCUGGGAU</u> <u>AUCUCUGUCAUCGU</u>	172
<i>miR-146-2</i>	<u>AGCUUUGAGAACUGAAU</u> <u>UCCAUGGGUUGUGUCAG</u> <u>UGUCAGACCUGUGAAA</u> <u>UCAGUUCUUCAGCU</u>	173
<i>miR-147</i>	<u>AAUCUAAAGACAACA</u> <u>UUUCUGCACACACACCAGA</u> <u>CUAUGGAAGCCAGUGUGUGGAA</u> <u>UUGCUCUGCUA</u> <u>GAUU</u>	174
<i>miR-148a (miR-148)</i>	<u>GAGGCAAAGUUCUGAGACACU</u> <u>CCGACUCUGAGUA</u> <u>UGAUAGAAGUCAGUGCACU</u> <u>ACAGAACUUGUCUC</u>	175
<i>miR-148b</i>	<u>CAAGCACGAUUAGCAUU</u> <u>UGAGGUGAAGUUCUGUU</u> <u>AUACACUCAGGCUGUGGCUCUCUGAA</u> <u>AGUCAGUG</u> <u>CAUCACAGAACUUGUCUCGAA</u> <u>AGCUUUCUA</u>	176
<i>miR-148b-pequeño</i>	<u>AAGCACGAUUAGCAUU</u> <u>UGAGGUGAAGUUCUGUUA</u> <u>UACACUCAGGCUGUGGCUCUCUGAA</u> <u>AGUCAGUGC</u> <u>AU</u>	177
<i>miR-149-1</i>	<u>GCCGGCGCCCGAGCUCUGGCUC</u> <u>CGUGUCUUCACUC</u> <u>CCGUGCUUGUCCGAGGAGGGAGGGAGGGAC</u> <u>CGGGG</u> <u>GCUGUGCUGGGGCAGCUGGA</u>	178
<i>miR-149-2</i>	<u>GCUCUGGCUC</u> <u>CGUGUCUUCACUCC</u> <u>CGUGCUUGUCC</u> <u>GAGGAGGGAGGGAGGGAC</u>	179
<i>miR-150-1</i>	<u>CUCCCCAUGGCCUGUCU</u> <u>CCAACCCUUGUACCAG</u> <u>UGCUGGGCUCAGACCCUGGU</u> <u>ACAGGCCUGGGGA</u> <u>CAGGGACCUGGGGAC</u>	180
<i>miR-150-2</i>	<u>CCUGUCU</u> <u>CCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGCUC</u> <u>AGACCCUGGUACAGGCCUGGGGGACAGGG</u>	181
<i>miR-151</i>	<u>UUUCCUGCCCUCGAGGAGCUCACAGUCU</u> <u>AGUAUG</u> <u>UCUCAUCCCCUACUAGACUGAA</u> <u>GCUCUUGAGGA</u> <u>CAGG</u>	182
<i>miR-151-2</i>	<u>CCUGUCCUCAAGGAGCUUCAGUCU</u> <u>AGUAGGGGAU</u> <u>GAGACAUACUAGACUGUGAGCUC</u> <u>CGAGGGCAG</u> <u>G</u>	183
<i>miR-152-1</i>	<u>UGUCCCCCCCCGGCCAGGUUCUGUGAU</u> <u>ACACUCCG</u> <u>ACUCGGGCUCUGGAGCAGUCAGUG</u> <u>CAUGACAGAA</u> <u>CUUGGGCCCCGGAAGGACC</u>	184
<i>miR-152-2</i>	<u>GGCCAGGUUCUGUGAUACACU</u> <u>CCGACUCGGGCU</u> <u>CUGGAGCAGUCAGUGCAUGACAGA</u> <u>ACUUGGGCCC</u> <u>CGG</u>	185
<i>miR-153-1-1</i>	<u>CUCACAGCUGCCAGUGUCAUUUU</u> <u>UGUGAUCUGCA</u> <u>GCUAGUAUUCUCACUCCAGUUG</u> <u>CAUAGUCACAAA</u> <u>AGUGAUCAUUGGCAGGUGUGGC</u>	186
<i>miR-153-1-2</i>	<u>UCUCUCUCUCCUCACAGCUGCCAGUGUCA</u> <u>UUGUC</u> <u>ACAAAAGUGAUCAUUGGCAGGUGUGGCUCUGCA</u> <u>UG</u>	187

<i>miR-153-2-1</i>	AGCGGUGGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAG CUAGUAAUAUGAGCCAGUUGCAUAGUCACAAAA GUGAUCAUUGGAAACUGUG	188
<i>miR-153-2-2</i>	CAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAUA UGAGCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUU G	189
<i>miR-154-1</i>	GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUU CGCUUUAUUUGUGACGAAUCAUACACGGUUGACC UAUUUUUCAGUACCAA	190
<i>miR-154-2</i>	GAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUAUU UGUGACGAAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUU	191
<i>miR-155</i>	CUGUAAUUGC UAAUCGUGAUAGGGGUUUUUGCCU CCAACUGACUCCUACAUAUUAGCAUUAACAG	192
<i>miR-156 = miR-157=solapamiento miR-141</i>	CCUAACACUGUCUGGUAAAGAUGGCUCCGGGUG GGUUCUCUCGGCAGUAACCUUCAGGGAGCCUGA AGACCAUGGAGGAC	193
<i>miR-158-pequeño = miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGA AUUGACAGCCAGUGCUCUCGUCUCCCUUGGCUG CCAAUCCAUAGGUCACAGGU AUGUUCGCCUCAA UGCCAGC	194
<i>miR-159-1-pequeño</i>	UCCCGCCCCUGUAACAGCAACUCCAUGUGGAAGU GCCACUGGUUCCAGUGGGGCUGCUGUUAUCUGG GGCGAGGGCCA	195
<i>miR-161-pequeño</i>	AAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGU GACUGGUCUGGGCUACGCUAUGCUGCGGCGCUCG GG	196
<i>miR-163-1b-pequeño</i>	CAUUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGGUUCGA GUCCCACCCGGGGUAAAGAAAGGCCGAAUU	197
<i>miR-163-3-pequeño</i>	CCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCACCU GGGGUAGAGGUGAAAGUCCUUUUACGGAAUUUU UU	198
<i>miR-162</i>	CAAUGUCAGCAGUGCCU <u>UAGCAGCACGUAAAUAU</u> <u>UGGCGUUAAGA</u> UUCUAAAAUUAUCUCCAGUAUUA ACUGUGCUGCUGAAGUAAGGUUGACCAUACUCUA CAGUUG	199
<i>miR-175-pequeño =miR-224</i>	GGGCUUUAAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAG AUGAUUGUGCAUUGUUUCAA <u>AAU</u> GGUGCCCUAGU GACUACA <u>AAAGCCC</u>	200
<i>miR-177-pequeño</i>	ACGCAAGUGUCCUAAGGUGAGCUCAGGGAGCACA GAAACCUCCAGUGGAACAGAAGGGCAAAGCUCUA UU	201
<i>miR-180-pequeño</i>	CAUGUGUCACUUUCAGGUGGAGUUCAAGAGUCC CUUCCUGGUUCACCGUCUCCUUUGCUCUCCACAA C	202

<i>miR-181a</i>	<u>AGAAGGGCUAUCAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCC</u> <u>AAGGAACAUUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGGAU</u> <u>UUGAAAAACCACUGACCGUUGACUGUACCUUGG</u> <u>GGUCCUUA</u>	203
<i>miR-181b-1</i>	<u>CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUAAAAGGUCACAAU</u> <u>CAACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGU</u> <u>GGACAAGCUCACUGAACAAUGAAUGCAACUGUGG</u> <u>CCCCGCUU</u>	204
<i>miR-181b-2</i>	<u>CUGAUGGCUGCACUCAACAUAUCAUUGCUGUCGGU</u> <u>GGGUUUGAGUCUGAAUCAACUCACUGAUCAAUGA</u> <u>AUGCAAACUGCGGACCAAACA</u>	205
<i>miR-181c</i>	<u>CGGAAAAUUUGCCAAGGGUUUGGGGGAACAUAUCA</u> <u>ACCUGUCGGUGAGUUUGGGCAGCUCAGGCAAACC</u> <u>AUCGACCGUUGAGUGGACCCUGAGGCCUGGAAUU</u> <u>GCCAUCCU</u>	206
<i>miR-182-as</i>	<u>GAGCUGCUUGCCUCCCCCGUUUUUGGCAAUGGU</u> <u>AGAACUCACACUGGUGAGGUAACAGGAUCCGGUG</u> <u>GUUCUAGACUUGCCAACUAUGGGGCGAGGACUCA</u> <u>GCCGGCAC</u>	207
<i>miR-182</i>	<u>UUUUUGGCAAUGGUAGAACUCACACUGGUGAGGU</u> <u>AACAGGAUCCGGUGGUUCUAGACUUGCCAACUAU</u> <u>GG</u>	208
<i>miR-183</i>	<u>CCGCAGAGUGUGACUCCUGUUCUGUGUAUGGCAC</u> <u>UGGUAGAAUUCACUGUGAACAGUCUCAGUCAGUG</u> <u>AAUUACCGAAGGGCCAUA AACAGAGCAGAGACAG</u> <u>AUCCACGA</u>	209
<i>miR-184-1</i>	<u>CCAGUCACGUCCCCUUAUCACUUUCCAGCCCAGC</u> <u>UUUGUGACUGUAAGUGUUGGACGGAGAACUGAUA</u> <u>AGGGUAGGUGAUUGA</u>	210
<i>miR-184-2</i>	<u>CCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGACUGU</u> <u>AAGUGUUGGACGGAGAACUGAUAAGGGUAGG</u>	211
<i>miR-185-1</i>	<u>AGGGGGCGAGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUCCU</u> <u>GAUGGUCCCCUCCCCAGGGGCUGGCUUCCUCUGG</u> <u>UCCUCCCCUCCA</u>	212
<i>miR-185-2</i>	<u>AGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUCCUGAUGGUCC</u> <u>CCUCCCCAGGGGCUGGCUUCCUCUGGUCCU</u>	213
<i>miR-186-1</i>	<u>UGC UUGUAACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUGGG</u> <u>CUUUCUGGUUUUAUUUUAAGCCCAAAGGUGAAUU</u> <u>UUUUGGGAAGUUUGAGCU</u>	214
<i>miR-186-2</i>	<u>ACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGG</u> <u>UUUUAUUUUAAGCCCAAAGGUGAAUUUUUUGGGA</u> <u>AGU</u>	215
<i>miR-187</i>	<u>GGUCGGGCUCACCAUGACACAGUGUGAGACUCGG</u> <u>GCUACAACACAGGACCCGGGGCGCUGCUCUGACCC</u> <u>CUCGUGUCUUGUGUUGCAGCCGGAGGGACGCAGG</u> <u>UCCGCA</u>	216
<i>miR-188-1</i>	<u>UGC UCCUCUCUCACAUCCCUUGCAUGGUGGAGG</u> <u>GUGAGCUUUCUGAAAACCCUCCACAUGCAGGG</u> <u>UUUGCAGGAUGGCGAGCC</u>	217

miR-188-2	UCUCACA <u>UCCCUUGCAUGGUGGAGGGU</u> GAGCUUU CUGAAA <u>ACCCUCCCAU</u> GCAGGGUUUGCAGGA	218
miR-189-1	CUGUCGAUUGGACCCGCCCUCCGGUGCCU <u>ACUGAG</u> CUGAU <u>AUCAGUUC</u> CAU <u>UUUACACACUGGCUCAG</u> UUCAGCAGGAACAGGAGUCGAGCCCUUGAGCAA	219
miR-189-2	CUCCGGUGCCU <u>ACUGAGCUGAU</u> AUCAGUUCUCAU UUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	220
miR-190-1	UGCAGGCCUCUGUG <u>UGAU</u> AUGUUUGAU <u>AUAUUAG</u> GUUGU <u>AUUUAAUCCA</u> ACU <u>AUAUAUCAAA</u> CAU <u>AU</u> UCCUACAGUGUCUUGCC	221
miR-190-2	CUGUGUGAU <u>AUGUUUGAU</u> AUA <u>UUAGGU</u> UGUU <u>AUU</u> UAAUCCAACU <u>AUAUAUCAAA</u> CAU <u>AU</u> UCCUACAG	222
miR-191-1	CGGCUGGACAGCGGGCAACGGAAUCCCAA <u>AAAGCA</u> GCUGUUGUCUCCAGAGCAUCCAGCUGCGCUUGG AUUUCGUCCCCUGCUCUCCUGCCU	223
miR-191-2	AGCGGGCAACGGAAUCCCAA <u>AGCAGCUGU</u> UGUC UCCAGAGCAUCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCC CCUGCU	224
miR-192-2/3	CCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCU <u>AUGAA</u> UUGACAGCCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGC CAAUCCAUAAGGUCACAGGUAUGUUCGCCUCAU GCCAG	225
miR-192	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCU <u>AUGA</u> AUUGACAGCCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUG CAAUCCAUAAGGUCACAGGUAUGUUCGCCUCAU UGCCAGC	226
miR-193-1	CGAGGAUUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCGGG CGAGAUGAGGGUGUCGGAUCAACUGGCCU <u>ACAAA</u> GUCCAGUUCUCGGCCCCCG	227
miR-193-2	GCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGA UCAACUGGCCUACAAAGUCC <u>CAGU</u>	228
miR-194-1	AUGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCC <u>AUGUG</u> GACUGUGUACCAAUUUCCAGUGGAGAUGCUGU <u>A</u> CUUUUGAUGGUUACCAA	229
miR-194-2	GUGUAACAGCAACUCCAUGGACUGUGUACCAA UUUCCAGUGGAGAUGCUGUACUUUUGAU	230
miR-195-1	AGCUUCCUGGCUCUAGCAGCACAGAAU <u>AUUGG</u> CACAGGGAAGCGAGUCUGCCAAU <u>AUUGGCUGUGC</u> UGCUCAGGCAGGGUGGUG	231
miR-195-2	UAGCAGCACAGAAU <u>AUUGGCACAGGGAAGCGAG</u> UCUGCCAAU <u>AUUGGCUGUGCUGCU</u>	232
miR-196-1	CUAGAGCUUGAAUUGGAACUGCUGAGUGAAU <u>UAG</u> GUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAAC ACAACAACAUUAAACCACCCGAUUCACGGCAGUU ACUGCUC	233
miR-196a-1	GUGAAU <u>UAGGUAGUU</u> CAUGUUGUUGGGCCUGGG UUUCUGAACACAACAACAUUAAACCACCCGAUUC AC	234

<i>miR-196a-2 (miR-196-2)</i>	<u>UGCUCGCUCAGCUGAUCUGUGGCCUUAGGUAGUUU</u> <u>CAUGUUGUUGGGAUUGAGUUUUGAACUCGGCAAC</u> <u>AAGAAACUGCCUGAGUUACAUCAGUCGGUUUUCG</u> <u>UCGAGGGC</u>	235
<i>miR-196</i>	<u>GUGAAUUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGG</u> <u>UUUCUGAACACAACAACAUAUAAACCACCCGAUUC</u> <u>AC</u>	236
<i>miR-196b</i>	<u>ACUGGUCGGUGAUUUAGGUAGUUUCCUGUUGUUG</u> <u>GGAUCCACCUUUCUCUCGACAGCACGACACUGCCU</u> <u>UCAUUACUUCAGUUG</u>	237
<i>miR-197</i>	<u>GGCUGUGCCGGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAA</u> <u>GAGCUCUUCACCCUUCACCACCUUCUCCACCCAGC</u> <u>AUGGCC</u>	238
<i>miR-197-2</i>	<u>GUGCAUGUGUAUGUAUGUGUGCAUGUGCAUGUGU</u> <u>AUGUGUAUGAGUGCAUGCGUGUGUGC</u>	239
<i>miR-198</i>	<u>UCAUUGGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUCCUGUGAU</u> <u>UUUUCUUCUUCUCUAUAGAAUAAAUGA</u>	240
<i>miR-199a-1</i>	<u>GCCAACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGG</u> <u>CUCUCA AUGUGUACAGUAGUCUGCACA UUGGUUA</u> <u>GGC</u>	241
<i>miR-199a-2</i>	<u>AGGAAGCUUCUGGAGAUCCUGCUCUGGCCCA</u> <u>GUGUUCAGACUACCUGUUCAGGACAAUGCCGUUG</u> <u>UACAGUAGUCUGCACA UUGGUUAGACUGGGCAAG</u> <u>GGAGAGCA</u>	242
<i>miR-199b</i>	<u>CCAGAGGACACCUCACUCCGUCUACCCAGUGUUU</u> <u>AGACUAUCUGUUCAGGACUCCCAAUUGUACAGU</u> <u>AGUCUGCACA UUGGUUAGGCUGGGCUGGGUUAGA</u> <u>CCCUCGG</u>	243
<i>miR-199s</i>	<u>GCCAACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGG</u> <u>CUCUCA AUGUGUACAGUAGUCUGCACA UUGGUUA</u> <u>GGC</u>	244
<i>miR-200a</i>	<u>GCCGUGGCCAUUCUACUGGGCAGCAUUGGAUGGA</u> <u>GUCAGGUUCUCAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACG</u> <u>GC</u>	245
<i>miR-200b</i>	<u>CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUUCUACUGGGCA</u> <u>GCAUUGGAUGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUG</u> <u>GUAAUGAUGACGGCGGAGCCUCGACG</u>	246
<i>miR-200c</i>	<u>CCCUCGUCUACCCAGCAGUGUUUGGGUGCGGUU</u> <u>GGGAGUCUCUAAUACUGCCGGGUAAUGAUGGAGG</u>	247
<i>miR-202</i>	<u>GUUCCUUUUUCCUAUGCAUAUACUUCUUGAGGA</u> <u>UCUGGCCUAAAGAGGUUAUAGGGCAUGGGAAGAUG</u> <u>GAGC</u>	248
<i>miR-203</i>	<u>GUGUUGGGGACUCGCGCGCUGGGUCCAGUGGUUC</u> <u>UUAACAGUUCAACAGUUCUGUAGCGCAAUUGUGA</u> <u>AAUGUUUAGGACCACUAGACCCGGCGGGCGCGGC</u> <u>GACAGCGA</u>	249

miR-204	<u>GGCUACAGUCUUUCUJUCAUGUGACUCGUGGACUU</u> <u>CCCUUUGUCAUCCUAUGCCUGAGAAUAUAUGAAG</u> <u>GAGGCUGGGAAGGCAAAGGGACGUUCAAUUGUCA</u> <u>UCACUGGC</u>	250
miR-205	<u>AAAGAUCUCAGACAAUCCAUGUGCUUCUCUUGU</u> <u>CCUJUCAUCCACCGGAGUCUGUCUCAUACCCAACC</u> <u>AGAUUCAGUGGAGUGAAGUUCAGGAGGCAUGGA</u> <u>GCUGACA</u>	251
miR-206-1	<u>UGCUCCCGAGGCCACAUGCUUCUUUAUAUCCCCA</u> <u>UAUGGAUUACUUJGCUAUGGAAUGUAAGGAAGUG</u> <u>UGUGGUUUCGGCAAGUG</u>	252
miR-206-2	<u>AGGCCACAUGCUUCUUUAUAUCCCCAU AUGGAUU</u> <u>ACUUJGCUAUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUU</u> <u>U</u>	253
miR-208	<u>UGACGGGCGAGCUUUUGGCCCGGGUUAUACCUGA</u> <u>UGCUCACGUUAAGACGAGCAAAAAGCUUGUUGG</u> <u>UCA</u>	254
miR-210	<u>ACCCGGCAGUGCCUCCAGGCGCAGGGCAGCCCCUG</u> <u>CCCACCGCACACUGCGCUGCCCCAGACCCACUGUG</u> <u>CGUGUGACAGCGGCUGAUCUGUGCCUGGGCAGCG</u> <u>CGACCC</u>	255
miR-211	<u>UCACCUJGGCCAUGUGACUUGUGGGCUUCCCUUUG</u> <u>UCAUCCUUCGCCUAGGGCUCUGAGCAGGGCAGGG</u> <u>ACAGCAAAGGGGUGCUCAGUUGUCACUJCCACA</u> <u>GCACGGAG</u>	256
miR-212	<u>CGGGGCACCCCGCCCGGACAGCGCGCCGGCACCUU</u> <u>GGCUCUAGACUGCUUACUGCCCJGGCCCGCCUCAG</u> <u>UAACAGUCUCCAGUCACGGCCACCGACGCCUGGCC</u> <u>CCGCC</u>	257
miR-213-2	<u>CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUAAAAGGUCACAAU</u> <u>CAACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGU</u> <u>GGACAAGCUCACUGAACAAUGAAUGCAACUGUGG</u> <u>CCCCGCUU</u>	258
miR-213	<u>GAGUUUGAGGGUJGCUUCAGUGAACAUUCAACGC</u> <u>UGUCGGUGAGUUJGGAUUAAAUAUCAAACCAUC</u> <u>GACCGUUGAUUGUACCCUAUGGCUAACCAUCAUC</u> <u>UACUCC</u>	259
miR-95-4	<u>GGCCUGGCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCU</u> <u>GUCUACACUJGUCUGUGCAGAACAUCCGCUCACCU</u> <u>GUACAGCAGGCACAGACAGGCAGUCACAUGACAA</u> <u>CCCAGCCU</u>	260
miR-215	<u>AUCAUUCAGAAAUGGUUAUACAGGAAAUGACCUA</u> <u>UGAAUUGACAGACAUAUAGCUGAGUUJGUCUGU</u> <u>CAUUUCUUJAGGCCAAUAUUCUGUAUGACUGUGC</u> <u>UACUUCAA</u>	261
miR-216	<u>GAUGGCUGUGAGUJGGCUJAAUCUCAGCUGGCAA</u> <u>CUGUGAGAUJUCAUACAAUCCCUCACAGUGGUC</u> <u>UCUGGGAUUAUGCUAAACAGAGCAAUUUCCUAGC</u> <u>CCUCACGA</u>	262

miR-217	AGUAUAAUUAUUACAUAAGUUUUUGAUGUCGCAGA <u>UACUGCAUCAGGAACUGAUUGGAUAAGA</u> AUCAGU CACCAUCAGU <u>UCCUA</u> AUGCAUUGCCUUCAGCAUC UAAACAAG	263
miR-218-1	GUGAUAAUGUAGCGAGAUUUUCUGUUGUGCUUGA <u>UCUAACCAUGUGGUUGCGAGGUAUGAGU</u> AAAACA UGGUUCCGUCAAGCACCAUGGAACGUCACGCAGC UUUCUACA	264
miR-218-2	GACCAGUCGCUCGCGGGGCUUCCU <u>UUGUGCUUGA</u> <u>UCUAACCAUGUGUGGAACGAUGGAAACGGAACA</u> UGGUUCUGUCAAGCACCGCGGAAAGCACCGUGCU CUCCUGCA	265
miR-219	CCGCCCCGGGCCGCGGCUC <u>CCUGAUUGUCCAAACGC</u> <u>AAUUCUCGAGUCUAUGGCUC</u> CGGCCGAGAGUUGA GUCUGGACGUCCCGAGCCGCGCCCCCAAACCUCG AGCGGG	266
miR-219-1	CCGCCCCGGGCCGCGGCUC <u>CCUGAUUGUCCAAACGC</u> <u>AAUUCUCGAGUCUAUGGCUC</u> CGGCCGAGAGUUGA GUCUGGACGUCCCGAGCCGCGCCCCCAAACCUCG AGCGGG	267
miR-219-2	ACUCAGGGGCUUCGCCACUGAUUGUCCAAACGCA <u>AUUCUUGUACGAGUCUGCGGCCAACCGAGAAUUG</u> UGGCUGGACAUCUGUGGCUGAGCUC <u>CCGGG</u>	268
miR-220	GACAGUGUGGCAUUGUAGGGCUC <u>CACACCGUAUC</u> <u>UGACACUUUGGGCGAGGGCACCAUGCUGA</u> AGGUG UUCAUGAUGCGGUCUGGGAACUCCUCACGGAUCU UACUGAUG	269
miR-221	UGAACAUCCAGGUCUGGGGCAUGAACCUGGCAUA CAAUGUAGAUUUUCUGUGUUCGUUAGGCAAC <u>AGCU</u> <u>ACAUUGUCUGCUGGGUUUCAGGCU</u> ACCUGGAAAC AUGUUCUC	270
miR-222	GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCA <u>AUGGCUCA</u> GUAGCCAGUGUAGAUC <u>CCUGUCUUUCGUA</u> AUCAGC <u>AGCUACAUCUGGCUACUGGGUCUCUGAUGGCAUC</u> UUCUAGCU	271
miR-223	CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCUC <u>CGUGUAUUUG</u> ACAAGCUGAGUUGGACACUCCAUGUGGUAGAGUG <u>UCAGUUUGUCAAAUACCCCAAGUGCGGCACAUGC</u> UUACCAG	272
miR-95-4	GGGCUUUC <u>AAGUCACUAGUGGU</u> UCCGUUUA <u>GUAG</u> AUGAUUGUGCAUUGUUUCAAAAUGGUGCCCUAGU GACUACAAAGCCC	273
miR-294-1 (chr16)	CAAUCUCCUUUAUCAUGGUAUUGAUUUUUCAGUGCU UCCCUUUUGUGUGAGAGAAGUA	274
miR-296	AGGACCCUCCAGAGGGCCCCCCCCUCA <u>UCCUGUUGUG</u> CCUAAUUCAGAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCCUGAAGG GCUCU	275
miR-299	AAGAAAUGGUUUACCGUCCACAUA <u>CAUUUGAAU</u> AU GUAUGUGGGAUGGUA <u>AAACCGCUUCU</u>	276

<i>miR-301</i>	ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUAUUGCACUACUGU ACUUUACAGCUAGCAGUGCAAUAGUAUUGUCAAGCA UCUGAAAGCAGG	277
<i>miR-302a</i>	CCACCACUAAAACGUGGAUGUACUUGCUUUGAAACUA AAGAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGAUGG	278
<i>miR-302b</i>	GCUCCCUUCAACUUAACAUGGAAGUGCUUUCUGUGA CUUUA AAAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUAGUAGGAGU	279
<i>miR-302c</i>	CCUUUGCUUUAACAUGGGGGUACCUGCUGUGUGAAAC AAAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGGAGG	280
<i>miR-302d</i>	CCUCUACUUAACAUGGAGGCACUUGCUGUGACAUGA CAAAAUAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGUGG	281
<i>miR-320</i>	GCUUCGCUCCCCUCCGCCUUCUCUCCCCGGUUCUCCC GGAGUCGGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAGG AUGAGGU	282
<i>miR-321</i>	UUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCC ACCCGGGGUAAAAGAAAGGCCGA	283
<i>miR-323</i>	UUGGUACUUGGAGAGAGGUGGUCGUGGCGCGUUCGC UUUAUUUAUGGCGCACAUACACGGUCGACCUCUUG CAGUAUCUAAUC	284
<i>miR-324</i>	CUGACUAUGCCUCCCCGCAUCCCCUAGGGCAUUGGUGU AAAGCUGGAGACCCACUGCCCCAGGUGCUGCUGGGGGU UGUAGUC	285
<i>miR-325</i>	AUACAGUGC UUGGUCCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUG UUUGUGACAUA AUUUUGUUUAUUGAGGACCUCUAUCA AUCAAGCACUGUGC UAGGCUCUGG	286
<i>miR-326</i>	CUCAUCUGUCUGUUGGGCUGGAGGCAGGGCCUUGUG AAGGCGGGUGGUGCUCAGAUCGCCUCUGGGCCCUCCU CCAGCCCCGAGGCGGAUUCA	287
<i>miR-328</i>	UGGAGUGGGGGGGCAGGAGGGGCUCAGGGAGAAAGUG CAUACAGCCCCUGGCCUCUCUGCCCUUCCGUCCCCUG	288
<i>miR-330</i>	CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUJAGG CUCUGCAAGAUAACCGAGCAAAGCACACGGCCUGCAG AGAGGCAGCGCUCUGCCC	289
<i>miR-331</i>	GAGUUUGGUUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGUAUGGUC CCAGGGAUCCAGAUCAAACCAGGCCCCUGGGCCUAUC CUAGAACCAACCUAAGCUC	290
<i>miR-335</i>	UGUUUUGAGCGGGGGUCAAGAGCAAUAACGAAAAAUG UUUGUCAUA AACCGUUUUUCAUUAUUGCUCCUGACCU CCUCUCAUUUGC UAUAUUCA	291
<i>miR-337</i>	GUAGUCAGUAGUUGGGGGGUGGGAACGGCUUCAUACA GGAGUUGAUGCACAGUUAUCCAGCUCCUAUAUGAUGC CUUUCUUCAUCCCCUUCA	292
<i>miR-338</i>	UCUCCAACAUAUCCUGGUGCUGAGUGAUGACUCAGG CGACUCCAGCAUCAGUGAUUUUGUUGAAGA	293
<i>miR-339</i>	CGGGGCGGCCGCUCUCCCUGUCCUCCAGGAGCUCACGU GUGCCUGCCUGUGAGCGCCUCGACGACAGAGCCGGCGC CUGCCCCAGUGUCUGCGC	294

<i>miR-340</i>	<u>UUGUACCUGGUGUGAUUAUAAGCAAUGAGACUGAUU</u> <u>GUCAUAUGUCGUTUGUGGGGAUCCGUCUCAGUUACUUU</u> <u>AUAGCCAUACCUGGUAUCUUA</u>	295
<i>miR-342</i>	<u>GAAACUGGGCUCAAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUU</u> <u>GAGGGACAUGGUUAAUGGAAUUGUCUCACACAGAAU</u> <u>CGCACCCGUCACCTUIGGCCUACUUA</u>	296
<i>miR-345</i>	<u>ACCCAAACCCUAGGUCUGCUGACUCCUAGUCCAGGGCU</u> <u>CGUGAUGGCUGGUGGGCCUGAACGAGGGGUCUGGAG</u> <u>GCCUGGGUUGAAUAUCGACAGC</u>	297
<i>miR-346</i>	<u>GUCUGUCUGCCCUGAUGCCUGCCUCUCUGUUGCUCUGA</u> <u>AGGAGGCAGGGGCUGGGCCUGCAGCUGCCUGGGCAGA</u> <u>GCGGCUCCUGC</u>	298
<i>miR-367</i>	<u>CCAUACUGUUGC UAAUAUGCAACUCUGUUGAAUAUA</u> <u>AAUUGGAAUUGCACUUUAGCAAUGGUGAUGG</u>	299
<i>miR-368</i>	<u>AAAAGGUGGAUAUUCUUCUAUGUUUAUGUUAAUUUAU</u> <u>GGUUAACAUAAGAGGAAAUUCCACGUUUU</u>	300
<i>miR-369</i>	<u>UUGAAGGGAGAUCGACCGUGUUAUAUUCGCUUUUAUUG</u> <u>ACUUCGAAUAAUACAUGGUUGAUCUUUUCUCAG</u>	301
<i>miR-370</i>	<u>AGACAGAGAAGCCAGGUCACGUCUCUGCAGUACACA</u> <u>GCUCACGAGUGCCUGCUGGGGUGGAACCUGGUCUGUC</u> <u>U</u>	302
<i>miR-371</i>	<u>GUGGCACUCAAAACUGUGGGGGCACUUUCUGCUCUCUG</u> <u>GUGAAAGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUAC</u>	303
<i>miR-372</i>	<u>GUGGGCCUCAAAUGUGGAGCACUAUUCUGAUGUCCAA</u> <u>GUGGAAAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCAC</u>	304
<i>miR-373</i>	<u>GGGAUACUCAAAAUGGGGGCGCUUCCUUUUUGUCUG</u> <u>UACUGGGAAGUGCUCGUAUUUGGGGUGUCCC</u>	305
<i>miR-374</i>	<u>UACAUCGGCCAUAUAUAACAACCUGAUAAGUGUUAU</u> <u>AGCACUUUAUCAGAUUGUAUUUGUAAUUGUCUGUGUA</u>	306
<i>miR-hes1</i>	<u>AUGGAGCUGCUCACCCUGUGGGCCUCAAAUGUGGAGG</u> <u>AACUAUUCUGAUGUCCAAGUGGAAAGUGCUGCGACAU</u> <u>UUGAGCGUCACCGGUGACGCCAUUAUCA</u>	307
<i>miR-hes2</i>	<u>GCAUCCCCUCAGCCUGUGGCACUCAAAACUGUGGGGGCA</u> <u>CUUUCUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCGCCAUCUUUUGA</u> <u>GUGUUACCGCUUGAGAAGACUCAACC</u>	308
<i>miR-hes3</i>	<u>CGAGGAGCUCAUACUGGGAUACUCAAAAUGGGGGCGC</u> <u>UUUCCUUUUUGUCUGUACUGGGAAGUGCUCGUAUUU</u> <u>UGGGGUGUCCCUGUUUGAGUAGGGCAUC</u>	309

* Una secuencia subrayada dentro de una secuencia de precursor corresponde a un transcrito de miR procesado maduro (véase la Tabla 1b). Algunas secuencias de precursor tienen dos secuencias subrayadas que indican dos miR maduros diferentes que se obtienen a partir del mismo precursor. Todas las secuencias son humanas.

Tabla 1b - Secuencias de microRNA Maduro Humano.

Nombre de miRNA Maduro	Secuencia de miRNA Maduro (5' a 3')	SEC ID Nº	microRNA precursor correspondiente(s); véase la 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>	ugagguaguagguuguguguu	311	<i>let-7b</i>
<i>let-7c</i>	ugagguaguagguugauuguu	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>

ES 2 536 438 T3

<i>let-7g</i>	ugagguaguaguuuuguacagu	316	<i>let-7g</i>
<i>let-7i</i>	ugagguaguaguuuugucu	317	<i>let-7i</i>
<i>miR-1</i>	uggaauguaaagaaguaugua	318	<i>miR-1b</i> ; <i>miR-1b-1</i> ; <i>miR-1b-2</i>
<i>miR-7</i>	uggaagacuagugauuuuguu	319	<i>miR-7-1</i> ; <i>miR-7-1a</i> ; <i>miR-7-2</i> ; <i>miR-7-3</i>
<i>miR-9</i>	ucuuugguuaucuagcuguauga	320	<i>miR-9-1</i> ; <i>miR-9-2</i> ; <i>miR-9-3</i>
<i>miR-9*</i>	uaaagcuagauaaccgaaagu	321	<i>miR-9-1</i> ; <i>miR-9-2</i> ; <i>miR-9-3</i>
<i>miR-10a</i>	uaccugugauaccgaaauugug	322	<i>miR-10a</i>
<i>miR-10b</i>	uaccugugaaccgaaauugu	323	<i>miR-10b</i>
<i>miR-15a</i>	uagcagcacauaugguuugug	324	<i>miR-15a</i> ; <i>miR-15a-2</i>
<i>miR-15b</i>	uagcagcacaucaugguuuaca	325	<i>miR-15b</i>
<i>miR-16</i>	uagcagcacguaaaauuggcg	326	<i>miR-16-1</i> ; <i>miR-16-2</i> ; <i>miR-16-13</i>
<i>miR-17-5p</i>	caaagugcuuacagucagguagu	327	<i>miR-17</i>
<i>miR-17-3p</i>	acugcagugaaggcacuugu	328	<i>miR-17</i>
<i>miR-18</i>	uaaggugcaucuagugcagaua	329	<i>miR-18</i> ; <i>miR-18-13</i>
<i>miR-19a</i>	ugugcaaaucuaugcaaaacuga	330	<i>miR-19a</i> ; <i>miR-19a-13</i>
<i>miR-19b</i>	ugugcaaaucuaugcaaaacuga	331	<i>miR-19b-1</i> ; <i>miR-19b-2</i>
<i>miR-20</i>	uaaagugcuuauagugcaggua	332	<i>miR-20</i> (<i>miR-20a</i>)
<i>miR-21</i>	uagcuuaucaagacugauugu	333	<i>miR-21</i> ; <i>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-95-4</i>	uggcucaguuacagcaggaacag	337	<i>miR-24-1</i> ; <i>miR-24-2</i> ; <i>miR-24-19</i> ; <i>miR-24-9</i>
<i>miR-25</i>	cauugcacuugucucggucuga	338	<i>miR-25</i>
<i>miR-26a</i>	uucaaguaauccaggauaggcu	339	<i>miR-26a</i> ; <i>miR-26a-1</i> ; <i>miR-26a-2</i>
<i>miR-26b</i>	uucaaguaauucaggauaggu	340	<i>miR-26b</i>
<i>miR-27a</i>	uucacaguggcuaaguuccgcc	341	<i>miR-27a</i>
<i>miR-27b</i>	uucacaguggcuaaguucug	342	<i>miR-27b-1</i> ; <i>miR-27b-2</i>
<i>miR-28</i>	aaggagcucacagucuaugag	343	<i>miR-28</i>
<i>miR-29a</i>	cuagcaccuacugaaaucgguu	344	<i>miR-29a-2</i> ; <i>miR-29a</i>
<i>miR-29b</i>	uagcaccuuugaaaucagu	345	<i>miR-29b-1</i> ; <i>miR-29b-2</i>
<i>miR-29c</i>	uagcaccuuugaaaucgguua	346	<i>miR-29c</i>
<i>miR-30a-5p</i>	uguaaacaucucgacuggaagc	347	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30a-3p</i>	cuuucagucggauguuugcagc	348	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30b</i>	uguaaacaucacuacacucagc	349	<i>miR-30b-1</i> ; <i>miR-30b-2</i>
<i>miR-30c</i>	uguaaacaucacuacacucagc	350	<i>miR-30c</i>
<i>miR-30d</i>	uguaaacaucuccgacuggaag	351	<i>miR-30d</i>
<i>miR-30e</i>	uguaaacaucuuugacugga	352	<i>miR-30e</i>
<i>miR-31</i>	ggcaagaugcuggcauagcug	353	<i>miR-31</i>
<i>miR-32</i>	uauugcacauuacuaaguugc	354	<i>miR-32</i>
<i>miR-33</i>	gugcauuguaguugcauug	355	<i>miR-33</i> ; <i>miR-33b</i>
<i>miR-34a</i>	uggcagugucuuagcugguugu	356	<i>miR-34a</i>
<i>miR-34b</i>	aggcagugucuuagcugauug	357	<i>miR-34b</i>
<i>miR-34c</i>	aggcaguguguuagcugauug	358	<i>miR-34c</i>
<i>miR-92</i>	uauugcacuuguccggccugu	359	<i>miR-92-2</i> ; <i>miR-92-1</i>
<i>miR-93</i>	aaagugcuguuucgugcagguag	360	<i>miR-93-1</i> ; <i>miR-93-2</i>
<i>miR-95</i>	uucaacggguuuuuuugagca	361	<i>miR-95</i>
<i>miR-96</i>	uuuggcacuagcacauuuuugc	362	<i>miR-96</i>
<i>miR-98</i>	ugagguaguaaguuguuuuguu	363	<i>miR-98</i>
<i>miR-99a</i>	aaccguagauccgacuugug	364	<i>miR-99a</i>
<i>miR-99b</i>	caccguagauccgaccuugcg	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</i> ; <i>miR-101-2</i>
<i>miR-103</i>	agcagcauuguacagggcuauaga	368	<i>miR-103-1</i>
<i>miR-105</i>	ucaaauugcucagacuccugu	369	<i>miR-105</i>
<i>miR-106-a</i>	aaaagugcuuacagucagguagc	370	<i>miR-106-a</i>
<i>miR-106-b</i>	uaaagugcugacagugcagau	371	<i>miR-106-b</i>
<i>miR-107</i>	agcagcauuguacagggcuauca	372	<i>miR-107</i>
<i>miR-122a</i>	uggagugugacaauugguguugu	373	<i>miR-122a-1</i> ; <i>miR-122a-2</i>
<i>miR-124a</i>	uuaggcagcgggugaugcca	374	<i>miR-124a-1</i> ; <i>miR-124a-2</i> ; <i>miR-124a-3</i>
<i>miR-125a</i>	ucccugagaccuuuuaaccugug	375	<i>miR-125a-1</i> ; <i>miR-125a-2</i>

ES 2 536 438 T3

<i>miR-125b</i>	ucccugagaccuaacuuguga	376	<i>miR-125b-1; miR-125b-2</i>
<i>miR-126*</i>	cauuauuacuuuugguacgcg	377	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-126</i>	ucguaccgugaguaauaauugc	378	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-127</i>	ucggauccgucugagcuuggcu	379	<i>miR-127-1; miR-127-2</i>
<i>miR-128a</i>	ucacagugaaccggucucuuuu	380	<i>miR-128; miR-128a</i>
<i>miR-128b</i>	ucacagugaaccggucucuuuc	381	<i>miR-128b</i>
<i>miR-129</i>	cuuuuugcggucugggcuugc	382	<i>miR-129-1; miR-129-2</i>
<i>miR-130a</i>	cagugcaauguuaaaagggc	383	<i>miR-130a</i>
<i>miR-130b</i>	cagugcaaugaugaaagggcau	384	<i>miR-130b</i>
<i>miR-132</i>	uaacagucucacagccauggucg	385	<i>miR-132-1</i>
<i>miR-133a</i>	uuggucccuucaaccagcugu	386	<i>miR-133a-1; miR-133a-2</i>
<i>miR-133b</i>	uuggucccuucaaccagcua	387	<i>miR-133b</i>
<i>miR-95-4</i>	ugugacugguugaccagaggg	388	<i>miR-134-1; miR-134-2</i>
<i>miR-135a</i>	uauggcuuuuauuccuauuguga	389	<i>miR-135a; miR-135a-2 (miR-135-2)</i>
<i>miR-135b</i>	uauggcuuuuauuccuauugug	390	<i>miR-135b</i>
<i>miR-136</i>	acuccauuuuuuugaugaugga	391	<i>miR-136-1; miR-136-2</i>
<i>miR-137</i>	uauugcuuaagaauacgcuag	392	<i>miR-137</i>
<i>miR-138</i>	agcugguguugugauc	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>	aacacugucugguuaaagagg	396	<i>miR-141-1; miR-141-2</i>
<i>miR-142-3p</i>	uguaguguuuuccuacuuuauugga	397	<i>miR-142</i>
<i>miR-142-5p</i>	cauaaaguagaagcacuac	398	<i>miR-142</i>
<i>miR-143</i>	ugagaugaagcacugugacuca	399	<i>miR-143-1</i>
<i>miR-144</i>	uacaguauagaugaugacuag	400	<i>miR-144-1; miR-144-2</i>
<i>miR-145</i>	guccaguuuuccaggaauccuu	401	<i>miR-145-1; miR-145-2</i>
<i>miR-146</i>	ugagaacugaauuccauggguu	402	<i>miR-146-1; miR-146-2</i>
<i>miR-147</i>	guguguggaaaugcuucgc	403	<i>miR-147</i>
<i>miR-148a</i>	ucagugcacuacagaacuuugu	404	<i>miR-148a (miR-148)</i>
<i>miR-148b</i>	ucagugcaucacagaacuuugu	405	<i>miR-148b</i>
<i>miR-149</i>	ucuggcuccgugucuucacucc	406	<i>miR-149</i>
<i>miR-150</i>	ucuccaaccuuguccagug	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; m iR-153-2-2</i>
<i>miR-154</i>	uagguuaucgguguugccuucg	411	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-154*</i>	aaucuaacacggguagaccuauu	412	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-155</i>	uuauugcuuaucguguaagggg	413	<i>miR-155</i>
<i>miR-181a</i>	aacauucaacgcugucggugagu	414	<i>miR-181a</i>
<i>miR-181b</i>	aacauucauugcugucggugguu	415	<i>miR-181b-1; miR-181b-2</i>
<i>miR-181c</i>	aacauucaaccugucggugagu	416	<i>miR-181c</i>
<i>miR-182</i>	uuuggcaaugguagaacucaca	417	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-182*</i>	ugguucuagacuugccaacua	418	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-183</i>	uauggcacugguagaauucacug	419	<i>miR-183</i>
<i>miR-95-4</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>	cauccuugcaugguggagggg	424	<i>miR-188</i>
<i>miR-189</i>	gugccuacugagcugauaucagu	425	<i>miR-189-1; miR-189-2</i>
<i>miR-190</i>	ugauauguuugauauuuaggu	426	<i>miR-190-1; miR-190-2</i>
<i>miR-191</i>	caaccggaaucccaaaagcagcu	427	<i>miR-191-1; miR-191-2</i>
<i>miR-192</i>	cugaccuaugaauugacagcc	428	<i>miR-192</i>
<i>miR-193</i>	aacuggccuacaaagucccag	429	<i>miR-193-1; miR-193-2</i>
<i>miR-95-4</i>	uguaacagcaacuccaugugga	430	<i>miR-194-1; miR-194-2</i>
<i>miR-195</i>	uagcagcacagaaauuuggc	431	<i>miR-195-1; miR-195-2</i>
<i>miR-196a</i>	uagguaguuucauguuuggg	432	<i>miR-196a; miR-196a-2 (miR19</i>
<i>miR-196b</i>	uagguaguuuuccuguuuggg	433	<i>miR-196b</i>
<i>miR-197</i>	uuccaccacuuccaccagc	434	<i>miR-197</i>
<i>miR-198</i>	gguccagaggggagauagg	435	<i>miR-198</i>

ES 2 536 438 T3

<i>miR-199a</i>	cccaguguucagacuaccuguuc	436	<i>miR-199a-1; miR-199a-2</i>
<i>miR-199a*</i>	uacaguagucugcacauugguu	437	<i>miR-199a-1; miR-199a-2; miR-199s; miR-199b</i>
<i>miR-199b</i>	cccaguguuuagacuaucuguuc	438	<i>miR-199b</i>
<i>miR-200a</i>	uaacacugucugguaacgaugu	439	<i>miR-200a</i>
<i>miR-200b</i>	cucuaauacugccugguaaugaug	440	<i>miR-200b</i>
<i>miR-200c</i>	aauacugccggguaaugaugga	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>	uucccuuugucauccuauGCCU	444	<i>miR-204</i>
<i>miR-205</i>	uccuucauuccaccggagucug	445	<i>miR-205</i>
<i>miR-206</i>	uggaaugaagggaugugugg	446	<i>miR-206-1; miR-206-2</i>
<i>miR-208</i>	auaagacgagcaaaaagcuugu	447	<i>miR-208</i>
<i>miR-210</i>	cugugcgugugacagcgGCU	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>	acagcaggcacagacggcag	452	<i>miR-95-4</i>
<i>miR-215</i>	augaccuauGAAUgacagac	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>	ugauuguccaaacgcaauucu	457	<i>miR-219; miR-219-1; miR-219-2</i>
<i>miR-220</i>	ccacaccguaucugacacuuu	458	<i>miR-220</i>
<i>miR-221</i>	agcuacauugcugcuggguuuc	459	<i>miR-221</i>
<i>miR-222</i>	agcuacaucuggcuacugGUCUC	460	<i>miR-222</i>
<i>miR-223</i>	ugucaguuuugcaaaUACCCC	461	<i>miR-223</i>
<i>miR-224</i>	caagucacuagugguuccguuuu	462	<i>miR-224</i>
<i>miR-296</i>	agggccccccucaaUCCUGU	463	<i>miR-296</i>
<i>miR-299</i>	ugguuuaccgucccacauacau	464	<i>miR-299</i>
<i>miR-301</i>	cagugcaauaguauugcaaaGC	465	<i>miR-301</i>
<i>miR-302a</i>	uaagugcuuccauguuuugguga	466	<i>miR-302a</i>
<i>miR-302b*</i>	acuuuaacauggaagugcuuuu	467	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302b</i>	uaagugcuuccauguuuaguag	468	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302c*</i>	uuuaacaugggguaaccugcug	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>	uaagccagggaauugggguuc	473	<i>miR-321</i>
<i>miR-323</i>	gcacauuacaggguccaccucu	474	<i>miR-323</i>
<i>miR-324-5p</i>	cgcaucccuagggcAUUGGUGU	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>	ccucugggccuuccuccag	478	<i>miR-326</i>
<i>miR-328</i>	cuggccucucugccuuccgu	479	<i>miR-328</i>
<i>miR-330</i>	gcaaagcacacggccugcagaga	480	<i>miR-330</i>
<i>miR-331</i>	gccccuggccuauccuagaa	481	<i>miR-331</i>
<i>miR-335</i>	ucaagagcaauaacgaaaaugu	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>	ucucacacagaaaucgaccgguc	487	<i>miR-342</i>
<i>miR-345</i>	ugcugacuccuaguccagggc	488	<i>miR-345</i>
<i>miR-346</i>	ugucugcccgcAugccgGCU	489	<i>miR-346</i>
<i>miR-367</i>	aaaugcacuuuagcaaugguga	490	<i>miR-367</i>
<i>miR-368</i>	acauagaggaaauuccaguuu	491	<i>miR-368</i>
<i>miR-369</i>	aaauaacaugguugauuuuu	492	<i>miR-369</i>
<i>miR-370</i>	gccugcugggguggaaccugg	493	<i>miR-370</i>
<i>miR-371</i>	gugccgccaucuuuugagugu	494	<i>miR-371</i>
<i>miR-372</i>	aaagugcugcgacauuuagGCGU	495	<i>miR-372</i>

<i>miR-373*</i>	acucaaaauggggcgcuuucc	496	<i>miR-373</i>
<i>miR-373</i>	gaagugcuucgauuuuggggugu	497	<i>miR-373</i>
<i>miR-374</i>	uuauaaucacaccugauaagug	498	<i>miR-374</i>

El nivel del al menos un producto génico de miR se puede medir en las células de una muestra biológica obtenida de un sujeto. Por ejemplo, se puede extraer una muestra de tejido de un sujeto del que se sospecha que tiene un cáncer de pulmón por medio de las técnicas de biopsia convencionales. En otra realización, se puede extraer una muestra de sangre del sujeto y se pueden aislar los glóbulos blancos para extraer el ADN por las técnicas de referencia. La muestra de sangre o de tejido se obtiene del sujeto preferentemente antes del inicio de la radioterapia, quimioterapia u otro tratamiento terapéutico. Se puede obtener una correspondiente muestra de tejido o de sangre de control o una muestra control de referencia, a partir de tejidos sin afectar del sujeto, a partir de un individuo humano normal o una población de individuos humanos normales o a partir de cultivos celulares que correspondan con la mayoría de las células de la muestra del sujeto. La muestra control de tejido o de sangre se procesa entonces junto con la muestra del sujeto, de forma que se puedan comparar los niveles del producto génico de miR producido por un gen miR determinado en las células de la muestra del sujeto con los niveles del producto génico de miR correspondiente de las células de la muestra control. De manera alternativa, se puede obtener una muestra de referencia y procesarse independientemente (por ejemplo, a una hora diferente) de la muestra de ensayo y se puede comparar el nivel del producto génico de miR producido por un determinado gen miR en las células de la muestra de ensayo con el nivel del correspondiente producto génico de miR de la muestra de referencia.

El nivel de al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser mayor que el nivel del correspondiente producto génico de miR en la muestra control (es decir, la expresión del producto génico de miR está "regulada positivamente"). Como se usa en el presente documento, la expresión de un producto génico de miR está "regulada positivamente" cuando la cantidad del producto génico de miR en una célula o muestra de tejido del sujeto es mayor que la cantidad del mismo producto génico en una célula o muestra de tejido de control. Como alternativa, el nivel del al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser menor que el nivel del correspondiente producto génico de miR de la muestra de control (es decir, la expresión del producto génico de miR está "regulada negativamente"). Como se usa en el presente documento, la expresión de un gen miR está "regulada negativamente" cuando la cantidad del producto génico de miR producido por ese gen en una célula o muestra de tejido del sujeto es menor que la cantidad producida por el mismo gen en una célula o muestra de tejido de control. La expresión génica de miR relativa en las muestras de control y normales se puede determinar con respecto a una o más expresiones de ARN de referencia. Las referencias pueden comprender, por ejemplo, un nivel cero de expresión génica de miR, el nivel de expresión génica de miR en una línea celular de referencia, el nivel de expresión génica de miR en tejidos sin afectar del sujeto o el nivel medio de la expresión génica de miR obtenida previamente para una población de seres humanos normales de control.

Una alteración (es decir, un aumento o disminución) del nivel de un producto génico de miR en la muestra obtenida del sujeto, con respecto al nivel de un correspondiente producto génico de miR de la muestra control, es indicativa de la presencia de cáncer de pulmón en el sujeto. El nivel de al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser mayor que el nivel del correspondiente producto génico de miR en la muestra control. Como alternativa, el nivel de al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser menor que el nivel del correspondiente producto génico de miR en la muestra control. En cierta divulgación, el al menos un producto génico de miR se selecciona entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-192-prec, miR-224, miR-126, miR-24-2, miR-30a-5p, miR-212, miR-140, miR-9, miR-214, miR-17-3p, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216-prec, miR-219-1, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-125a-prec, miR-26a-1-prec, miR-146, miR-203, miR-199b-prec, let-7a-2-prec, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c-prec, miR-150, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125a y let-7f-1. En una divulgación en particular, el al menos un producto génico de miR se selecciona entre el grupo que consiste en miR-21, miR-205 and miR-216. En otra divulgación, el cáncer de pulmón es un adenocarcinoma de pulmón y el al menos un producto génico de miR se selecciona entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-155, miR-210, miR-126* y miR-224.

En una divulgación particular, el producto génico de miR no es uno o más de let7a-2, let-7c, let-7g, let-7i, miR-7-2, miR-7-3, miR-9, miR-9-1, miR-10a, miR-15a, miR-15b, miR-16-1, miR-16-2, miR-17-5p, miR-20a, miR-21, miR-24-1, miR-24-2, miR-25, miR-29b-2, miR-30, miR-30a-5p, miR-30c, miR-30d, miR-31, miR-32, miR-34, miR-34a, miR-34a prec, miR-34a-1, miR-34a-2, miR-92-2, miR-96, miR-99a, miR-99b prec, miR-100, miR-103, miR-106a, miR-107, miR-123, miR-124a-1, miR-125b-1, miR-125b-2, miR-126*, miR-127, miR-128b, miR-129, miR-129-1/2 prec, miR-132, miR-135-1, miR-136, miR-137, miR-141, miR-142-as, miR-143, miR-146, miR-148, miR-149, miR-153, miR-155, miR-159-1, miR-181, miR-181b-1, miR-182, miR-186, miR-191, miR-192, miR-195, miR-196-1, miR-196-1 prec, miR-196-2, miR-199a-1, miR-199a-2, miR-199b, miR-200b, miR-202, miR-203, miR-204, miR-205, miR-210, miR-211, miR-212, miR-214, miR-215, miR-217, miR-221 y/o miR-223.

El nivel de un producto génico de miR en una muestra se puede medir utilizando cualquier técnica que sea adecuada para detectar los niveles de expresión de ARN en una muestra biológica. Las 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) son bien conocidas por los expertos en la técnica. En una realización en particular, el nivel de al menos un producto génico de miR se detecta utilizando el análisis de transferencia de Northern. Por ejemplo, el ARN total celular se puede purificar a partir de las células por homogenización en presencia de un tampón de extracción de ácido nucleico, seguido por centrifugación. Los ácidos nucleicos se precipitan y el ADN se elimina tratándolo con ADNasa y precipitación. Las moléculas de ARN se separan entonces por electroforesis en gel sobre geles de agarosa según las técnicas de referencia y se transfieren a los filtros de nitrocelulosa. Entonces se inmoviliza el ARN sobre los filtros por calentamiento. La detección y la cuantificación de ARN específico se consigue utilizando sondas de ADN o ARN marcadas adecuadamente que sean complementarias del ARN en cuestión. Véase, por ejemplo, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, J. Sambrook y col., eds., 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Capítulo 7.

Las sondas adecuadas (por ejemplo, sondas ADN, sondas ARN) para la hibridación por transferencia de Northern de un determinado producto génico de miR se pueden producir a partir de las secuencias proporcionadas en la Tabla 1a y la Tabla 1b e incluyen, pero sin limitación, sondas que tienen al menos una complementariedad de aproximadamente el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o el 99 % con el producto génico de miR de interés. Los métodos para la preparación de sondas marcadas de ADN y ARN y las condiciones para la hibridación de las mismas con las secuencias de nucleótidos diana se describen en *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, J. Sambrook y col., eds., 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Capítulos 10 y 11.

Por ejemplo, la sonda de ácido nucleico se puede marcar con, por ejemplo un radionucleido, tal como ^3H , ^{32}P , ^{33}P , ^{14}C o ^{35}S ; un metal pesado; un ligando capaz de funcionar como un miembro de un 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 se pueden marcar para que tengan una actividad específica alta bien por el método de traducción de Nick de Rigby y col. (1977), *J. Mol. Biol.* 113: 237-251 o por el método del cebador aleatorio de Fienberg y col. (1983), *Anal. Biochem.* 132: 6-13. Este último es el método de elección para sintetizar sondas de actividad específica alta marcadas con ^{32}P a partir de matrices de ADN de cadena sencilla o de moldes de ARN. Por ejemplo, reemplazando los nucleótidos preexistentes con nucleótidos altamente radiactivos según el método de traducción de Nick, es posible preparar sondas de ácido nucleico marcadas con ^{32}P con una actividad específica en exceso de 10^8 cpm/microgramo. Se puede entonces llevar a cabo la detección autorradiográfica de hibridación, exponiendo una película fotográfica a los filtros hibridados. El escáner densitométrico de las películas fotográficas expuestas por los filtros hibridados proporciona una medición precisa de los niveles de transcripción del gen miR. Utilizando otra estrategia, los niveles de transcripción del gen miR se pueden cuantificar por sistemas de imagen computarizados, tales como el Molecular Dynamics 400-B 2D Phosphorimager disponible en Amersham Biosciences, Piscataway, NJ.

En el caso de que el marcado de ADN o ARN por radionucleidos no sea práctico, se puede utilizar el método del cebador aleatorio para incorporar un análogo, por ejemplo, el análogo dTTP 5-(N-(N-biotinil-epsilon-aminocaproil)-3-aminoalil) desoxiuridina trifosfato, en la molécula sonda. El oligonucleótido sonda biotinilado se puede detectar al reaccionar con proteínas unidas a biotina, tales como la avidina, estreptavidina y anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos antibiotina) acoplados a tintes fluorescentes o enzimas que producen reacciones de color.

Además de la técnica Northern y otras técnicas de hibridación de ARN, la determinación de las transcripciones de ARN se puede conseguir utilizando la técnica de hibridación *in situ*. Esta técnica necesita menos células que la técnica de transferencia de Northern e implica depositar las células enteras en un cubreobjetos de microscopio y sondear el contenido de ácido nucleico de la célula con una solución que contiene sondas de ácido nucleico radiactivo o marcado de alguna manera (por ejemplo, ADNc o ARN). Esta técnica es particularmente muy precisa para analizar muestras de biopsias de sujetos. La práctica de la técnica de la hibridación *in situ* se describe con mayor detalle en la Patente de Estados Unidos Nº 5.427.916. Las sondas adecuadas para la hibridación *in situ* de un determinado producto génico de miR se pueden producir a partir de las secuencias de ácidos nucleicos proporcionadas en la Tabla 1a y la Tabla 1b, e incluyen, sin limitación, sondas que tienen al menos una complementariedad de aproximadamente el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o el 99 % con un producto génico de miR de interés, así como sondas que tienen una complementariedad completa con un producto génico de interés, como se ha descrito anteriormente.

El número relativo de transcritos del gen miR en las células también se puede determinar por transcripción inversa de los transcritos del gen miR, seguida por la amplificación de los transcritos transcritos inversamente por reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). Los niveles de transcritos del gen miR se pueden cuantificar comparándolos con una referencia interna, por ejemplo, el nivel de ARNm de un gen constitutivo presente en la misma muestra. Un gen constitutivo adecuado para su uso como referencia interna incluye, por ejemplo, el de la miosina o la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH). Los métodos para llevar a cabo la RT-PCR cuantitativa y semicuantitativa y variaciones de las mismas, son bien conocidos por los expertos en la técnica.

En algunos casos, puede ser deseable determinar simultáneamente el nivel de expresión de una pluralidad de diferentes productos génicos de miR en una muestra. En otros casos, puede ser deseable determinar el nivel de expresión de los transcritos de todos los genes miR conocidos que se correlacionan con un cáncer. Evaluar los

niveles de expresión específicos del cáncer para cientos de genes miR o productos génicos tarda mucho tiempo y necesita una gran cantidad de ARN total (por ejemplo, al menos 20 mg para cada transferencia de Northern) y las técnicas autorradiográficas necesitan isótopos radiactivos.

5 Para superar estas limitaciones, puede construirse una genoteca de oligos, en formato de microchip (es decir, una micromatriz) que contenga una serie de oligonucleótidos sondas (por ejemplo, oligodesoxinucleótidos) que son
 10 específicos para una serie de genes miR. Utilizando tal micromatriz, se puede determinar el nivel de expresión de múltiples microARN en una muestra biológica haciendo una transcripción inversa de los ARN para generar una serie de oligodesoxinucleótidos diana, e hibridándolos con los oligonucleótidos sonda de la micromatriz para generar un
 15 perfil de hibridación o de expresión. El perfil de hibridación de la muestra de ensayo se puede entonces comparar con el de una muestra control para determinar cuáles son los microARN que tienen un nivel de expresión alterado en las células del cáncer de pulmón. Como se usa en el presente documento, "oligonucleótido sonda" u "oligodesoxinucleótido sonda" se refiere a un oligonucleótido que es capaz de hibridarse con un oligonucleótido diana. "Oligonucleótido diana" u "oligodesoxinucleótido diana" se refiere a una molécula que se tiene que detectar (por ejemplo, por medio de 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 hibridarse con un producto génico de miR o con una transcripción inversa del producto génico de miR específico.

20 Un "perfil de expresión" o un "perfil de hibridación" de una muestra particular es esencialmente una huella dactilar del estado de la muestra, aunque cualquier gen en particular puede tener dos estados que se expresen de forma similar, la evaluación de un cierto número de genes simultáneamente permite la generación de un perfil de expresión génica que es único del estado de la célula. Es decir que el tejido normal se puede distinguir del tejido del cáncer de pulmón y se pueden determinar diferentes estados pronósticos en el tejido del cáncer de pulmón (por ejemplo, pronósticos de supervivencia buenos o malos a largo plazo). Comparando los perfiles de expresión del tejido del cáncer de pulmón en diferentes estados, se obtiene información con respecto a cuáles son los genes importantes (incluyendo tanto la regulación positiva como negativa de genes) en cada uno de esos estados. La identificación de secuencias que se expresan diferencialmente en el tejido del cáncer de pulmón o en el tejido pulmonar normal, así como la expresión diferencial que da lugar a diferentes resultados pronósticos, permite el uso de esta información de varias maneras. Por ejemplo, se puede evaluar un régimen de tratamiento particular (por ejemplo, para determinar si el fármaco quimioterapéutico actúa para mejorar el pronóstico a largo plazo en un paciente en particular). De manera similar, el diagnóstico se puede hacer o confirmar comparando muestras del paciente con perfiles de expresión conocidos. Además, estos perfiles de expresión génica (o genes individuales) permiten seleccionar entre los fármacos candidatos que suprimen el perfil de expresión del cáncer de pulmón o convierten un perfil de pronóstico malo en un perfil de pronóstico mejor.

35 En consecuencia, la presente divulgación proporciona métodos para diagnosticar si un sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón, que comprende la transcripción inversa del ARN de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar una serie de oligodesoxinucleótidos diana, hibridando los oligodesoxinucleótidos diana con una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para proporcionar un perfil de hibridación de la muestra de ensayo y comparando el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con un perfil de hibridación generado a partir una muestra de control, de manera que una alteración en la señal de al menos un miARN es indicativa de que el sujeto o tiene o está en riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón. En una realización, la micromatriz comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para una parte sustancial de todos los miARN humanos conocidos. En una divulgación particular, la micromatriz comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para uno o más de los miARN seleccionados entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-192-prec, miR-224, miR-126, miR-24-2, miR-30a-5p, miR-212, miR-140, miR-9, miR-214, miR-17-3p, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216-prec, miR-219-1, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-125a-prec, miR-26a-1-prec, miR-146, miR-203, miR-199b-prec, let-7a-2-prec, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c-prec, miR-150, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125a, let-7f-1 y una combinación de los mismos.

La micromatriz se puede preparar con oligonucleótidos sonda específicos de un gen generados a partir de secuencias conocidas de miARN. La matriz puede contener dos oligonucleótidos sonda diferentes para cada miARN, uno que contiene la secuencia madura, activa y el otro que es específico para el miARN precursor. La matriz también puede contener controles, tales como una o más secuencias de ratón que se diferencian de los ortólogos humanos solamente en unas pocas bases, que pueden servir como controles para las condiciones de rigurosidad de la hibridación. Se pueden imprimir en el microchip ARNt y otros ARN (por ejemplo, ARNr, ARNm) de ambas especies, proporcionando un control interno positivo de hibridación específica, relativamente estable. También se pueden incluir en el microchip uno o más controles apropiados de hibridación no específica. Con este propósito, las secuencias se seleccionan basándose en la ausencia de cualquier homología con cualquiera de los miARN conocidos.

La micromatriz puede fabricarse utilizando técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, los oligonucleótidos sonda de una longitud apropiada, por ejemplo, 40 nucleótidos, se modifican en 5'-amino en la posición C6 y se imprimen utilizando los sistemas de micromatrices disponibles en el mercado, por ejemplo el GeneMachine OmniGrid™ 100 Microarrayer y portaobjetos activados Amersham CodeLink™. El oligómero ADNc marcado correspondiente a los

ARN diana se prepara por transcripción inversa del ARN diana con el cebador marcado. Después de la síntesis de la primera cadena, los híbridos ARN/ADN se desnaturalizan para degradar las matrices. Los ADNc marcados preparados de esta manera se hibridan con el chip de la micromatriz bajo condiciones de hibridación, por ejemplo SSPE 6X /formamida al 30 % a 25° C durante 18 horas y a continuación lavándolo con TNT 0,75x a 37° C durante 40 minutos. La hibridación se produce en las posiciones de la matriz en las que la sonda ADN inmovilizada reconoce un ADNc diana complementario de la muestra. El ADNc diana marcado marca la posición exacta en la matriz donde se produce la unión, permitiendo la detección automática y la cuantificación. El resultado consiste en una lista de acontecimientos de hibridación, indicando la abundancia relativa de las secuencias específicas de ADNc y por tanto la abundancia relativa de los correspondientes miR complementarios, en la muestra del paciente. De acuerdo con una realización, el oligómero ADNc marcado es un ADNc marcado con biotina, preparado a partir de un cebador marcado con biotina. La micromatriz se procesa entonces por detección directa de los transcritos que contienen biotina utilizando, por ejemplo, Streptavidina-Alexa647 conjugada y seleccionada utilizando los métodos de selección convencionales. Las intensidades de las imágenes de cada mancha en la matriz son proporcionales a la abundancia del correspondiente miR en la muestra del paciente.

El uso de la matriz tiene varias ventajas en la detección de la expresión de miARN. En primer lugar, se puede identificar la expresión global de varios cientos de genes en la misma muestra a la vez. En segundo lugar, con el diseño cuidadoso de los oligonucleótidos sonda, se pueden identificar tanto las moléculas precursoras como las maduras. En tercer lugar, comparado con el análisis de transferencia de Northern, el chip necesita una pequeña cantidad de ARN y proporciona resultados reproducibles utilizando 2,5 mg de ARN en total. El número relativamente limitado de miARN (unos pocos cientos por especie) permite la construcción de una micromatriz común para varias especies, con oligonucleótidos sonda distintivos de cada una. Tal herramienta permitiría analizar la expresión transespecífica para cada miR conocido bajo distintas condiciones.

Además de usarse para los ensayos cuantitativos del nivel de expresión de miR específicos, un microchip que contenga oligonucleótidos sonda específicos de miARN que se correspondan con una parte sustancial de miRNoma, preferentemente el miRNoma entero, se puede emplear para llevar a cabo el perfil de expresión génica de miR, por el análisis de los patrones de expresión de miR. Las distintas firmas de miR se pueden asociar con marcadores establecidos de enfermedades o directamente con un estado de enfermedad.

De acuerdo con los métodos de creación del perfil de expresión descritos en el presente documento, el ARN total de una muestra de un sujeto sospechoso de tener un cáncer (por ejemplo, un cáncer de pulmón) se transcribe inversamente de manera cuantitativa para proporcionar una serie de oligodesoxinucleótidos diana marcados, complementarios del ARN de la muestra. Los oligodesoxinucleótidos diana entonces se hibridan con una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para proporcionar un perfil de hibridación de la muestra. El resultado es un perfil de hibridación de la muestra que representa el patrón de expresión del miARN de 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 de la micromatriz. El perfil se puede registrar como presencia o ausencia de señal (señal contra cero señal). Más preferentemente, el perfil registrado incluye la intensidad de la señal de cada hibridación. El perfil se compara con el perfil de hibridación generado a partir de una muestra normal, por ejemplo no cancerosa, de control. Una alteración en la señal es indicativa de la presencia de cáncer o la propensión a desarrollar un cáncer en el sujeto.

Otras técnicas para la medición de la expresión génica de miR están dentro de la experiencia de la técnica y se incluyen distintas técnicas para medir tasas de transcripción y degradación del ARN.

La presente invención proporciona métodos para determinar el pronóstico de un sujeto con cáncer de pulmón, que comprenden la medición del nivel de productos génicos de miR, asociándose dichos productos génicos de miR con un pronóstico adverso en el cáncer de pulmón en la muestra de ensayo de un sujeto. Según estos métodos, una alteración en el nivel de los productos génicos de miR que se asocian con un pronóstico adverso, en la muestra de ensayo, al compararse con el nivel de los correspondientes productos génicos de miR en una muestra control, es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer de pulmón con un pronóstico adverso. El cáncer de pulmón es un adenocarcinoma de pulmón y los productos génicos de miR consisten en miR-155 y let-7a-2. Los ejemplos de un pronóstico adverso incluyen, sin limitación, baja tasa de supervivencia y progresión rápida de la enfermedad. En ciertas realizaciones, los productos génicos de miR asociados con un pronóstico adverso son un grupo de productos génicos de miR que consiste en miR-155, miR-17-3p, miR-106a, miR-93, let-7a-2, miR-145, let-7b, miR-20 y miR-21. En ciertas realizaciones, el nivel del al menos un producto génico de miR se mide haciendo la transcripción inversa del ARN de una muestra de ensayo obtenida de un sujeto para proporcionar una serie de oligodesoxinucleótidos diana, hibridando los oligodesoxinucleótidos diana con una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para proporcionar un perfil de hibridación de la muestra de ensayo y comparando el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con el perfil de hibridación generado a partir de una muestra control.

Sin desear quedar ligados por teoría alguna, se cree que las alteraciones en el nivel de uno o más productos génicos de miR en las células pueden dar lugar a la desregulación de una o más posibles dianas de estos miR, lo que conduce a la formación del cáncer de pulmón. Por tanto, alterando el nivel del producto génico de miR (por ejemplo disminuyendo el nivel de un miR que está regulado positivamente en las células del cáncer de pulmón, aumentando

el nivel de un miR que está regulado negativamente en las células del cáncer de pulmón) se puede tratar con éxito el cáncer de pulmón.

En consecuencia, la presente divulgación engloba métodos para tratar el cáncer de pulmón en un sujeto, en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado negativamente, regulado positivamente) en las células (por ejemplo, células del cáncer de pulmón) del sujeto. En una divulgación, el nivel de al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo (por ejemplo, una muestra de cáncer de pulmón) es mayor que el nivel del correspondiente producto génico de miR en una muestra control. En otra divulgación, el nivel de al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo (por ejemplo, una muestra de cáncer de pulmón) es menor que el nivel del correspondiente producto génico en una muestra control. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado negativamente en las células del cáncer de pulmón, el método comprende la administración de una cantidad eficaz del al menos un producto génico de miR aislado o una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del mismo, de forma que se inhiba la proliferación de las células del cáncer en el sujeto. Por ejemplo, cuando un producto génico de miR está regulado negativamente en una célula cancerígena de un sujeto, la administración de una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado al sujeto puede inhibir la proliferación de las células cancerígenas. El producto génico de miR aislado que se administra al sujeto puede ser idéntico al producto génico silvestre endógeno de miR (por ejemplo, un producto génico de miR mostrado en la Tabla 1a o la Tabla 1b) que está regulado negativamente en la célula cancerígena o puede ser una variante o un fragmento biológicamente activo del mismo. Como se define en el presente documento, una "variante" de un producto génico de miR se refiere a un miARN que tiene menos del 100 % de identidad con el correspondiente producto génico silvestre de miR y posee una o más actividades biológicas del correspondiente producto génico silvestre de miR. Ejemplos de tales actividades biológicas incluyen, pero sin limitación, la inhibición de la expresión de una 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) y la inhibición de un proceso celular asociado con el cáncer de pulmón (por ejemplo, diferenciación celular, crecimiento celular, muerte celular). Estas variantes incluyen variantes de especie y variantes que son la consecuencia de una o más mutaciones (por ejemplo, una sustitución, una delección, una inserción) en un gen miR. En ciertas divulgaciones, la variante es idéntica en al menos aproximadamente el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % o el 99 % a un correspondiente producto génico silvestre de miR.

Como se define en el presente documento, 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 del correspondiente producto génico silvestre de miR. Como se ha descrito anteriormente, los ejemplos de tales actividades biológicas incluyen, pero sin limitación, la inhibición de la expresión de una molécula de ARN diana y la inhibición del proceso celular asociado con cáncer de pulmón. En ciertas divulgaciones, el fragmento biológicamente activo tiene al menos una longitud de aproximadamente 5, 7, 10, 12, 15 o 17 nucleótidos. En una divulgación particular, un producto génico de miR aislado se puede administrar a un sujeto en combinación con uno o más tratamientos anticáncer adicionales. Los tratamientos anticáncer adecuados incluyen, pero sin limitación, quimioterapia, radioterapia y combinaciones de las mismas (por ejemplo quimiorradiación).

Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado positivamente en las células cancerígenas, el método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto que inhiba la expresión del al menos un producto génico de miR, de forma que se inhiba la proliferación de las células del cáncer de pulmón. Se hace referencia a tales compuestos en el presente documento como compuestos inhibidores de la expresión génica de miR. Ejemplos de compuestos inhibidores de la expresión génica de miR incluyen, pero sin limitación, los descritos en el presente documento (por ejemplo, ARN de doble cadena, ácidos nucleicos antisentido y moléculas enzimáticas de ARN). En una divulgación particular, un compuesto inhibidor de la expresión génica de miR se puede administrar a un sujeto en combinación con uno o más tratamientos anticáncer adicionales. Los tratamientos anticáncer adecuados incluyen, pero sin limitación, quimioterapia, radioterapia y la combinación de las mismas (por ejemplo, quimiorradiación).

En cierta divulgación, el producto génico de miR aislado que está desregulado en el cáncer de pulmón se selecciona entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-192-prec, miR-224, miR-126, miR-24-2, miR-30a-5p, miR-212, miR-140, miR-9, miR-214, miR-17-3p, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216-prec, miR-219-1, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-125a-prec, miR-26a-1-prec, miR-146, miR-203, miR-199b-prec, let-7a-2-prec, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c-prec, miR-150, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125a y let-7f-1. En una divulgación particular, el al menos un producto génico de miR se selecciona entre el grupo que consiste en miR-21, miR-205 y miR-216. En otra divulgación, el cáncer de pulmón es un adenocarcinoma de pulmón y el al menos un producto génico de miR se selecciona entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-155, miR-210, miR-126* y miR-224.

En una divulgación en particular, el producto génico de miR no es uno o más de let7a-2, let-7c, let-7g, let-7i, miR-7-2, miR-7-3, miR-9, miR-9-1, miR-10a, miR-15a, miR-15b, miR-16-1, miR-16-2, miR-17-5p, miR-20a, miR-21, miR-24-1, miR-24-2, miR-25, miR-29b-2, miR-30, miR-30a-5p, miR-30c, miR-30d, miR-31, miR-32, miR-34, miR-34a, miR-34a-prec, miR-34a-1, miR-34a-2, miR-92-2, miR-96, miR-99a, miR-99b prec, miR-100, miR-103, miR-106a, miR-107, miR-123, miR-124a-1, miR-125b-1, miR-125b-2, miR-126*, miR-127, miR-128b, miR-129, miR-129-1/2 prec, miR-

132, miR-135-1, miR-136, miR-137, miR-141, miR-142-as, miR-143, miR-146, miR-148, miR-149, miR-153, miR-155, miR-159-1, miR-181, miR-181b-1, miR-182, miR-186, miR-191, miR-192, miR-195, miR-196-1, miR-196-1 prec, miR-196-2, miR-199a-1, miR-199a-2, miR-199b, miR-200b, miR-202, miR-203, miR-204, miR-205, miR-210, miR-211, miR-212, miR-214, miR-215, miR-217, miR-221 y/o miR-223.

Los términos “tratar”, “tratando” y “tratamiento”, como se utilizan en el presente documento, se refieren a la mejoría de los síntomas asociados con una enfermedad o afección, por ejemplo, el cáncer de pulmón, incluyendo la prevención o el retraso de la aparición de los síntomas de la enfermedad, y/o la disminución de la gravedad o la frecuencia de los síntomas de la enfermedad o afección. Los términos “sujeto” e “individuo” se definen en el presente documento para incluir animales, tales como mamíferos, incluyendo, pero sin limitación, primates, vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, cobayas, ratas, ratones u otras especies de bovinos, ovinos, equinos, caninos, felinos, roedores o murinos. En una divulgación preferida, el animal es un ser humano.

Como se utiliza en el presente documento, una “cantidad eficaz” de un producto génico de miR aislado es una cantidad suficiente para inhibir la proliferación de una célula cancerígena en un sujeto que padece cáncer de pulmón. Un experto en la técnica puede rápidamente determinar una cantidad eficaz de un producto génico de miR para administrarla a un determinado sujeto, teniendo en cuenta factores tales como el tamaño y el peso del sujeto; el grado de penetración de la enfermedad; la edad, salud y sexo del sujeto; la vía de administración; y si la administración es regional o sistémica.

Por ejemplo, una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado se puede basar en el peso aproximado de la masa tumoral que se tiene que tratar. El peso aproximado de una masa tumoral se puede determinar calculando el volumen aproximado de la masa, en la que un centímetro cúbico es equivalente más o menos a un gramo. Una cantidad eficaz del producto génico de miR aislado basándose en el peso de la masa tumoral puede estar en el intervalo de aproximadamente 10-500 microgramos/gramo de masa tumoral. En ciertas divulgaciones, la cantidad eficaz 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 de 100 microgramos/gramo de masa tumoral.

Una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado también se puede basar en el peso corporal aproximado o estimado del sujeto que se tiene que tratar. Preferentemente, tales cantidades eficaces se administran parenteral o entéricamente, como se describe en el presente documento. Por ejemplo, una cantidad eficaz del producto génico de miR aislado que se administra a un sujeto puede variar de aproximadamente 5 – 3000 microgramos/kg de peso corporal, de aproximadamente 700 – 1000 microgramos/kg de peso corporal o aproximadamente más de 1000 microgramos/kg de peso corporal.

Un experto en la técnica también puede determinar fácilmente un régimen de dosificación apropiado para la administración de un producto génico de miR aislado a un determinado sujeto. Por ejemplo, un producto génico de miR se puede administrar al sujeto una vez (por ejemplo como inyección única o de depósito). De manera alternativa, un producto génico de miR se puede administrar 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, un producto génico de miR se administra 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 del producto génico administrado durante el régimen de dosificación completo.

Como se utiliza en el presente documento, un producto génico de miR “aislado” es uno que se sintetiza o se altera o se extrae de su estado natural por medio de la intervención humana. Por ejemplo, un producto génico de miR sintético o un producto génico de miR separado parcial o completamente de los materiales con los que coexiste en su estado natural, se considera que está “aislado”. Un producto génico de miR aislado puede existir en una forma sustancialmente purificada o puede existir en una célula a la que se le ha suministrado el producto génico de miR. Por tanto, un producto génico de miR que se ha suministrado deliberadamente a o se ha expresado en, una célula, se considera un producto génico de miR “aislado”. Un producto génico de miR producido dentro de una célula a partir de una molécula precursora de un miR también se considera que es una molécula “aislada”. Según la presente divulgación, los productos génicos de miR aislados descritos en el presente documento se pueden utilizar para la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer de pulmón en un sujeto (por ejemplo, un ser humano).

Los productos génicos de miR aislados se pueden obtener utilizando varias técnicas de referencia. Por ejemplo, los productos génicos de miR se pueden sintetizar químicamente o producirse de forma recombinante utilizando métodos conocidos en la técnica. En una divulgación, los productos génicos de miR se sintetizan químicamente utilizando fosforamiditas de nucleósido protegidas apropiadamente y un sintetizador convencional de ADN/ARN. Se incluyen entre los proveedores comerciales de moléculas sintéticas de ARN o reactivos de síntesis, por ejemplo, Proligo (Hamburgo, Alemania), Dharmacon Research (Lafayette, CO, U.S.A.), Pierce Chemical (parte de Perbio Science, Rockford, IL, U.S.A.), Glen Research (Sterling, VA, U.S.A.), ChemGenes (Ashland, MA, U.S.A.) y Cruachem (Glasgow, RU).

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

Los productos génicos de miR que se expresan a partir de plásmidos recombinantes se pueden aislar de sistemas de expresión de cultivos celulares por técnicas de referencia. Los productos génicos de miR que se expresan de los plásmidos recombinantes también pueden suministrarse a y expresarse directamente en las células cancerosas. El uso de plásmidos recombinantes para suministrar los productos génicos de miR a las células cancerosas se trata con más detalle posteriormente.

Los productos génicos se pueden expresar de un plásmido recombinante aparte o se pueden expresar del mismo plásmido recombinante. En una divulgación, los productos génicos de miR se expresan como moléculas precursoras de ARN a partir de un único plásmido y las moléculas precursoras se procesan para producir el producto génico de miR funcional por medio de un sistema de procesamiento adecuado, incluyendo, pero sin limitación, los restantes sistemas de procesamiento que existen en una célula cancerígena. Otros sistemas de procesamiento adecuados incluyen, por ejemplo, el sistema de lisado celular de *Drosófila in vitro* (por ejemplo, como el descrito en la Solicitud de Patente de Estados Unidos publicada N° 2002/0086356 a Tuschi y col.) y el sistema ARNasa III de *E.coli* (por ejemplo, como el que se describe en la Solicitud de Patente de Estados Unidos publicada N° 2004/0014113 a Yang y col.).

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

En una divulgación, un plásmido que expresa los productos génicos de miR comprende una secuencia que codifica un ARN precursor de miR bajo el control del promotor temprano intermedio del CMV. Como se utiliza en el presente documento, "bajo el control" de un promotor significa que las secuencias del ácido nucleico que codifican el producto génico de miR están localizados en el 3' del promotor, de forma que el promotor puede iniciar la transcripción de las secuencias codificantes del producto génico de miR.

Los productos génicos de miR también se pueden expresar a partir de vectores virales recombinantes. Se considera que los productos génicos de miR se pueden expresar a partir de dos vectores virales recombinantes separados o a partir del mismo vector viral. El ARN expresado a partir de vectores virales recombinantes puede aislarse de sistemas de expresión de cultivos celulares por técnicas de referencia o puede expresarse directamente en las células cancerosas. El uso de vectores virales recombinantes para suministrar los productos génicos de miR a las células cancerosas se trata con mayor detalle posteriormente.

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

Se puede utilizar cualquier vector viral capaz de aceptar las secuencias codificantes para los productos génicos de miR; por ejemplo, vectores que derivan de adenovirus (AV); adenovirus asociados (AAV); retrovirus (por ejemplo, lentivirus (LV), rabdovirus, virus de leucemia murina); herpesvirus y similares. El tropismo de los vectores virales se puede modificar seudotipando los vectores con envueltas de proteínas u otros antígenos de superficie de otros virus o sustituyendo diferentes proteínas de la cápside vírica, según sea apropiado.

Por ejemplo, los vectores lentivirales de la divulgación se pueden seudotipar con proteínas de superficie del virus de la estomatitis vesicular (VSV), rabia, Ébola, Mokola y similares. Los vectores AAV de la divulgación se pueden hacer para dirigirse a diferentes células manipulando los vectores para que expresen diferentes serotipos de proteínas de la cápside. Por ejemplo, un vector AAV que exprese un serotipo 2 de cápside sobre un genoma de serotipo 2 se llama AAV 2/2. Este gen de cápside de serotipo 2 en el vector 2/2 se puede reemplazar por un gen de serotipo 5 de cápside para producir un vector AAV 2/5. Las técnicas para construir vectores AAV que expresen diferentes serotipos de proteínas de la cápside están dentro de la experiencia de la técnica; véase, por ejemplo, Rabinowitz, J.E. y col. (2002), *J. Virol.* 76: 791-801.

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

Son particularmente adecuados los vectores derivados de AV y AAV. Un vector AV adecuado para expresar los productos génicos de miR, un método para construir un vector AV recombinante y un método para suministrar el vector en las células diana, se describen en Xia y col. (2002), *Nat. Biotech.* 20: 1006-1010. Los vectores AAV adecuados para expresar los productos génicos de miR, los métodos para construir el vector AAV recombinante y los métodos para suministrar los vectores en las células diana se describen en Samulski y col. (1987), *J. Virol.* 61: 3096-3101; Fisher y col. (1996), *J. Virol.*, 70: 520-532; Samulski y col. (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 divulgación, los productos génicos de miR se expresan de un vector AAV recombinante único que comprende el promotor temprano intermedio del CMV.

En cierta divulgación, un vector viral AAV recombinante comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un ARN precursor de miR en conexión operativa con una secuencia del extremo poliT bajo el control de un ARN promotor U6 humano. Como se utiliza en el presente documento "en conexión operativa con una secuencia del extremo poliT" significa que las secuencias de ácido nucleico que codifican las cadenas sentido o antisentido están inmediatamente adyacentes a la señal del extremo T en la dirección 5'. Durante la transcripción de las secuencias de miR a partir del vector, el extremo poliT actúa para terminar la transcripción.

En otras divulgaciones de los métodos de tratamiento, se puede administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto inhibidor de la expresión de miR. Como se utiliza en el presente documento, "inhibidor de la expresión de miR" significa que la producción del precursor y/o el producto génico de miR maduro, activo tras el tratamiento es menor que la cantidad producida antes del tratamiento. Un experto en la técnica puede fácilmente determinar si la expresión de miR se ha inhibido en una célula cancerosa, utilizando, por ejemplo, las técnicas para determinar el nivel de transcripción de miR revisadas en el presente documento. La inhibición puede producirse a nivel de la expresión génica (es decir, inhibiendo la transcripción de un gen miR que codifica el producto génico de miR) o a nivel del procesamiento (por ejemplo, inhibiendo el procesamiento de un precursor de miR que da lugar a un miR maduro, activo).

Como se utiliza en el presente documento, una "cantidad eficaz" de un compuesto inhibidor de 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 de pulmón). Un experto en la técnica puede fácilmente determinar una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor de la expresión de un miR que se tiene que administrar a un sujeto determinado, teniendo en cuenta factores tales como el tamaño y el peso del sujeto; el grado de penetración de la enfermedad; la edad, salud y sexo del sujeto; la vía de administración; y si la administración es regional o sistémica.

Por ejemplo, una cantidad eficaz del compuesto inhibidor de la expresión se puede basar en el peso aproximado de la masa tumoral que se tiene que tratar, como se ha descrito en el presente documento. Una cantidad eficaz de un compuesto que inhibe la expresión de miR se puede basar también en el peso corporal aproximado o estimado de un sujeto que se tiene que tratar, como se ha descrito en el presente documento.

Un experto en la técnica también puede determinar fácilmente un régimen de dosificación apropiado para la administración de un compuesto a un sujeto determinado que inhiba la expresión de miR, como se ha descrito en el presente documento. Los compuestos adecuados para inhibir la expresión del gen miR incluyen el ARN de cadena doble (tal como el ARN corto o pequeño interferente o "ARNsi"), los ácidos nucleicos antisentido y las moléculas enzimáticas de ARN, tales como las ribozimas. Cada uno de estos compuestos se puede dirigir a un determinado producto génico de miR e interfiere con la expresión (por ejemplo, inhibiendo la traducción, induciendo la escisión y/o la degradación) del producto génico de miR diana.

Por ejemplo, la expresión de un determinado gen miR se puede inhibir induciendo la interferencia de ARN del gen miR con una molécula aislada de ARN de doble cadena (ARNds) que tiene al menos el 90 %, por ejemplo al menos el 95 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %, de homología de secuencia con al menos una parte del producto génico de miR. En una divulgación en particular, la molécula de ARNds es un "ARN corto o pequeño interferente" o "ARNsi".

El ARNsi útil en los métodos presentes comprende un ARN corto de doble cadena con una longitud aproximada de 17 nucleótidos a aproximadamente 29 nucleótidos, preferentemente una longitud de aproximadamente 19 a aproximadamente 25 nucleótidos. El ARNsi comprende una cadena ARN sentido y una cadena de ARN antisentido complementaria hibridadas juntas por las interacciones de emparejamiento de bases de referencia de Watson-Crick (en lo sucesivo en la presente memoria "emparejamiento de bases"). La cadena sentido comprende una secuencia de ácido nucleico que es sustancialmente idéntica a la secuencia de ácido nucleico que está contenida en el producto génico de miR diana.

Como se utiliza en el presente documento, una secuencia de ácido nucleico en un ARNsi que es “sustancialmente idéntica” a una secuencia diana que está contenida en el miARN diana, es una secuencia de ácido nucleico que es idéntica a la secuencia diana o que se diferencia de la secuencia diana por uno o dos nucleótidos. Las cadenas de ARNsi sentido y antisentido pueden comprender dos moléculas complementarias de ARN de cadena única o comprender una única molécula en la que dos partes complementarias están emparejadas y unidas covalentemente por un área “horquilla” de una cadena única.

El ARNsi también puede ser un ARN alterado, que difiere del ARN que se produce naturalmente, por adición, delección, sustitución y/o alteración de uno o más nucleótidos. Tales alteraciones pueden incluir la adición de material no nucleotídico, tal como el de los extremos del ARNsi o de uno o más nucleótidos internos del ARNsi o modificaciones que hacen que el ARNsi sea resistente a la digestión por nucleasas o la sustitución de uno o más nucleótidos en el ARNsi por desoxirribonucleótidos.

Una o ambas cadenas del ARNsi pueden comprender también un saliente 3'. Como se utiliza en el presente documento, un “saliente 3'” se refiere a al menos un nucleótido no emparejado que se extiende desde el extremo 3' de una cadena de ARN duplicada. Por eso, en ciertas divulgaciones, el ARNsi comprende al menos un saliente 3' de una longitud de 1 a aproximadamente 6 nucleótidos (que incluyen ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos), de una longitud de 1 a aproximadamente 5 nucleótidos, de una longitud de 1 a aproximadamente 4 nucleótidos o de una longitud de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 nucleótidos. En una divulgación en particular, el saliente 3' está presente en ambas cadenas del ARNsi y tiene una longitud de 2 nucleótidos. Por ejemplo cada cadena del ARNsi puede comprender salientes 3' de ácido ditimidílico (“TT”) o ácido diuridílico (“uu”).

El ARNsi se puede producir química o biológicamente o se puede expresar a partir de un plásmido recombinante o un vector viral, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR aislados. Los métodos ilustrativos para producir y ensayar las moléculas de ARNs o ARNsi se describen en la Solicitud de Patente de Estados Unidos publicada N° 2002/0173478 a Gewirtz y en la Solicitud de Patente de Estados Unidos publicada N° 2004/0018176 a Reich y col.

La expresión de un determinado gen miR también se puede inhibir por un ácido nucleico antisentido. Como se utiliza en el presente documento, un “ácido nucleico antisentido” se refiere a una molécula de ácido nucleico que se une al ARN diana por medio de interacciones de ácidos nucleicos ARN-ARN, ARN-ADN o ARN-péptido, que alteran la actividad del ARN diana. Los ácidos nucleicos antisentido adecuados para su uso en los presentes métodos son ácidos nucleicos de cadena única (por ejemplo, ARN, ADN, quimeras ARN-ADN, ácidos nucleicos peptídicos (PNA)) que generalmente comprenden una secuencia de ácido nucleico complementaria con una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de un miR. El ácido nucleico antisentido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que tiene una complementariedad del 50 al 100 %, el 75-100 % de complementariedad o el 95-100 % de complementariedad con una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. Las secuencias de ácido nucleico de particulares productos génicos de miR humanos se proporcionan en la Tabla 1a y en la Tabla 1b. Sin desear quedar ligados por teoría alguna, se cree que los ácidos nucleicos antisentido activan la ARNasa H u otra nucleasa celular que digiere el dúplex producto génico de miR/ácido nucleico antisentido.

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

Los ácidos nucleicos antisentido se pueden producir química o biológicamente o pueden expresarse a partir de un plásmido recombinante o un vector viral, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR aislado. Los métodos ilustrativos para producirlos y ensayarlos están en la experiencia de la técnica, véase, por ejemplo, Stein y Cheng (1993), Science 261: 1004 y la Patente de Estados Unidos N° 5.849.902 de Woolf y col.

La expresión de un determinado gen miR también se puede inhibir por un ácido nucleico enzimático. Como se utiliza en el presente documento, un “ácido nucleico enzimático” se refiere a un ácido nucleico que comprende una región de unión al 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 del ácido nucleico enzimático puede ser, por ejemplo, complementaria en un 50-100 %, complementaria en un 75-100 % o complementaria en un 95-100 % con una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. Los ácidos nucleicos enzimáticos también pueden comprender modificaciones en la base, azúcar, y/o grupos fosfato. Un ácido nucleico enzimático ejemplar para su uso en los presentes métodos es una ribozima.

Los ácidos nucleicos enzimáticos se pueden producir química o biológicamente o se pueden expresar a partir de un plásmido recombinante o un vector viral, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR aislados. Los métodos ilustrativos para producir y ensayar moléculas de ARNs o ARNsi se describen en Wemer and Uhlenbeck (1995), Nucl. Acids Res. 23: 2092-96; Hammann y col. (1999), Antisense and Nucleic Acid Drug Dev. 9: 25-3 1; y Patente de Estados Unidos N° 4.987.071 de Cech y col.

- 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 las células cancerosas en un sujeto que tenga un cáncer (por ejemplo, un cáncer de pulmón). Como se utiliza en el presente documento, "inhibir la proliferación de una célula cancerosa" significa matar la célula o arrestarla temporal o permanentemente o ralentizar el crecimiento de la célula. La inhibición de la proliferación celular del cáncer se puede inferir si el número de tales células en el sujeto permanece constante o disminuye tras la administración de los productos génicos de miR o de los compuestos inhibidores de la expresión génica de miR. Una inhibición de la proliferación celular del cáncer también se puede inferir si el número absoluto de tales células aumenta, pero la tasa de crecimiento del tumor disminuye.
- El número de células cancerosas en el cuerpo de un sujeto se puede determinar por medición directa o por estimación a partir del tamaño de las masas tumorales primaria o metastásica. Por ejemplo, el número de células en un sujeto se puede medir por métodos inmunohistológicos, citometría de flujo, u otras técnicas diseñadas para detectar los marcadores de superficie característicos de las células cancerosas.
- El tamaño de una masa tumoral puede determinarse por observación visual directa o por métodos de diagnóstico por imagen, tales como rayos X, imágenes de resonancia magnética, ultrasonidos y centellografía. Los métodos de diagnóstico por imagen que se usan para determinar el tamaño de una masa tumoral se pueden utilizar 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 del tejido de la masa o medición del tejido de la masa con un instrumento de medida, tal como un calibre.
- Los productos génicos de miR o los compuestos inhibidores de la expresión génica de miR se pueden administrar a un sujeto por cualquier medio adecuado para suministrar estos compuestos a las células cancerosas del sujeto. Por ejemplo, los productos génicos de miR o los compuestos inhibidores de la expresión de miR se pueden administrar por métodos adecuados para transfectar células del sujeto con estos compuestos o con ácidos nucleicos que comprenden secuencias que codifican estos compuestos. En una divulgación, las células se transfectan con un plásmido o un vector viral que comprenden secuencias que codifican al menos un producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica el miR.
- Los métodos de transfección para células eucariotas se conocen bien en la técnica, e incluyen, por ejemplo, la inyección directa del ácido nucleico en el núcleo o pronúcleo de una célula; la electroporación; la transferencia por liposomas o la transferencia mediada por materiales lipófilos; el suministro de ácido nucleico mediado por receptor, biobalística o aceleración de partículas; precipitación en fosfato cálcico y la transfección mediada por vectores virales.
- Por ejemplo, las células pueden transfectarse con un compuesto de transferencia liposómico, por ejemplo, DOTAP (N-[1-(2,3-dioleoiloxi) propil]-N, N, N-trimetil-amonio metilsulfato, Boehringer-Mannheim) o un equivalente, tal como la LIPOFECTINA. La cantidad de ácido nucleico utilizado no es crítica para la práctica de la divulgación; se pueden alcanzar resultados aceptables con 0,1-100 microgramos de ácido nucleico/10⁵ células. Por ejemplo, se puede utilizar una relación de aproximadamente 0,5 microgramos de vector plásmido en 3 microgramos de DOTAP por 10⁵ células.
- Un producto génico de miR o el compuesto inhibidor de la expresión génica de miR también se pueden administrar a un sujeto por cualquier vía de administración adecuada entérica o parenteral. Las vías adecuadas de administración entérica para los presentes métodos incluyen, por ejemplo, el suministro oral, rectal o intranasal. Las vías de administración parenteral adecuadas incluyen, por ejemplo, la administración intravascular (por ejemplo, la inyección intravenosa en bolo, la infusión intravenosa, la inyección intra-arterial en bolo, la infusión intra-arterial y la instilación por catéter en el sistema vascular); la inyección peri e intratisular (por ejemplo, la inyección peri-tumoral e intra-tumoral, la inyección intrarretiniana o la inyección subretiniana); la inyección subcutánea o de depósito, incluyendo la infusión subcutánea (tal como las bombas osmóticas); la aplicación directa sobre el tejido de interés, por ejemplo por medio de un catéter u otro dispositivo de aplicación (por ejemplo, un microgránulo retiniano o un supositorio o un implante que comprenda un material poroso, no poroso o gelatinoso); y por inhalación. Las vías de administración particularmente adecuadas son la inyección, la infusión y la inyección directa en el tumor.
- En los presentes métodos, un producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica de un miR se puede administrar al sujeto o bien como ARN desnudo, en combinación con un reactivo de suministro o bien como un ácido nucleico (por ejemplo, un plásmido recombinante o un vector viral) que comprendan secuencias que expresan el producto génico de miR o el compuesto inhibidor de la expresión génica de miR. Los reactivos de suministro adecuados incluyen, por ejemplo, el reactivo lipófilo Mirus Transit TKO; LIPOFECTINA; lipofectamina; cellfectina; policationes (por ejemplo, la polilisina) y liposomas.
- Los plásmidos recombinantes y los vectores virales comprenden secuencias que expresan los productos génicos de miR o los compuestos inhibidores de la expresión génica el miR y las técnicas para suministrar tales plásmidos y vectores a las células cancerosas, se tratan en el presente documento y/o son bien conocidas en la técnica.

En una divulgación particular, se utilizan liposomas para suministrar el producto génico de miR o el compuesto inhibidor de la expresión génica de miR (o ácidos nucleicos que comprenden secuencias que los codifican) a un sujeto. Los liposomas también pueden aumentar la vida media sanguínea de los productos génicos o los ácidos nucleicos. Los liposomas adecuados para su uso en la divulgación se pueden formar a partir de los lípidos formadores de vesículas de referencia, que generalmente incluyen fosfolípidos cargados negativamente o neutros y un esteroles, tal como el colesterol. La selección de los lípidos está guiada generalmente por la consideración de ciertos factores, tales como el tamaño deseado del liposoma y la vida media de los liposomas en la corriente sanguínea. Se conoce varios métodos para preparar liposomas, por ejemplo, los que se describen en Szoka y col. (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 dirija el liposoma a las células cancerosas. Se prefieren los ligandos que se unen a los receptores prevalentes en las células cancerosas, tales como los anticuerpos monoclonales que se unen a los antígenos celulares del tumor.

Los liposomas para su uso en los presentes métodos también se pueden modificar de forma que eviten su eliminación por el sistema mononuclear fagocitario ("MMS") y el sistema reticuloendotelial ("RES"). Tales liposomas modificados tienen restos inhibidores de la opsonización sobre la superficie o incorporados en la estructura del liposoma. En una divulgación particularmente preferida, un liposoma puede comprender un resto inhibidor de la opsonización y un ligando.

Los restos inhibidores de la opsonización para su uso en la preparación de los liposomas desvelados son normalmente grandes polímeros hidrófilos que se unen a la membrana del liposoma. Como se utiliza en el presente documento, un resto inhibidor de la opsonización se "une" a la membrana de un liposoma cuando se fija química o físicamente a la membrana, por ejemplo, por intercalación de un ancla liposoluble en la misma membrana o uniéndose directamente a grupos activos de los lípidos de la membrana. Estos polímeros hidrófilos inhibidores de la opsonización forman una capa de superficie protectora que disminuye 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 la opsonización adecuados para modificar los liposomas son preferentemente polímeros solubles en agua con un peso molecular medio de aproximadamente 500 a aproximadamente 40.000 Dalton y más preferentemente de aproximadamente 2.000 a aproximadamente 20.000 Dalton. Tales polímeros incluyen el polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol (PPG) o derivados de los mismos; 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, alcohol polivinílico y polixilitol a los que se unen químicamente los grupos amino o carboxílico, así como gangliósidos, tales como el gangliósido GM1. También son adecuados los copolímeros de PEG, metoxiPEG o metoxiPPG o derivados de los mismos. Además, el polímero inhibidor de la opsonización puede ser un copolímero de bloque de PEG y o un poliaminoácido, polisacárido, poliamidoamina, polietilenamina o polinucleótido. Los polímeros inhibidores de la opsonización también pueden ser polisacáridos naturales que contengan aminoácidos o ácidos carboxílicos, por ejemplo, ácido galacturónico, ácido glucurónico, ácido manurónico, ácido hialurónico, ácido péctico, ácido neuramínico, ácido algínico, carragenano; polisacáridos u oligosacáridos aminados (lineales o ramificados); o polisacáridos u oligosacáridos carboxilados, por ejemplo, que reaccionan con derivados de ácidos carbónicos con el resultado de unión de grupos carboxílicos. Preferentemente, el resto inhibidor de la opsonización es un PEG, PPG o un derivado de los mismos. Los liposomas modificados con PEG o derivados del PEG se llaman a veces "liposomas PEGilados".

El resto inhibidor de la opsonización se puede unir a la membrana del liposoma por cualquiera de las numerosas técnicas que son bien conocidas. Por ejemplo, un N-hidroxisuccinimida éster de PEG puede unirse a un ancla liposoluble fosfatidil-etanolamina y después se unen a la membrana. De manera similar, se puede derivar un polímero de dextrano con un ancla liposoluble estearilamina por medio de aminación reductiva utilizando Na (CN) BH3 y una mezcla disolvente, tal como tetrahidrofurano y agua en una relación de 30:12 a 60 °C.

Los liposomas modificados con restos inhibidores de la opsonización permanecen en la circulación mucho más tiempo que los liposomas que no están modificados. Por esta razón, tales liposomas a veces se denominan liposomas "furtivos". Los liposomas furtivos se conocen por acumularse en los tejidos irrigados por un sistema microvascular poroso o "permeable". Por tanto, el tejido que se caracteriza por esos defectos en el sistema microvascular, como por ejemplo, los tumores sólidos (por ejemplo, los cánceres de pulmón), acumularán eficazmente estos liposomas; véase Gabizon y col. (1988), Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 18: 6949-53. Además, su reducida captación por el RES disminuye la toxicidad de los liposomas furtivos previniendo significativamente la acumulación de los liposomas en el hígado y el bazo. Por tanto, los liposomas que se han modificado con restos inhibidores de la opsonización son particularmente adecuados para suministrar los productos génicos de miR o los compuestos inhibidores de la expresión génica de miR (o los ácidos nucleicos que comprenden secuencias que los codifican) a las células tumorales.

Los productos génicos de miR o los compuestos inhibidores de la expresión génica de miR se pueden formular como composiciones farmacéuticas, a veces llamadas "medicamentos", antes de administrarlos a un sujeto, según las

técnicas conocidas en la técnica. En consecuencia, la divulgación engloba composiciones farmacéuticas para tratar el cáncer de pulmón. En una divulgación, la composición farmacéutica comprende al menos un producto génico de miR aislado o una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una divulgación particular, el al menos un producto génico de miR se corresponde con un producto génico de miR que tiene un nivel de expresión disminuido en las células del cáncer de pulmón con respecto a las células de control adecuadas. En ciertas divulgaciones el producto génico de miR se selecciona entre el grupo que consiste en miR-126*, miR-192, miR-224, miR-126, miR-30a-5p, miR-140, miR-9, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216, miR-219-1, miR-125a, miR-26a-1, miR-199b, let-7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125b-1, let-7f-1 y una combinación de los mismos. En una divulgación, el producto génico de miR aislado no es miR-15a o miR-16-1. En una divulgación adicional, el producto génico de miR no es miR-210 o miR-212. En otra divulgación, el producto génico de miR no es miR-21, miR-143, miR-205 o miR-9. En otra divulgación más, el 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-212 o miR-9.

En otras divulgaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden al menos un compuesto inhibidor de la expresión de miR. En una divulgación particular, el al menos un compuesto inhibidor de la expresión génica de miR es específico para un gen miR cuya expresión es mayor en las células del cáncer de pulmón que en las células de control. En ciertas divulgaciones, el compuesto inhibidor de la expresión génica de miR es específico para uno o más productos génicos de miR seleccionados entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-210, miR-155, miR-205, miR-24-2, miR-212, miR-214, miR-17-3p, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-146, miR-203, miR-150 y una combinación de los mismos. En una divulgación, el producto génico de miR aislado no es específico para miR-15a o miR-16-1. En una divulgación adicional, el producto génico de miR no es específico para miR-210 o miR-212. En otra divulgación, el producto génico de miR no es específico para miR-21, miR-143, miR-205 o miR-9. En otra divulgación más, el producto génico de miR no es específico para 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-212 o miR-9.

Las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se caracterizan por ser al menos estériles y libres de pirógenos. Como se utiliza en el presente documento, las "composiciones farmacéuticas" incluyen las formulaciones para seres humanos y de uso veterinario. Los métodos para preparar las composiciones farmacéuticas desveladas están en la experiencia de la técnica, por ejemplo, como se describen Remington's Pharmaceutical Science, 17ª ed., Mack Publishing Company, Easton, PA. (1985).

Las presentes composiciones farmacéuticas comprenden al menos un producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica el producto génico de miR o el compuesto inhibidor de la expresión génica de miR) (por ejemplo, del 0,1 al 90 % en peso) o una sal fisiológicamente aceptable del mismo, mezclado con un vehículo farmacéuticamente aceptable. En ciertas divulgaciones, la composición farmacéutica comprende adicionalmente uno o más agentes anticáncer (por ejemplo, agentes quimioterapéuticos). Las formulaciones farmacéuticas de la divulgación pueden comprender también al menos un producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprenda secuencias que codifiquen el producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica de miR), que está encapsulado por liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una divulgación, la composición farmacéutica comprende un gen miR o un producto génico que no es de miR-15, miR-16, miR-143 y/o miR-145.

Vehículos farmacéuticamente aceptables especialmente adecuados son el agua, el agua tamponada, la solución salina normal, la solución salina al 0,4 %, la glicina al 0,3 %, el ácido hialurónico y similares.

En una divulgación particular, las composiciones farmacéuticas comprenden al menos un producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica el producto génico de miR o el compuesto inhibidor de la expresión génica de miR) que es resistente a la degradación por nucleasas. Un experto en la técnica puede fácilmente sintetizar ácidos nucleicos que sean resistentes a las nucleasas, por ejemplo incorporando uno o más ribonucleótidos que están modificados en la posición 2' en el producto génico de miR. Los ribonucleótidos modificados en 2' adecuados incluyen aquellos modificados en la posición 2' con fluoro, amino, alquil, alcoxi y O-alil.

Las composiciones farmacéuticas desveladas también pueden comprender excipientes y/o aditivos farmacéuticos convencionales. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen estabilizadores, antioxidantes, agentes para ajustar la osmolalidad, tampones y agentes para ajustar el pH. Los aditivos adecuados incluyen, por ejemplo, tampones fisiológicamente biocompatibles (por ejemplo, hidrócloruro de trometamina), adiciones de quelantes (tales como, por ejemplo, DTPA o DTPA-bisamida) o complejos quelantes del calcio (tales como, por ejemplo, DTPA cálcico o 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 desveladas pueden envasarse para su uso en forma líquida o pueden estar liofilizados.

Para las composiciones farmacéuticas sólidas de la divulgación, se pueden utilizar vehículos farmacéuticamente aceptables, convencionales, sólidos, no tóxicos; por ejemplo, manitol, lactosa, almidón, estearato magnésico, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, sacarosa, carbonato magnésico y similares de calidad farmacéutica.

5 Por ejemplo, una composición farmacéutica sólida para administración oral puede comprender cualquiera de los vehículos y excipientes enumerados anteriormente y el 10-95 %, preferentemente el 25 %-75 % del al menos un producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende una secuencia que los codifica). Una composición farmacéutica para administración por aerosol (vía inhalatoria) puede comprender del 0,01-20 % en peso, preferentemente del 1 %-10 % en peso, del al menos un producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica el producto génico de miR o el compuesto inhibidor de la expresión génica de miR) encapsulado en un liposoma como se ha descrito anteriormente y un propulsor. Se puede incluir también, si se desea, un vehículo; por ejemplo, lecitina para suministro intranasal.

15 Las composiciones farmacéuticas desveladas pueden comprender además uno o más agentes anticáncer. En una divulgación particular, las composiciones comprenden al menos un producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica el producto génico de miR o el compuesto inhibidor de la expresión de miR) y al menos un agente quimioterapéutico. Los agentes quimioterapéuticos que son adecuados para los métodos desvelados incluyen, pero sin limitación, agentes alquilantes de ADN, agentes antibióticos antitumorales, agentes antimetabólicos, agentes estabilizadores de la tubulina, agentes desestabilizantes de la tubulina, agentes antagonistas hormonales, inhibidores de la topoisomerasa, inhibidores de la proteína quinasa, inhibidores de HMG-CoA, inhibidores de la CDK, inhibidores de la ciclina, inhibidores de la caspasa, inhibidores de la metaloproteinasas, ácidos nucleicos antisentido, ADN de triple hélice, aptámeros de ácidos nucleicos y agentes virales, bacterianos o exotóxicos modificados molecularmente. Ejemplos de agentes adecuados para las composiciones incluyen, pero sin limitación, arabinósido de citidina, metotrexato, vincristina, etopósido (VP-20 16), doxorubicina (adriamicina), cisplatino (CDDP), dexametasona, arglabin, ciclofosfamida, sarcolisina, metilnitrosourea, fluorouracilo, 5-fluorouracilo (5FU), vinblastina, camptotecina, actinomicina-D, mitomicina-C, peróxido de hidrógeno, oxaliplatino, irinotecan, topotecan, leucovorín, carmustina, estreptozocina, CPT-11, taxol, tamoxifeno, dacarbacina, rituximab, daunorrubicina, 1-β-D-arabinofuranosilcitosina, imatinib, fludarabina, docetaxel y FOLFOX4.

La divulgación también engloba métodos para identificar un agente anticáncer de pulmón, que comprende 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 divulgación, el método comprende proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico asociado con disminución de los niveles de expresión en las células del cáncer de pulmón. Un aumento del nivel del producto génico de miR en la célula, con respecto a un control adecuado (por ejemplo, el nivel del producto génico de miR en una célula control), es indicativo de que el agente de ensayo es un agente anticáncer de pulmón. En una divulgación particular, el al menos un producto génico de miR asociado con una disminución de los niveles de expresión en las células del cáncer de pulmón se selecciona entre el grupo que consiste en miR-126*, miR-192, miR-224, miR-126, miR-30a-5p, miR-140, miR-9, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216, miR-219-1, miR-125a, miR-26a-1, miR-199b, let-7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125b-1, let-7f-1 y una combinación de los mismos. En una divulgación, el producto génico de miR no es uno o más de let7a-2, let-7c, let-7g, let-7i, miR-7-2, miR-7-3, miR-9, miR-9-1, miR-10a, miR-15a, miR-15b, miR-16-1, miR-16-2, miR-17-5p, miR-20a, miR-21, miR-24-1, miR-24-2, miR-25, miR-29b-2, miR-30, miR-30a-5p, miR-30c, miR-30d, miR-31, miR-32, miR-34, miR-34a, miR-34a prec, miR-34a-1, miR-34a-2, miR-92-2, miR-96, miR-99a, miR-99b prec, miR-100, miR-103, miR-106a, miR-107, miR-123, miR-124a-1, miR-125b-1, miR-125b-2, miR-126*, miR-127, miR-128b, miR-129, miR-129-1/2 prec, miR-132, miR-135-1, miR-136, miR-137, miR-141, miR-142-as, miR-143, miR-146, miR-148, miR-149, miR-153, miR-155, miR 159-1, miR-181, miR-181b-1, miR-182, miR-186, miR-191, miR-192, miR-195, miR-196-1, miR-196-1 prec, miR-196-2, miR-199a-1, miR-199a-2, miR-199b, miR-200b, miR-202, miR-203, miR-204, miR-205, miR-210, miR-211, miR-212, miR-214, miR-215, miR-217, miR-221 y/o miR-223.

En otras divulgaciones 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 un aumento de los niveles de expresión en las células del cáncer de pulmón. Un descenso en el nivel del producto génico de miR en la célula, con respecto a un control adecuado (por ejemplo, el nivel del producto génico de miR en una célula de control), es indicativo de que el agente de ensayo es un agente anticáncer de pulmón. En una divulgación particular, al menos un producto génico de miR asociado con el aumento de los niveles de expresión en las células del cáncer de pulmón se selecciona entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-210, miR-155, miR-205, miR-24-2, miR-212, miR-214, miR-17-3p, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-146, miR-203, miR-150 y una combinación de los mismos. En una divulgación, el producto génico de miR no es uno o más de let7a-2, let-7c, let-7g, let-7i, miR-7-2, miR-7-3, miR-9, miR-9-1, miR-10a, miR-15a, miR-15b, miR-16-1, miR-16-2, miR-17-5p, miR-20a, miR-21, miR-24-1, miR-24-2, miR-25, miR-29b-2, miR-30, miR-30a-5p, miR-30c, miR-30d, miR-31, miR-32, miR-34, miR-34a, miR-34a prec, miR-34a-1, miR-34a-2, miR-92-2, miR-96, miR-99a, miR-99b prec, miR-100, miR-103, miR-106a, miR-107, miR-123, miR-124a-1, miR-125b-1, miR-125b-2, miR-126*, miR-127, miR-128b, miR-129, miR-129-1/2 prec, miR-132, miR-135-1, miR-136, miR-137, miR-141, miR-142-as, miR-143, miR-146, miR-148, miR-149, miR-153, miR-155, miR 159-1, miR-181, miR-181b-1, miR-182, miR-186,

miR-191, miR-192, miR-195, miR-196-1, miR-196-1 prec, miR-196-2, miR-199a-1, miR-199a-2, miR-199b, miR-200b, miR-202, miR-203, miR-204, miR-205, miR-210, miR-211, miR-212, miR-214, miR-215, miR-217, miR-221 y/o miR-223.

5 Los agentes adecuados incluyen, pero sin limitarse, fármacos (por ejemplo, moléculas pequeñas, péptidos) y macromoléculas biológicas (por ejemplo, proteínas, ácidos nucleicos). El agente se puede producir recombinantemente, sintéticamente o puede aislarse (por ejemplo, purificarse) de una fuente natural. Se conocen bien en la técnica varios métodos para proporcionar tales agentes a una célula (por ejemplo, transfección) y varios de tales métodos se han descrito anteriormente en el presente documento. Los métodos para detectar la expresión de al menos un producto génico de miR (por ejemplo, transferencia de Northern, hibridación *in situ*, RT-PCR, perfil de expresión) también son bien conocidos en la técnica. Varios de estos métodos también se han descrito en el presente documento.

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

Ejemplos

Ejemplo 1: Expresión de ARNm alterada en cánceres primarios de pulmón

20 *Materiales y métodos*

Muestras

25 Se utilizaron en este estudio 104 parejas de cánceres primarios de pulmón y sus correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos. Se utilizaron 32 casos adicionales, en los que se podía hacer un seguimiento durante 5 años, como una base de datos de validación independiente. Estos tejidos se obtuvieron entre 1990 y 1999 como especímenes quirúrgicos de pacientes en el área metropolitana de Baltimore, con consentimiento informado y de acuerdo con el Consejo de Revisión Institucional. Los tejidos de cáncer de pulmón se obtuvieron de 65 pacientes con adenocarcinoma de pulmón y 39 pacientes con carcinoma de células escamosas de pulmón. Comprendían el grupo 65 pacientes masculinos y 39 pacientes femeninos, con una edad media de 65 años (intervalo de 38-84). Se clasificaron 65 tumores como de estadio I, 17 como de estadio II y 22 tumores como de estadio III o IV. Para la mayoría de las muestras, estaba disponible la información clínica y biológica. El ARN total de los tejidos se aisló con el Reactivo TRIzol® (Invitrogen), según las instrucciones del fabricante.

35 *Análisis de micromatrices*

El análisis de micromatrices se llevó a cabo como se ha descrito previamente (Liu, C.G. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 9740-9744 (2004)). Resumiendo, 5 µg de ARN total se hibridó con chips de micromatrices miARN que contenían 352 sondas por triplicado. Específicamente, estos chips contenían oligonucleótidos sondas específicas del gen 40-miR, aplicadas por tecnologías de contacto y fijadas covalentemente a una matriz polimérica, que fueron generadas de 161 miARN humanos, 84 miARN de ratón, miARN de otras tres especies y ARNt. Las micromatrices se hibridaron en SSPE 6x (NaCl 0,9 M/ NaH₂PO₄ ·H₂O 60 mM/EDTA 8 mM, pH 7,4)/formamida al 30 % a 25 °C durante 18 h, se lavaron en TNT 0,75x (Tris-HCl/NaCl/Tween 20) a 37 °C durante 40 min y se procesaron utilizando un método de detección directa de transcripciones que contienen biotina con streptavidina-Alexa647 conjugada (Molecular Probes, Carlsbad, CA). Los portaobjetos procesados se exploraron utilizando un Scanner PerkinElmer ScanArray XL5K, con el láser ajustado a 635 nm, a 80 de potencia y 70 de PMT y con una resolución de exploración de 10 µm. Un valor medio de las tres réplicas de las manchas para cada miARN se normalizó y analizó con BRB-Array Tools versión 3.2.3. Después de excluir valores negativos con intensidad de hibridación por debajo del fondo, se llevó a cabo la normalización utilizando un método de normalización per chip sobre la media y normalización para la matriz media como referencia. Finalmente, se seleccionaron 147 miARN con valores logarítmicos congruentes presentes en más del 50 % de las muestras. Los genes que se expresaron de manera diferente entre los grupos se identificaron utilizando el ensayo t o F y los genes se consideraron estadísticamente significativos si su valor de *p* era menor de 0,001. Se llevó a cabo también un ensayo global para ver si los perfiles de expresión eran diferentes entre los grupos, permutando los marcadores de las matrices que correspondían a los grupos. Para cada permutación, los valores de *p* se recalcularon y se apuntó el número de genes significativos al nivel de 0,001. La proporción de las permutaciones que dieron al menos tantos genes significativos como los datos actuales fue el nivel significativo del ensayo global

60 *Análisis de detección de hibridación en solución y análisis RT-PCR en tiempo real*

Los niveles de expresión de los miARN maduros se midieron por detección de hibridación en solución utilizando el Kit de detección *miRvana*TM (Ambion Inc., TX). En resumen, se incubó 1 mg de ARN total con sondas marcadas radiactivamente que correspondían con estos miARN. Después de someterse a digestión para eliminar cualquier sonda que no se hubiera unido al miARN diana, se fraccionaron los productos marcados radiactivamente por desnaturalización por electroforesis en gel de poliacrilamida. Las sondas se prepararon marcando el extremo 5' utilizando polinucleótido quinaso T4 con el kit Probe & Marker de *miRvana*TM (Ambion Inc., TX), según las

instrucciones del fabricante. Se llevó a cabo la PCR cuantitativa en tiempo real como se ha descrito (Schmittgen y col., Nucl. Acids Res. 32: e43 (2004)) sobre un Sistema Aplicado de Detección de Secuencias de Biosistemas, haciéndose todas las reacciones por triplicado. En resumen, el ARN se transcribió inversamente a ADNc con cebadores génicos específicos y ThermoScript y la cantidad relativa de cada miARN con respecto al ARNt, se determinó por medio del iniciador de la metionina, utilizando la ecuación:

$$2^{-dC_T}, \text{ donde } dC_T = (C_{TmiARN} - C_{TU6}).$$

Análisis de supervivencia

Se identificaron los genes cuya expresión estaba relacionada significativamente con la supervivencia del paciente. Se valoró la significación estadística para cada gen basándose en el modelo de regresión de riesgos proporcionales univariado de Cox en BRB-ArrayTools versión 3.2.3. Estos valores de p se utilizaron en un ensayo multivariado de permutación en el que los tiempos de supervivencia y los indicadores de censura se permutaron aleatoriamente entre las matrices. Los genes se consideraron estadísticamente significativos si su valor de p era menor de 0,05.

Se estimaron las curvas de supervivencia por el método de Kaplan-Meier (SAS Institute, Cary, NC) y las curvas resultantes se compararon utilizando un ensayo de intervalo logarítmico. Se examinaron el efecto articulación y las covariables utilizando el modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el StatMate (ATMS Co. Ltd., Tokyo, Japón).

Resultados

Se analizó la expresión de miARN en 104 pares de cáncer primario de pulmón y en los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos para investigar la participación de los miARN en el cáncer de pulmón. La comparación de la expresión de miARN para varios pares de un grupo específico se enumera en la Tabla 2. Se identificaron los miARN que se expresaron de manera diferente en 5 clasificaciones fenotípicas e histológicas (Tabla 2).

Al compararse la expresión del miARN en los tejidos del cáncer de pulmón y en los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos, se identificaron 43 miARN que mostraban diferencias de la expresión entre los grupos estadísticamente significativas (Tabla 3). Se llevó a cabo el ensayo de permutación multivariada en el análisis de comparación de clases utilizando nuestra herramienta de análisis de micromatrices, para controlar las múltiples comparaciones. El ensayo proporciona un nivel de confianza específica para asegurar que el número de descubrimientos falsos no exceda el nivel de dianas o para asegurar que la proporción de la lista de genes que representa falsos descubrimientos no exceda un nivel de dianas. Por tanto, si no hay diferencias reales entre las clases, la probabilidad de obtener por casualidad al menos 43 miARN expresados de manera diferente que sea estadísticamente significativa a un nivel $<0,001$, sería 0 y así se estimó por el ensayo de permutación multivariada. Además, el 91 % de los 104 cánceres de pulmón se clasificaron correctamente utilizando el método de predicción de validación de clase dejando uno fuera, basándose en el predictor covariado compuesto. Basándose en 2.000 permutaciones aleatorias, el valor de p , que se define como la proporción de las permutaciones aleatorias que dan una tasa de errores de validación cruzada no mayor que la tasa de error de validación cruzada con los datos reales, fue $< 0,0005$.

Varios de estos miARN se asociaron con FRA (Tabla 3). En particular, tres miARN están localizados dentro de sitios frágiles (*hsa-mir-21* en FRA17B, *hsa-mir-27b* en FRA9D y *hsa-mir-32* en FRA9E). Además, muchos de estos miARN identificados se localizan en regiones que son eliminadas o amplificadas frecuentemente en varias enfermedades malignas (Tabla 3). Por ejemplo, *hsa-mir-21* y *hsa-mir-205* están localizados en la región amplificada en el cáncer de pulmón, mientras que *hsa-mir-126** y *hsa-mir-126* están en 9q34.3, una región eliminada en el cáncer del pulmón. La expresión reducida de los precursores *let-7a-2* y *let-7f-1* se descubrió en el adenocarcinoma y en el carcinoma de células escamosas con un valor de p con un límite de 0,05. De igual manera. Los análisis de comparación entre el adenocarcinoma vs. tejidos no cancerosos y el carcinoma de células escamosas vs. tejidos no cancerosos revelaron respectivamente, 17 y 16 miARN con una expresión estadísticamente diferente (Tabla 4). Seis miARN (*hsa-mir-21*, *hsa-mir-191*, *hsa-mir-155*, *hsa-mir-210*, *hsa-mir-126** y *hsa-mir-224*) se compartieron en los dos tipos histológicos de carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC).

Tabla 2. Análisis de comparación de clasificaciones clinicopatológicas

Clasificación (Número)	Total	Nº de genes ^a	FDR ^b	% clasificados correctamente ^c (valor de p)
Clasificación Fenotípica				
Todos los tumores (104) vs. Todos los normales (104)	208	43	0	91 ($< 0,0005$)
Tumor Adeno ^d (65) vs. Adeno normal (65)	130	17	0,001	80 ($< 0,0005$)
Tumor SCC ^e (39) vs. SCC normal (39)	78	16	0	92 ($< 0,0005$)
Clasificación Histológica				
Tumor Adeno (65) vs. Tumor SCC (39)	104	6	0,001	81 ($< 0,0005$)
Clasificación por Edad				

Todos; Edad <67 (56) vs. Edad ≥67 (48)	104	0
Adeno; Edad <67 (37) vs. Edad ≥67 (28)	65	0
SCC; Edad <67 (19) vs. Edad ≥67 (20)	39	0
Clasificación por Sexo		
Todos; Masculino (65) vs. Femenino (39)	104	0
Adeno; Masculino (39) vs. Femenino (26)	65	0
SCC; Masculino (26) vs. Femenino (13)	39	0
Clasificación por Raza		
Todos; Afro-Americana (21) vs. Blanca Americana (83)	104	0
Adeno; Afro-Americana (13) vs. Blanca Americana (52)	65	0
SCC; Afroamericana (8) vs. Blanca Americana (31)	39	0
Clasificación por Estadio		
Todos; Estadio I (65) vs. Estadio II (17) vs. Estadio III, IV (22)	104	0
Adeno; Estadio I (41) vs. Estadio II (8) vs. Estadio III, IV (16)	65	1
SCC; Estadio I (24) vs. Estadio II (9) vs. Estadio III, IV (6)	39	0
^a Nº de genes, Número de genes significativos a 0,001.		
^b FDR, Tasa de falsos descubrimientos que es la probabilidad de genes significativos por casualidad.		
^c % clasificados correctamente (valor de <i>p</i>). Método de predicción de clases de validación cruzada dejando uno fuera basado en el predictor covariado compuesto. El valor de <i>p</i> es la proporción de permutaciones aleatorias que daban una tasa de error de validación cruzada que no era mayor que la tasa de error de validación cruzada con los datos reales.		
^d Adeno, Adenocarcinoma.		
^e SCC, Carcinoma de células escamosas.		

Tabla 3. 43 miARN expresados diferencialmente en tejidos del cáncer de pulmón vs. Tejidos pulmonares no cancerosos.

miARN	Localización	Valor de <i>p</i>	Tipo	Asociación con FRA ^a	Regiones genómicas asociadas con Cáncer ^a	Gen hospedador ^b
<i>hsa-mir-21</i>	17q23.2	$p < 1e-07$	Positivo	FRA17B	Amp ^c -netwoblastoma; pulmón ca	<i>TMEM49</i>
<i>hsa-mir-191</i>	3p21.31	$p < 1e-07$	Positivo			Proteína nueva
<i>hsa-mir-126*</i>	9q34.3	$p < 1e-07$	Negativo		Del ^d -NSCLC ^e ; HCC ^f	<i>EGFL-7</i>
<i>hsa-mir-210</i>	11p15.5	1,00E-07	Positivo		Del-ovárico: pulmón co	Proteína nueva
<i>hsa-mir-155</i>	21q21.3	1,00E-07	Positivo		Amp-colon ca	<i>BIC</i>
<i>hsa-mir-143</i>	5q32	4,00E-07	Negativo		Del-próstata ca	minARNc ^F
<i>hsa-mir-205</i>	1q32.2	4,00E-07	Positivo		Amp-pulmón ca	minARNc
<i>hsa-mir-192-prec</i>	11q13.1	5,00E-07	Negativo	FRA11A	Del-tiroides ca	minARNc
<i>hsa-mir-224</i>	Xq28	5,00E-07	Negativo	FRAXF		<i>G4BRE</i>
<i>hsa-mir-126</i>	9q34.3	7,00E-07	Negativo		Del-NSCLC: HCC	<i>EGFL-7</i>
<i>hsa-mir-24-2</i>	19p13.1	1,30E-06	Positivo			ND ^b
<i>hsa-mir-30a-5p</i>	6q13	4,50E-06	Negativo			minARNc
<i>hsa-mir-212</i>	17p13.3	5,00E-06	Positivo			ND
<i>hsa-mir-140</i>	16q22.1	5,10E-06	Negativo			<i>ATROPINA-1</i>
<i>hsa-mir-9</i>	15q26.1	6,50E-06	Negativo			Proteína nueva
<i>hsa-mir-214</i>	1q24.3	8,60E-06	Positivo			ND
<i>hsa-mir-17-3p</i>	13q31.3	9,40E-06	Positivo			Proteína nueva
<i>hsa-mir-124a-1</i>	8p23.1	1,23E-05	Negativo		Amp-MFHs ⁱ	Proteína nueva
<i>hsa-mir-218-2</i>	5q34	1,34E-05	Negativo			<i>SLIT3</i>
<i>hsa-mir-95</i>	4p16.1	1,48E-05	Negativo			<i>ABLIM2</i>
<i>hsa-mir-145</i>	5q32	1,90E-05	Negativo		Del-próstata ca	minARNc
<i>hsa-mir-198</i>	3q13.33	2,43E-05	Negativo			<i>FSTL1</i>
<i>hsa-mir-216-prec</i>	2p16.1	3,05E-05	Negativo			ND
<i>hsa-mir-219-1</i>	6p21.32	5,56E-05	Negativo			ND
<i>hsa-mir-106a</i>	Xq26.2	6,20E-05	Positivo		Del-ovárico ca	ND
<i>hsa-mir-197</i>	1p13.3	7,23E-05	Positivo			ND
<i>hsa-mir-192</i>	11q13.1	0,000119	Positivo	FRA11A	Del-tiroides ca	ND
<i>hsa-mir-125a-prec</i>	19q13.41	0,000143	Negativo			minARNc

<i>hsa-mir-26a-1-prec</i>	3p22.3	0,000148	Negativo		Del-epitelial ca	<i>NIF1</i>
<i>hsa-mir-146</i>	5q33.3	0,000163	Positivo			minARNc
<i>hsa-mir-203</i>	14q32.33	0,000267	Positivo			ND
<i>hsa-mir-199b-prec</i>	9q34.11	0,000304	Negativo		Del-vejiga ca	<i>GOLGA2</i>
<i>hsa-mir-7a-2-prec</i>	11q24.1	0,000398	Negativo	FRA11B	Del-pulmón ca	minARNc
<i>hsa-mir-27b</i>	9q22.32	0,000454	Negativo	FRA9D	Del-Vejiga ca	Proteína nueva
<i>hsa-mir-32</i>	9q31.3	0,000458	Negativo	FRA9E	Del-pulmón ca	Proteína nueva
<i>hsa-mir-29b-2-</i>	1q32.2	0,000466	Negativo			minARNc
<i>hsa-mir-220</i>	Xq25	0,000630	Negativo			ND
<i>hsa-mir-33</i>	22q13.2	0,000683	Negativo		Del-colon ca	<i>SREBF2</i>
<i>hsa-mir-181c-prec</i>	19p13.12	0,000736	Negativo			<i>NANOS3</i>
<i>hsa-mir-150</i>	19q13.33	0,000784	Positivo			ND
<i>hsa-mir-101-1</i>	1p31.3	0,000844	Negativo	FRA1C	Del-ovárico; mama ca	ND
<i>hsa-mir-124n-3</i>	20q13.33	0,000968	Negativo			ND
<i>hsa-mir-125a</i>	19q13.41	0,000993	Negativo			ND

^a La información se obtuvo de un informe previo (Calin, G.A. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 2999-3004 (2004)). ^b La información se obtuvo de un informe previo (Rodríguez, A. y col., Genome Res. 14: 1902-1910 (2004)). ^c Amp, Amplificación; ^d Del, Delección; ^e NSCLC, Carcinoma de pulmón de células no pequeñas; ^f HCC, carcinoma hepatocelular; ^g minARNc, ARN no codificante similar a mRNA; ^h ND, no definido; ⁱ MFHs, Histiocitomas fibrosos malignos.

El análisis PCR en tiempo real de los precursores de miARN seleccionados se llevó a cabo para validar los resultados del análisis de la micromatriz. Primero, se prepararon los ADNc de 16 pares de adenocarcinomas pulmonares y 16 pares de carcinoma pulmonar de células escamosas, utilizando cebadores génicos específicos para *hsa-mir-21*, *hsa-mir-126**, *hsa-mir-205* y *U6* (como control). A continuación, se llevaron a cabo los análisis de RT-PCR en tiempo real para determinar los niveles de expresión de estos miARN en diferentes muestras. Al menos una regulación doblemente positiva de la expresión de los precursores de miARN *hsa-mir-21* y *hsa-mir-205* se encontró en el 66 % y el 56 % de los 32 casos, respectivamente, cuando se compararon con los niveles de expresión de estos miARN en los tejidos no cancerosos correspondientes (FIG. 1). Las diferencias fueron estadísticamente significativas con una $p < 0,001$ según el ensayo-t pareado. Por el contrario, el 31 % de los 32 casos de cáncer de pulmón examinados mostraron una reducción de la expresión del precursor *hsa-mir-126** de más del 50 %, aunque estos resultados no fueron estadísticamente significativos (FIG. 1). Estos hallazgos muestran que los miARN precursores específicos están regulados frecuentemente de forma positiva o están reducidos en los cánceres de pulmón, lo que es congruente con los patrones de expresión de sus miARN maduros, como se determinó utilizando el análisis de micromatriz.

Tabla 4. miARN expresados diferencialmente en tejidos con adenocarcinoma/tejidos con carcinoma pulmonar de células escamosas vs. Tejidos pulmonares no cancerosos.

miARN	Localización	Valor de p	Tipo
Adenocarcinoma			
<i>*hsa-mir-21</i>	17q23.2	$p < 1e-07$	Positivo
<i>hsa-mir-191</i>	3p21.31	1,20E-06	Positivo
<i>hsa-mir-155</i>	21q21.3	4,10E-06	Positivo
<i>hsa-mir-210</i>	11p15.5	9,90E-06	Positivo
<i>hsa-mir-126*</i>	9q34.3	1,92E-05	Negativo
<i>hsa-mir-126</i>	9q34.3	4,13E-05	Negativo
<i>hsa-mir-24-2</i>	19p13.1	0,000228	Positivo
<i>hsa-mir-219-1</i>	6p21.32	0,000251	Negativo
<i>hsa-mir-95</i>	4p16.1	0,000303	Negativo
<i>hsa-mir-192-prec</i>	11q13.1	0,000307	Negativo
<i>hsa-mir-220</i>	Xq25	0,000309	Negativo
<i>hsa-mir-216-prec</i>	2p16.1	0,00042	Negativo
<i>hsa-mir-204-prec</i>	9q21.11	0,000449	Negativo
<i>hsa-mir-188</i>	Xp11.23	0,000475	Negativo
<i>hsa-mir-198</i>	3q13.33	0,000494	Negativo
<i>hsa-mir-145</i>	5q32	0,000579	Negativo
<i>hsa-mir-224</i>	Xq28	0,000925	Negativo

Carcinoma de células escamosas

hsa-mir-205	1q32.2	p < 1e-07	Positivo
hsa-mir-224	Xq28	4,14E-05	Negativo
hsa-mir-191	3p21.31	5,18E-05	Positivo
hsa-mir-126*	9q34.3	9,74E-05	Negativo
hsa-mir-140	16q22.1	0,000132	Negativo
hsa-mir-210	11p15.5	0,0001383	Positivo
hsa-mir-17-3p	13q31.3	0,0001772	Positivo
hsa-mir-29b	1q32.2	0,0002046	Negativo
hsa-mir-143	5q32	0,0003141	Negativo
hsa-mir-203	14q32.33	0,0003293	Positivo
hsa-mir-155	21q21.3	0,0003688	Positivo
hsa-mir-21	17q23.2	0,0003904	Positivo
hsa-mir-214	1q24.3	0,0004546	Positivo
hsa-mir-212	17p13.3	0,0005426	Positivo
hsa-mir-30a-5p	6q13	0,0006165	Negativo
hsa-mir-197	1p13.3	0,0008507	Positivo

Además, los datos de la micromatriz para los tres precursores de miARN, *hsa-mir-21*, *hsa-mir-126** y *hsa-mir-205*, se confirmaron por el método de detección de hibridación en solución, sus miARN maduros. Específicamente, se analizaron siete pares de tejidos de cáncer de pulmón primario y sus correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos, para los que estaban disponibles cantidades suficientes de ARN. Las formas maduras de *hsa-mir-21* y *hsa-mir-205* estaban claramente reguladas positivamente en los tejidos del cáncer de pulmón cuando se comparaban con los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos (FIG. 2), mientras que *hsa-mir-126** estaba regulado negativamente en la mayoría de los tejidos de cáncer de pulmón examinados. Por tanto, como en los resultados de la RT-PCR, estos análisis confirmaron los datos de la expresión de la micromatriz para estos tres miARN.

Ejemplo 2: Firmas distintivas de la expresión de miARN en líneas celulares de cáncer de pulmón. Materiales y métodos

15 Muestras

Se utilizaron en este estudio trece líneas celulares de cáncer de pulmón, que consistían en cinco líneas celulares de carcinoma de pulmón de células pequeñas (SCLC) y ocho líneas celulares de carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). Las 5 líneas celulares SCLC fueron DMS 92, NCI-H82, NCI-H146, NCI-H446 y NCI-H417 (American Tissue Culture Collection). Las ocho líneas celulares NSCLC fueron NCI-H157, Calu-1, Calu-6, NCI-H292, NCI-H596, A-427, A549, and A2182 (American Tissue Culture Collection, Manassas, VA). Se aisló el ARN total de los tejidos y los cultivos celulares con Reactivo TRIzol® (Invitrogen, Carlsbad, CA), según las instrucciones del fabricante.

25 Análisis de micromatriz

Se llevó a cabo el análisis de la micromatriz como se ha descrito anteriormente (Liu, C.G. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 9740-9744 (2004), véase también el Ejemplo 1).

30 Análisis estadístico

Se llevaron a cabo los análisis estadísticos como se describe anteriormente en el presente documento (véase, por ejemplo, el Ejemplo 1).

35 Resultados

Se generaron con el análisis de micromatriz, los perfiles de expresión del miARN de cinco líneas celulares de carcinoma de pulmón de células pequeñas (SCLC) y ocho líneas celulares de carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). La comparación de los perfiles de expresión del miARN de NSCLC y SCLC reveló diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$ por el ensayo-t) en el nivel de expresión de 3 miARN (*hsa-mir-24-1*, *hsa-mir-29a* y *hsa-mir-29c*). Además, se revelaron distintos grupos cuando se aplicó el análisis de agrupamiento jerárquico a los 18 miARN expresados más diferencialmente para cada tipo de muestra, de forma que todas las líneas celulares NSCLC caían dentro del grupo que era distinto de las líneas celulares de SCLC (FIG. 3A, FIG. 3B). Estos resultados indican que los perfiles de expresión del miARN pueden ser diferentes en células de diferentes orígenes y/o tipos, como se había descubierto en estudios previos (véase, por ejemplo Liu, C.G. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 9740-9744 (2004); Bhattacharjee, A. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98: 13790-13795 (2001); Garber, M.E. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98: 13784-13789 (2001)).

*Ejemplo 3: Identificación de los miARN asociados con características clinicopatológicas del cáncer de pulmón**Materiales y métodos*5 *Análisis de micromatrices*

Se llevaron a cabo los análisis de micromatrices como se ha descrito anteriormente (Liu, C.G. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 9740-9744 (2004), véase también, el Ejemplo 1).

10 *Análisis estadísticos*

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo como se ha descrito anteriormente en el presente documento (véase, por ejemplo, el Ejemplo 1).

15 *Resultados*

Se analizó si los datos de la micromatriz revelaban firmas moleculares específicas para subgrupos de cáncer de pulmón que se diferenciaran por su comportamiento clínico. Para este análisis, se examinaron las relaciones de cinco tipos de información clínica y patológica (Tabla 2). En la clasificación histológica, se identificaron seis miARN (*hsa-mir-205*, *hsa-mir-99b*, *hsa-mir-203*, *hsa-mir-202*, *hsa-mir-102* y *hsa-mir-204-prec*) que se expresaban de forma diferente en los dos tipos histológicos más comunes de NSCLC, adenocarcinoma y carcinoma de células escamosas. Los niveles de expresión de *hsa-mir-99b* y *hsa-mir-102* fueron mayores en el adenocarcinoma. No se identificaron miARN que se expresaran de manera diferente para los grupos que se habían diferenciado por la edad, el género o la raza.

25 *Ejemplo 4: Correlación entre la expresión de hsa-mir-155 and hsa-let-7a-2 y el pronóstico de los pacientes con adenocarcinoma de pulmón.*

30 *Materiales y métodos*30 *Análisis de micromatriz*

Se llevó a cabo el análisis de micromatriz como se ha descrito previamente (Liu, C.G. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 9740-9744 (2004), véase también, el Ejemplo 1).

35 *Análisis estadístico*

Se llevaron a cabo los análisis estadísticos como se ha descrito anteriormente en el presente documento (véase, por ejemplo, el Ejemplo 1).

40 *Análisis de Ontología Génica*

Las dianas predichas del *hsa-mir-155* y *hsa-let-7a* se determinaron por los métodos de Lewis y col., (Lewis, B.P. y col., Cell 120: 15-20 (2005)) y PicTar (Krek, A. y col., Nat. Genet. 37: 495-500 (2005)) y se analizaron con respecto a la sobre-representación en los agrupamientos biológicos de una Ontología Génica (GO) particular. Las listas de término GO se sometieron a análisis utilizando la aplicación Whole Pathway Scope (WPS) y esos términos se enumeraron si la puntuación de la prueba exacta de Fisher era menor de 0,005.

50 *Resultados*

Se evaluó la correlación de la expresión del miARN con la supervivencia del paciente. El modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox univariado con el ensayo de permutación total en el BRB-Array Tools indicaron que ocho miARN (*hsa-mir-155*, *hsa-mir-17-3p*, *hsa-mir-106a*, *hsa-mir-93*, *hsa-let-7a-2*, *hsa-mir-145*, *hsa-let-7b* y *hsa-mir-21*) estaban relacionados con la supervivencia del paciente con adenocarcinoma. Se descubrió que la alta expresión de *hsa-mir-155*, *hsa-mir-17-3p*, *hsa-mir-106a*, *hsa-mir-93* o *hsa-mir-21* y la baja expresión de *hsa-let-7a-2*, *hsa-let-7b* o *hsa-mir-145* tenían un pronóstico significativamente peor. Además, el análisis de supervivencia entre 41 pacientes con adenocarcinoma en estadio I reveló que tres miARN (*hsa-mir-155*, *hsa-mir-17-3p* y *hsa-mir-20*) estaban asociados con el resultado del paciente. Estos resultados demuestran la importante relación entre los perfiles de expresión del miARN y la supervivencia del paciente, independientemente del estadio de la enfermedad.

Debido a que cinco de estos miARN (*hsa-mir-155*, *hsa-mir-17-3p*, *hsa-let-7a-2*, *hsa-mir-145* y *hsa-mir-21*) se expresaban de manera diferente en los tejidos del cáncer de pulmón con respecto a los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos, se utilizaron estos miARN para más análisis de supervivencia. Se calculó la relación entre la expresión en el cáncer de pulmón y la correspondiente expresión en el tejido pulmonar no canceroso para cada uno de estos cinco miARN y los casos se clasificaron de acuerdo con la relación de expresión. Utilizando este agrupamiento para cada miARN, se llevó a cabo el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier. La supervivencia

estimada por Kaplan-Meier mostraba que los pacientes con adenocarcinoma de pulmón con alta expresión de *hsa-mir-155* o con expresión reducida de *hsa-let-7a-2* tenían peores perspectivas de supervivencia que los pacientes con expresión baja de *hsa-mir-155* o alta expresión de *hsa-let-7a-2* (FIG. 4 y FIG. 5). La diferencia pronóstica de estos dos grupos era altamente significativa para *hsa-mir-155* ($p=0,006$; ensayo de intervalo logarítmico), pero menos significativo para *hsa-let-7a-2* ($p=0,033$; ensayo de intervalo logarítmico). Los análisis de supervivencia de los factores clinicopatológicos mostraron que el estadio estaba asociado significativamente con la supervivencia ($p=0,01$; ensayo de intervalo logarítmico), mientras que la edad, la raza, el sexo y la historia de fumador no contaba para el pronóstico malo (Tablas 5A y 5B). Para ajustarlo por comparaciones múltiples, utilizamos el método de Storey y col., (Storey, J.D. and Tibshirani, R., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100: 9440-9445 (2003)) limitando las tasas de falsos descubrimientos a 0,05. Utilizando esta tasa, *hsa-mir-155* y el estadio de enfermedad fueron estadísticamente significativos. Posteriormente, se llevó a cabo un análisis de regresión de riesgos proporcionales de Cox multivariado utilizando todos estos factores clinicopatológicos y moleculares. La expresión alta del *hsa-mir-155* se determinó que era un factor de pronóstico desfavorable, independiente de otros factores clinicopatológicos ($p=0,027$; relación de riesgo 3,03; 95 % CI, 1,13-8,14), en adición al estadio de la enfermedad ($p=0,013$; relación de riesgo 3,27; 95 % CI, 1,31-8,37; Tabla 5A).

Tabla 5A. Supervivencia postoperatoria de pacientes con adenocarcinoma de pulmón en relación con las características moleculares y clinicopatológicas y la expresión de miARN analizada por análisis de micromatriz.

Variable	subgrupo	Relación de riesgo (95 % CI ^a)	p
Análisis univariados (n=65)			
Edad	Edad \geq 67/Edad<67	1,41 (0,67-3,06)	0,348
Sexo	Masculino/femenino	1,36 (0,64-2,93)	0,413
Estadio	II-IV/I	2,51 (1,29-6,82)	0,010
Historia de fumador	Actual/exfumador	1,32 (0,63-2,79)	0,456
<i>hsa-mir-155</i> (n=55)	alto/bajo	3,42 (1,42-8,19)	0,006
<i>hsa-let-7a-2</i> (n=52)	bajo/alto	2,35 (1,08-6,86)	0,033
Análisis Multivariado (n=55)^{b, c}			
Edad	Edad \geq 67/Edad<67	1,92 (0,71-5,17)	0,195
Sexo	Masculino/femenino	1,23 (0,47-3,22)	0,669
Estadio	II-IV/I	3,27 (1,31-8,37)	0,013
Historia de fumador	Actual/exfumador	1,49 (0,51-4,34)	0,457
<i>hsa-mir-155</i>	alto/bajo	3,03 (1,13-8,14)	0,027

^a95 % CI, 95 % Intervalo de confianza.
^bAnálisis multivariado, Modelo de regresión de riesgos proporcionados de Cox.
^c *hsa-let-7a-2* bajo/alto no fue estadísticamente significativo ($p=0,089$).

Tabla 5B. Supervivencia postoperatoria en pacientes con adenocarcinoma de pulmón en relación con las características clinicopatológicas y la expresión de miARN precursores analizados por análisis RT-PCR en tiempo real.

Variable	Subgrupo	Cohorte Original (n=32)		Cohorte Adicional (n=32)		Todos los casos (n=64)	
		Relación de riesgos (95 % CI ^a)	p	Relación de riesgos (95 % CI)	p	Relación de riesgos (95 % CI)	p
Análisis univariado							
Edad	Edad \geq 67/Edad<67	1,89 (0,62-5,34)	0,274	1,21 (0,46-3,21)	0,679	1,28 (0,64-2,58)	0,482
Sexo	Masculino/femenino	0,53 (0,14-1,56)	0,232	1,37 (0,54-3,63)	0,479	0,99 (0,49-1,98)	0,975
Estadio	II-IV/I	4,22 (1,91-23,6)	0,003	2,37 (1,01-7,83)	0,048	3,07 (1,82-8,84)	<0,00
Historia de fumador	Actual/exfumador	0,92 (0,31-2,66)	0,921	1,22 (0,47-3,16)	0,674	1,12 (0,56-2,25)	0,757
Precursor <i>hsa-mir-155</i>	alto/bajo	2,75 (1,05-12,1)	0,047	2,52 (1,10-7,45)	0,033	2,74 (1,53-6,91)	0,002
precursor <i>hsa-let-7a-2</i>	bajo/alto	3,01 (1,09-9,86)	0,037	2,22 (0,91-5,71)	0,084	2,73 (1,42-5,88)	0,003

Análisis Multivariado^b							
Edad	Edad≥67/Edad<67	0,91 (0,22-3,68)	0,899	0,93 (0,30-2,91)	0,914	1,22 (0,58-2,53)	0,593
Sexo	Masculino/femenino	0,35 (0,11-1,17)	0,089	0,92 (0,32-2,66)	0,885	0,85 (0,41-1,74)	0,659
Estadio	II-IV/I	8,99 (1,95-41,2)	0,004	4,91 (1,51-15,9)	0,008	5,58 (2,42-12,8)	<0,001
Historia de fumador	Actual/exfumador	1,01 (0,30-3,38)	0,980	2,27 (0,70-7,34)	0,170	1,89 (0,85-4,21)	0,117
Precursor <i>hsa-mir-155</i>	alto/bajo	13,3 (2,59-69,0)	0,002	3,77 (1,32-10,6)	0,013	4,98 (2,29-10,8)	<0,001
Precursor <i>hsa-let-7a-2</i>	bajo/alto	3,93 (1,06-14,5)	0,040	2,97 (1,07-8,23)	0,036	3,55 (1,64-7,69)	0,001

^a95 % CI, 95 % Intervalo de confianza.

^bAnálisis multivariado, modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox.

5 Para investigar las consecuencias biológicas de la expresión alterada de *hsa-mir-155* and *hsa-let-7a-2*, se llevó a cabo un análisis bioinformático para agrupar las dianas predichas de estos miARN de acuerdo con los términos de Ontología Génica (Tabla 6). Además de las asociaciones con los términos más generales de GO, se vio un enriquecimiento significativo para las dianas asociado con la transcripción del *hsa-mir-155*. El *hsa-let-7a* mostró una sobre representación de dianas génicas unidas con la proteína quinasa y las cascadas intracelulares de señalización, un hallazgo congruente con la interacción funcional que se había informado, entre el *let-7* y RAS (Johnson, S.M. y col., Cell 120:635-647 (2005)).

10 Tabla 6. Análisis de ontología génica (proceso biológico) para las dianas de transcripción predichas de *hsa-mir-155* y *hsa-let-7a*.

Proceso biológico	Ontología Génica	Valor de p
<i>hsa-mir-155</i>		
regulación del proceso biológico	GO:0050789	3,44343E-05
regulación de base nucleica \ nucleósido \ nucleótido y metabolismo de ácido nucleico	GO:0019219	0,000149553
regulación de proceso fisiológico	GO:0050791	0,000192938
regulación de transcripción \ dependiente de ADN	GO:0006355	0,000244233
regulación del metabolismo	GO:0019222	0,000310887
regulación de la transcripción	GO:0045449	0,000367426
transcripción\dependiente de ADN	GO:0006351	0,000373583
transcripción	GO:0006350	0,000749403
Importación de sustrato del núcleo que contiene NLS	GO:0006607	0,000871079
Diferenciación de base nucleica celular B \ nucleósido \ nucleótido y metabolismo de ácido nucleico	GO:0030183	0,00142995
Selección de proteínas diana	GO:0006605	0,00238267
hemopoyesis	GO:0030097	0,00243434
proceso celular	GO:0009987	0,00270393
metabolismo de uridina	GO:0046108	0,0040568
activación celular B	GO:0042113	0,00458041
<i>hsa-let-7a</i>		
modificación proteica	GO:0006464	9,02643E-05
mantenimiento y crecimiento celular	GO:0008151	9,99217E-05
proceso fisiológico celular	GO:0050875	0,000128316
cascada de la proteína quinasa	GO:0007243	0,000703203
proceso celular	GO:0009987	0,000870863
cascada de señalización intracelular	GO:0007242	0,001290613
transporte	GO:0006810	0,004305096
modificación de la cromatina	GO:0016568	0,004414505
localización	GO:0051179	0,004492152
metabolismo del fósforo	GO:0006793	0,00481218
metabolismo del fosfato	GO:0006796	0,00481218

15 Se llevaron a cabo los análisis de la RT-PCR en tiempo real para *hsa-mir-155* y *hsa-let-7a-2* para determinar si la expresión de los miARN precursores también tenía un impacto pronóstico en los pacientes con adenocarcinoma. Primero, se sometieron 32 pares de adenocarcinoma del grupo original, en los que estaba disponible el ARN, al análisis RT-PCR en tiempo real. Se calculó la relación entre la expresión en cáncer de pulmón y la expresión de los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos y se clasificaron los casos de acuerdo con la relación de expresión. El análisis de supervivencia de Kaplan-Meier (FIG. 6, FIG. 7) demostró una supervivencia

significativamente peor para los pacientes que tenían una expresión alta del precursor *hsa-mir-155* ($p=0,047$; ensayo de intervalo logarítmico) o una expresión reducida del precursor *hsa-let-7a-2* ($p=0,037$; ensayo de intervalo logarítmico) (Tabla 5B). Para validar más los clasificadores de pronóstico descritos aquí, se analizó un grupo adicional independiente de 32 adenocarcinomas utilizando el análisis RT-PCR en tiempo real. Las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (FIG. 8, FIG. 9) mostraron también en esta cohorte una relación clara entre la expresión del *hsa-mir-155* precursor ($p=0,033$; ensayo de intervalo logarítmico) y cerca de la significación en la expresión de *hsa-let-7a-2* ($p=0,084$; ensayo de intervalo logarítmico) (Tabla 5B). Además, se descubrió que la expresión alta del precursor *hsa-mir-155* era un predictor independiente de pronóstico malo con un análisis de regresión de riesgos proporcionales de Cox multivariado (Tabla 5B). Para confirmar más si había cualquier fuerza de agrupamiento en el grupo original (32 casos) y el grupo adicional (32 casos), se llevaron a cabo los análisis de supervivencia multivariado y univariado de los 64 casos. De manera congruente con los resultados previos, estos análisis mostraron la significación de la expresión del *hsa-mir-155* precursor (Tabla 5B; FIG. 10). Es importante decir que la expresión reducida del precursor *hsa-let-7a-2* también tiene un impacto pronóstico similar en los pacientes con adenocarcinoma (Tabla 5B; FIG. 11), lo que es congruente con un informe previo (Takamizawa, J. y col., Cancer Res. 64, 3753-3756 (2004)).

Ejemplo 5: Falta de regulación epigenética de la expresión de miARN en líneas celulares de NSCLC.

Materiales y métodos

Análisis de micromatriz

El análisis de micromatriz se llevó a cabo como se ha descrito anteriormente (Liu, C.G., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 9740-9744 (2004), véase también, el Ejemplo 1).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo como se ha descrito anteriormente en el presente documento (véase, por ejemplo, el Ejemplo 1).

Tratamiento con 5-aza-dC y/o TSA

Se incubaron células A549 y NCI-H157 de cáncer de pulmón (disponibles en la American Tissue Culture Collection) en un medio que contenía 5-aza-dC 1,0 mM (Sigma, St. Louis, MO) durante 48 h y luego se incubaron durante 24 h adicionales en presencia de TSA 1,0 mM (Sigma, St. Louis, MO). Se aisló el ARN total con ReactivoTRIzol[®] (Invitrogen) y se llevó a cabo el análisis de micromatriz como se ha descrito anteriormente. Cada tratamiento se llevó a cabo por triplicado.

Resultados

Se utilizaron las micromatrices de miARN para analizar la expresión de varios miARN en el tratamiento con 5-aza-2'-desoxicitidina (5-aza-dC), un inhibidor de la metilación del ADN, y/o Tricostatina A (TSA), un potente inhibidor de la histona desacetilasa, en dos líneas celulares de cáncer de pulmón (A549 y NCI-H157). Aunque se confirmó el aumento de la expresión de un gen, que se sabe que está silenciado transcripcionalmente (*MYO18B*) después del tratamiento con 5-aza-dC o TSA (FIG. 12), ningún miARN de la micromatriz mostró cambios de expresión, estadísticamente significativos tras el tratamiento con cualquiera de los productos, sugiriendo que la hipermetilación y la desacetilación de histona no eran responsables de la reducción de los niveles de la expresión de miARN, al menos en estas dos líneas celulares.

Aunque esta invención se ha mostrado y descrito particularmente con referencia a las realizaciones preferidas de la misma, se entenderá por los expertos en la técnica que se pueden hacer varios cambios en su forma y detalles sin alejarse del ámbito de lo que engloba la invención en las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> THE OHIO STATE UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH

<120> MÉTODOS Y COMPOSICIONES BASADOS EN LOS MICROARN PARA EL DIAGNÓSTICO, PRONÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE PULMÓN

<130> 53-28348

<140> AU 2007205234

<141> 03-01-2007

<150> PCT/US07/000103

<151> 03-01-2007

ES 2 536 438 T3

	<150> 60/756.400	
	<151> 01-05-2006	
	<160> 498	
5	<170> PatentIn versión 3.5	
	<210> 1	
	<211> 90	
10	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 1	
	cacuguggga ugagguagua gguuguauag uuuuaggguc acaccaccca cugggagaua	60
15	acuauacaau cuacugucuu uccuaacgug	90
	<210> 2	
	<211> 72	
20	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 2	
	agguugaggu aguagguugu auaguuuaga auuacaucaa gggagauaac uguacagccu	60
25	ccuagcuuuc cu	72
	<210> 3	
	<211> 74	
30	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 3	
	gggugaggua guagguugua uaguuuagggg cucugcccug cuaugggaua acuauacaau	60
	cuacugucuu uccu	74
35	<210> 4	
	<211> 107	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 4	
	gugacugcau gcucccaggu ugagguagua gguuguauag uuuagaauua cacaagggag	60
	auaacuguaac agccuccuag cuuuccuugg gucuugcacu aaacaac	107
45	<210> 5	
	<211> 85	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 5	
50	ggcgggguga gguaguaggu ugugugguuu cagggcagug auguugcccc ucggaagaua	60
	acuauacaac cuacugccuu cccug	85
	<210> 6	
	<211> 84	

ES 2 536 438 T3

	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 6	
5	gcauccgggu ugagguagua gguuguaugg uuuagaguua cacccuggga guuaacugua	60
	caaccuucua gcuuuccuug gagc	84
	<210> 7	
	<211> 87	
10	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 7	
	ccuaggaaga gguaguaggu ugcauaguuu uagggcaggg auuuugccca caaggaggua	60
15	acuaauacgac cugcugccuu ucuuagg	87
	<210> 8	
	<211> 85	
	<212> ARN	
20	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 8	
	cuaggaagag guaguaguuu gcauaguuuu agggcaaaga uuuugccca aaguaguuag	60
25	cuauacgacc ugcagccuuu uguag	85
	<210> 9	
	<211> 85	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 9	
	cuggcugagg uaguaguuuug ugcuguuggu cggguuguga cauugcccgc uguggagaua	60
	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
35	<210> 10	
	<211> 79	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 10	
	cccgggcuga gguaggaggu uguauaguug aggaggacac ccaaggagau cacuaucgg	60
	ccuccuagcu uuccccagg	79
45	<210> 11	
	<211> 87	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 11	
	ucagagugag guaguagauu guauaguugu gggguaguga uuuuaccug uucaggagau	60
	aacuauacaa ucuauugccu ucccuga	87
	<210> 12	

ES 2 536 438 T3

	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 12		
	cugugggaug agguaguaga uuguauaguu gugggguagu gauuuuaccc uguucaggag		60
	auaacuauac aaucuauugc cuucccuga		89
10	<210> 13		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 13		
	cugugggaug agguaguaga uuguauaguu uuagggucau accccaucuu ggagauaacu		60
	auacagucua cugucuuucc cacgg		85
20	<210> 14		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 14		
	uugccugauu ccaggcugag guaguaguu guacaguug agggucuaug auaccacccg		60
25	guacaggaga uaacuguaca ggccacugcc uugccaggaa cagcgcgc		108
30	<210> 15		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 15		
	cuggcugagg uaguaguug ugcuguuggu cggguuguga caugcccgc uguggagaua		60
35	acugcgcaag cuacugccuu gcuag		85
40	<210> 16		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 16		
	accuacucag aguacauacu ucuuuaugua cccaauugaa cauacaugc uauggaangu		60
45	aaagaaguau guauuuuugg uaggc		85
50	<210> 17		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 17		
	cagcuaacaa cuuaguaaua ccuacucaga guacauacuu cuuuanguac ccauugaac		60
	auacaauugc auggaangua aagaaguug uauuuuuggu aggcaua		108

ES 2 536 438 T3

	<210> 18		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 18		
	gccugcuugg gaaacauacu ucuuuauaug cccauaugga ccugcuaagc uauggaagu		60
	aaagaaguau guaucucagg ccggg		85
10	<210> 19		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 19		
	ugggaaacau acuucuuuau augcccatau ggaccugcua agcuauggaa uguaaagaag		60
	uauguaucuc a		71
20	<210> 20		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 20		
	accuacucag aguacauacu ucuuuaugua cccauaugaa cauacaagc uauggaagu		60
	aaagaaguau guauuuuugg uaggc		85
30	<210> 21		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 21		
	uggauguugg ccuaguucug uguggaagac uagugauuuu guuguuuuuu gauaacuaaa		60
35	ucgacaacia aucacagucu gccauauggc acaggccaug ccucuaca		108
40	<210> 22		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 22		
	uuggauguug gccuaguucu guguggaaga cuagugauuu uguuguuuuu agauaacuaa		60
45	aucgacaaca aaucacaguc ugccauaugg cacaggccau gccucuacag		110
50	<210> 23		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 23		

ES 2 536 438 T3

	cuggauacag aguggaccgg cuggcccau cuggaagacu agugauuuug uuguugucuu	60
	acugcgcuca acaacaaauc ccagucuacc uaauggugcc agccaucgca	110
5	<210> 24 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 24	
	agauuagagu ggcugugguc uagugcugug uggaagacua gugauuuugu uguucugaug	60
10	uacuacgaca acaagucaca gccggccuca uagcgcagac ucccuucgac	110
15	<210> 25 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 25	
	cgggguuggu uguuauuuu gguuaucuag cuguaugagu gguguggagu cuucauaaag	60
20	cuagauaacc gaaaguaaaa auaacccca	89
25	<210> 26 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 26	
	ggaagcgagu uguuauuuu gguuaucuag cuguaugagu guauuggucu ucauaaagcu	60
	agauaaccga aaguaaaaac uccuuca	87
30	<210> 27 <211> 90 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 27	
35	ggaggcccg uucucucuuu gguuaucuag cuguaugagu gccacagagc cgucuaaaag	60
	cuagauaacc gaaaguagaa augauucua	90
40	<210> 28 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 28	
45	gaucugucug ucuucugua auaccugua gauccgaau uguguaagga auuuuguggu	60
	cacaaauucg uaucuagggg aauauguagu ugacauaaac acuccgcucu	110
50	<210> 29 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 536 438 T3

	<400> 29		
		ccagagguug uaacguuguc uauauauacc cuguagaacc gaauuugugu gguauccgua	60
		uagucacaga uucgauucua ggggaauua uggucgaugc aaaaacuca	110
5	<210> 30 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 30		
		gcgcgaaugu guguuuaaaa aaaauaaaac cuuggaguaa aguagcagca cauaaugguu	60
		uguggauuuu gaaaaggugc aggccauuu gugcugccuc aaaaauac	108
15	<210> 31 <211> 83 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 31		
		ccuuggagua aaguagcagc acauaauggu uuguggauuu ugaaaaggug caggccauau	60
		ugugcugccu caaaaauaca agg	83
25	<210> 32 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 32		
		cuguagcagc acaucauggu uuacaugcua cagucaagau gcgaaucuu auuugcugcu	60
30	cuag		64
35	<210> 33 <211> 98 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 33		
		uugaggccuu aaaguacugu agcagcacau caugguuuac augcuacagu caagaugcga	60
40		aucuuuuuu gcugcucuag aaauuaagg aaauucau	98
45	<210> 34 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 34		
		gucagcagug ccuuagcagc acguaaaau uggcguaaag auucuaaaau uaucuccagu	60
		auuaacugug cugcugaagu aagguugac	89
50	<210> 35 <211> 81 <212> ARN		

ES 2 536 438 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 35	
	guuccacucu agcagcacgu aaauauuggc guagugaaa auauuuuuu caccauuuu	60
5	acugugcugc uuuaguguga c	81
	<210> 36	
	<211> 81	
	<212> ARN	
10	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 36	
	gcagugccuu agcagcacgu aaauauuggc guuaagauuc uaaaauuaucc uccaguauua	60
	acugugcugc ugaaguaagg u	81
15	<210> 37	
	<211> 84	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 37	
	gucagaauaa ugucaaagug cuuacagugc agguagugau augugcaucu acugcaguga	60
	aggcacuugu agcauuuagg ugac	84
25	<210> 38	
	<211> 71	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 38	
	uguucuaagg ugcaucuagu gcagauagug aaguagauua gcaucuacug cccuaagugc	60
	uccuucuggc a	71
35	<210> 39	
	<211> 81	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 39	
	uuuuuguucu aaggugcauc uagugcagau agugaaguag auuagcaucu acugcccuaa	60
	gugcuccuuc uggcauaaga a	81
45	<210> 40	
	<211> 82	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 40	
	gcaguccucu guuaguuuug cauaguugca cuacaagaag aauguaguug ugcaaaucua	60
50	ugcaaaacug augguggccu gc	82
	<210> 41	

ES 2 536 438 T3

	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 41		
	caguccucug uuaguuuugc auaguugcac uacaagaaga auguaguugu gcaaaucua	60	
	gcaaaacuga ugguggccug	80	
	<210> 42		
10	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 42		
15	cacuguucua ugguuaguuu ugcagguuug cauccagcug ugugauauuc ugcugugcaa	60	
	auccaugcaa aacugacugu gguagug	87	
	<210> 43		
	<211> 96		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 43		
	acaauugcuac uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcgauauau guauaugugg	60	
25	cugugcaaa ccaugcaaaa cugauuguga uaaugu	96	
	<210> 44		
	<211> 80		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 44		
	uucuaugguu aguuuugcag guuugcaucc agcuguguga uauucugcug ugcaaauc	60	
	ugcaaaacug acugugguag	80	
35	<210> 45		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 45		
	uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcgauauau guauaugugg cugugcaaa	60	
	ccaugcaaaa cugauuguga u	81	
45	<210> 46		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 46		
	guagcacuaa agugcuuua gugcagguag uguuuaguua ucuacugcau uaugagcacu	60	
	uaaaguacug c	71	

ES 2 536 438 T3

	<210> 47		
	<211> 72		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 47		
	ugucggguag cuuaucaaac ugauguugac uguugaaucu cauggcaaca ccagucgaug		60
	ggcugucuga ca		72
10	<210> 48		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 48		
	accuugucgg guagcuuauac agacugaugu ugacuguuga aucucauggc aacaccaguc		60
	gaugggcugu cugacauuuu g		81
20	<210> 49		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 49		
	ggcugagccg caguaguucu ucaguggcaa gcuuuauauc cugacccagc uaaagcugcc		60
	aguugaagaa cuguugcccu cugcc		85
30	<210> 50		
	<211> 73		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 50		
	ggccggcugg gguuccuggg gaugggauuu gcuuccuguc aaaaucaca uugccagggg		60
	uuuccaaccg acc		73
40	<210> 51		
	<211> 97		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 51		
	cucaggugcu cuggcugcuu gguuccugg caugcugauu ugugacuuaa gauuaaaauc		60
45	acauugccag ggauuaccac gcaaccacga ccuuggc		97
50	<210> 52		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 52		

ES 2 536 438 T3

	ccacggccgg cugggguucc ugagggauggg auuugcuucc ugucacaaau cacauugcca	60
	gggauuucca accgaccug a	81
5	<210> 53 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 53	
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuaca cacuggcuca guucagcagg	60
10	aacaggag	68
15	<210> 54 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 54	
	cucugccucc cgugccuacu gagcugaaac acaguugguu uguguacacu ggcucaguuc	60
20	agcaggaaca ggg	73
25	<210> 55 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 55	
	cccugggcuc ugccucccg uccuacugag cugaaacaca guugguuugu guacacuggc	60
	ucaguucagc aggaacaggg g	81
30	<210> 56 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 56	
	cccuccggug ccuacugagc ugauaucagu ucucauuuuu cacacuggcu caguucagca	60
	ggaacagcau c	71
40	<210> 57 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 57	
	ggccaguguu gagagggcga gacuugggca auugcuggac gcugcccugg gcauugcacu	60
	ugucucgguc ugacagugcc ggcc	84
50	<210> 58 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 536 438 T3

	<400> 58		
		aggccguggc cucguucaag uauccagga uaggcugugc agguccaau ggccuauuu	60
5		gguuacuugc acggggacgc gggccu	86
	<210> 59		
	<211> 77		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 59		
		guggccucgu ucaaguaauc caggauaggc ugugcagguc ccauggggcc uauucuuggu	60
		uacuugcacg gggacgc	77
15	<210> 60		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 60		
		ggcuguggcu ggauucaagu auccaggau aggcuguuuc caucugugag gccuauuuu	60
		gauuacuugu uucuggaggc agcu	84
25	<210> 61		
	<211> 77		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 61		
		ccgggaccca guucaaguaa uucaggauag guugugugcu guccagccug uucuccaua	60
		cuuggcucgg ggaccgg	77
35	<210> 62		
	<211> 78		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 62		
		cugaggagca gggcuuagcu gcuugugagc aggguccaca ccaagucgug uucacagugg	60
		cuaaguuccg cccccag	78
45	<210> 63		
	<211> 73		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 63		
		aggugcagag cuuagcugau uggugaacag ugauugguuu ccgcuuuguu cacaguggcu	60
		aaguucugca ccu	73
	<210> 64		
	<211> 97		

ES 2 536 438 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 64		
5		accucucuaa caaggugcag agcuuagcug auuggugaac agugauuggu uuccgcuuug	60
		uucacagugg cuaaguucug caccugaaga gaaggug	97
	<210> 65		
	<211> 80		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 65		
		ccugaggagc agggcuuagc ugcuugugag caggguccac accaagucgu guucacagug	60
15		gcuaaguucc gccccccagg	80
	<210> 66		
	<211> 86		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 66		
		gguccuugcc cucaaggagc ucacagucia uugaguuacc uuucugacuu ucccacuaga	60
		uugugagcuc cuggagggca ggcacu	86
25			
	<210> 67		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 67		
		ccuucuguga ccccuuagag gaugacugau uucuuuuggu guucagaguc aauauaaaau	60
		ucuagcacca ucugaaaucg guuauaauga uuggggaaga gcaccaug	108
35			
	<210> 68		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40			
	<400> 68		
		augacugauu ucuuuuggug uucagaguca auauaaaauu cuagcaccau cugaaaucgg	60
		uuau	64
	<210> 69		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45			
	<400> 69		
50			
		cuucaggaag cugguuucau auggugguuu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccauu	60
		ugaaaucagu guucuugggg g	81

ES 2 536 438 T3

	<210> 70		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 70		
	cuucuggaag cugguucac augguggcuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcacc	au	60
	uugaaaucag uguuuuagga g		81
10	<210> 71		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 71		
	accacuggcc caucucuac acaggcugac cgauuucucc ugguguucag agucuguuuu	uu	60
	ugucuagcac cauugaaau cgguuaugau guagggggaa aagcagcagc		110
20	<210> 72		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 72		
	gcgacuguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gaugggcuuu cagucggaug	uu	60
	uuugcagcug c		71
30	<210> 73		
	<211> 60		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 73		
	auguaaacu ccuacacuca gcuguaauac auggauuggc ugggaggugg auguuuacgu	uu	60
40	<210> 74		
	<211> 88		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 74		
	accaaguuuc aguucaugua acauccuac acucagcugu aaacaugga uuggcuggga	uu	60
	gguggauguu uacuucagcu gacuugga		88
45	<210> 75		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 75		
	agauacugua acauccuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug	uu	60
	uuuacucuuu cu		72
55	<210> 76		
	<211> 70		

ES 2 536 438 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 76		
5	guuguuguaa acauccccga cuggaagcug uaagacacag cuaagcuuuc agucagaugu		60
	uugcugcuac		70
	<210> 77		
	<211> 64		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 77		
	cuguaaaca ccuugacugg aagcuguaag guguucagag gagcuuucag ucggauguuu		60
15	acag		64
	<210> 78		
	<211> 71		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 78		
	ggagaggagg caaugcug gcauagcugu ugaacuggga accugcuau ccaacauuu		60
	gccaucuuuc c		71
25	<210> 79		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 79		
	ggagauauug cacauuacua aguugcaugu ugucacggcc ucaaugcaau uuagugugug		60
	ugauauuuuc		70
35	<210> 80		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 80		
	gggggccgag agaggcgggc ggccccgagg ugcauugcug uugcauugca cgugugugag		60
	gcgggugcag ugccucggca gugcagccc gagccggccc cuggcaccac		110
	<210> 81		
45	<211> 88		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 81		
50	accaaguuc aguucaugua acauccuac acucagcugu aaacaugga uggcuggga		60
	gguggauguu uacuucagcu gacuugga		88

ES 2 536 438 T3

	<210> 82		
	<211> 69		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 82		
	cuguggugca uuguaguugc auugcauguu cuggugguac ccaugcaaug uuuccacagu		60
	gcaucacag		69
10	<210> 83		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 83		
	ggccagcugu gaguguuucu uuggcagugu cuuagcuggu uguugugagc aauaguaagg		60
	aagcaaucag caaguauacu gcccuagaag ugcugcacgu uguggggccc		110
20	<210> 84		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 84		
	gugcucgguu uguagggcagu gucauuagcu gauuguacug uggugguuac aaucacuaac		60
	uccacugcca ucaaaaacaag gcac		84
30	<210> 85		
	<211> 77		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 85		
	agucuaguua cuagggcagug uaguuagcug auugcuaaua guaccaauca cuaaccacac		60
35	ggccagguaa aaagauu		77
40	<210> 86		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 86		
	ucagaauaau gucaaagugc uuacagugca gguagugaua ugugcaucua cugcagugaa		60
45	ggcacuugua gcauuauuggu ga		82
50	<210> 87		
	<211> 78		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 87		
	cuuucuaacac agguugggau cgguugcaau gcuguguuuc uguaugguau ugcacuuguc		60
	ccggccuguu gaguuugg		78

ES 2 536 438 T3

	<210> 88		
	<211> 75		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 88		
	ucaucccugg guggggauuu guugcauac uuguguucua uauaaaguau ugcacuuguc		60
	ccggccugug gaaga		75
10	<210> 89		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 89		
	cugggggcuc caaagugcug uucgugcagg uagugugauu acccaaccua cugcugagcu		60
	agcacuuccc gagccccgg		80
20	<210> 90		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 90		
	aacacagugg gcacucaaua aaugucuguu gaauugaaau gcguuacauu caacggguau		60
	uuauugagca cccacucugu g		81
30	<210> 91		
	<211> 78		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 91		
	uggccgauuu uggcacuagc acauuuuugc uugugucucu ccgcucugag caaucaugug		60
35	cagugccaau augggaaa		78
40	<210> 92		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 92		
	gugagcgacu guaaacaucc ucgacuggaa gcugugaagc cacagauggg cuuucagucg		60
45	gauguuugca gcugccuacu		80
50	<210> 93		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 93		
	gugagguagu aaguuguauu guuguggggg agggauauua ggccccauu agaagauaac		60
	uauacaacuu acuacuuucc		80

ES 2 536 438 T3

	<210> 94		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 94		
	ggcaccacc cguagaaccg accuugcggg gccuucgccg cacacaagcu cgugucugug		60
	gguccguguc		70
10	<210> 95		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 95		
	cccauuggca uaaacccgua gauccgaucu uguggugaag uggaccgcac aagcucgcuu		60
	cuaugggucu gugucagugu g		81
20	<210> 96		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 96		
	aagagagaag auauugaggc cuguugccac aaacccguag auccgaacuu gugguauuag		60
	uccgcacaag cuuguaucua uagguaugug ucuguuaggc aaucucac		108
30	<210> 97		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 97		
	ccuguugcca caaacccgua gauccgaacu ugugguauua guccgcacaa gcuuguaucu		60
35	auagguaugu gucuguuagg		80
40	<210> 98		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 98		
	aggcugcccu ggcucaguua ucacagugcu gaugcugucu auucuaaagg uacaguacug		60
45	ugauaacuga aggauggcag ccaucuuacc uuccaucaga ggagccucac		110
50	<210> 99		
	<211> 57		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 99		
	ucaguauca cagugcugau gcuguccauu cuaaagguac aguacuguga uaacuga 57		
	<210> 100		

ES 2 536 438 T3

	<211> 75		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 100		
	ugcccuggcu caguuaucac agugcugaug cugucuauuc uaaagguaca guacugugau	60	
	aacugaagga uggca	75	
	<210> 101		
10	<211> 79		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 101		
15	acuguccuuu uucgguauc augguaccga ugcuguaau cugaaaggua caguacugug	60	
	auaacugaag aaugguggu	79	
	<210> 102		
	<211> 75		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 102		
	uguccuuuuu cgguaucac gguaccgaug cuguauaucu gaaagguaca guacugugau	60	
25	aacugaagaa uggug	75	
	<210> 103		
	<211> 81		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 103		
	cuucuggaag cugguuucac auggugguu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaccu	60	
35	uugaaaucag uguuuuagga g	81	
	<210> 104		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 104		
	cuucaggaag cugguuucac auggugguu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccuu	60	
	ugaaaucagu guucuugggg g	81	
45	<210> 105		
	<211> 78		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 105		
	uugugcuuc agcuucuuu cagugcugcc uuguagcauu caggucaagc aacauuguac	60	
	agggcuuga aagaacca	78	

ES 2 536 438 T3

	<210> 106		
	<211> 78		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 106		
	uacugcccuc ggcuucuuua cagugcugcc uuguugcaua uggaucaagc agcauuguac		60
	agggcuauga aggcauug		78
10	<210> 107		
	<211> 78		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 107		
	aaaugucaga cagcccaucg acugguguug ccaugagauu caacagucua caucagucug		60
	auaagcuacc cgacaagg		78
20	<210> 108		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 108		
	ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cucaugcacc acggauguuu		60
	gagcaugugc uacggugucu a		81
30	<210> 109		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 109		
	ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cuuauugcacc acggauguuu		60
	gagcaugugc uauuggugucu a		81
40	<210> 110		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 110		
	ccuuggccau guaaaagugc uuacagugca gguagcuuuu ugagaucuaac ugcaauguaa		60
	gcacuucuaa cauuaccaug g		81
50	<210> 111		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
55	<400> 111		

ES 2 536 438 T3

	ccugccgggg cuaaagugcu gacagugcag auaguggucc ucuccgugcu accgcacugu	60
	ggguacuugc ugcuccagca gg	82
5	<210> 112 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 112	
	cucucugcuu ucagcuucuu uacaguguug ccuuguggca uggaguuca gacagcauugu	60
10	acagggcuau caaagcacag a	81
	<210> 113 <211> 90 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 113	
	acacugcaag aacaauaagg auuuuuaggg gcuuuugac ugagucagaa aacacagcug	60
20	ccccugaaag ucccucuuuu uucuuugcugu	90
	<210> 114 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 114	
	acugcaagag caauaaggau uuuuagggc auuauagauag uggauuggaa acacaucugc	60
	ccccaaaagu cccucuuuuu	80
30	<210> 115 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 115	
	ccuuagcaga gcuguggagu gugacaaugg uguuuugugc uaaacuauca aacgccauua	60
	ucacacuaaa uagcuacugc uaggc	85
40	<210> 116 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 116	
45	agcuguggag ugugacaaug guguuugugu ccaaacuauc aaacgccauu aucacacuaa	60
	auagcu	66
50	<210> 117 <211> 61 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 536 438 T3

	<400> 117		
		acaauauuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uaauaavgcg	60
		c	61
5	<210> 118 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 118	aggccucucu succguguuc acagcggacc uugauuuaaa uguccauaca auuaaggcac	60
		gcggugaaug ccaagaavgg ggcug	85
15	<210> 119 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 119	aucaagauua gaggcucugc ucuccguguu cacagcggac cuugauuuua ugucauacaa	60
		uuuaggcacg cggugaavgc caagagcggg gccuacggcu gcacuugaag	110
25	<210> 120 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 120	ugagggcccc ucugcguguu cacagcggac cuugauuuua ugucuuuaca auuaaggcac	60
30		gcggugaaug ccaagagagg cgccucc	87
35	<210> 121 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 121	cucugcgugu ucacagcggg ccuugauuuu augucuauac auuaaggca cgcggugaau	60
40		gccaagag	68
45	<210> 122 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 122	cucuccgugu ucacagcggg ccuugauuuu augucuauaca auuaaggcac gcggugaavg	60
		ccaagag	67
50	<210> 123 <211> 86 <212> ARN		

ES 2 536 438 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 123	
	ugccagucuc uaggucccug agaccuuua accugugag acauccaggg ucacagguga	60
5	gguuc <u>u</u> ggg agccuggcgu cuggcc	86
	<210> 124	
	<211> 65	
	<212> ARN	
10	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 124	
	ggucccugag acccuuaac cugugaggac auccaggguc acaggugagg uuc <u>u</u> gggag	60
	ccugg	65
15	<210> 125	
	<211> 88	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 125	
	ugcgcuccuc ucagucccug agaccuaac uugugaugu uaccguuaa auccacgggu	60
	uaggcucuug ggagcugcga gucgugcu	88
25	<210> 126	
	<211> 89	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 126	
	accagacuuu uccuaguccc ugagaccua acuugugag uauuuagua acaucacaag	60
	ucaggcucu uggaccuagg cggagggga	89
35	<210> 127	
	<211> 85	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 127	
	cgcuggcgac gggacauuau uacuuuuggu acgcgugug acacuucaa cucguaccgu	60
	gaguaaau ggc <u>cc</u> gucca cggca	85
	<210> 128	
	<211> 61	
45	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 128	
	acauuuuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaa <u>ac</u> uc guaccgugag uaaua <u>aug</u> cg	60
50	c	61
	<210> 129	

ES 2 536 438 T3

	<211> 97		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 129		
	ugugaucacu gucuccagcc ugcugaagcu cagagggcuc ugauucagaa agaucaucgg		60
	auccgucuga gcuuggcugg ucggaagucu caucauc		97
	<210> 130		
10	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 130		
15	ccagccugcu gaagcucaga gggcucugau ucagaaagau caucggaucc gucugagcuu		60
	ggcuggucgg		70
	<210> 131		
	<211> 82		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 131		
	ugagcuguug gauucggggc cguagcacug ucugagaggu uuacauuucu cacagugaac		60
25	cggucucuuu uucagcugcu uc		82
	<210> 132		
	<211> 110		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 132		
	gcccggcagc cacugugcag ugggaagggg ggccgauaca cuguacgaga gugaguagca		60
35	ggucucacag ugaaccgguc ucuuuccua cugugucaca cuccuaaugg		110
	<210> 133		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 133		
	guuggauucg gggccguagc acugucugag agguuuacau uucucacagu gaaccggucu		60
	cuuuuucagc		70
45	<210> 134		
	<211> 74		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 134		
	uggaucuuuu ugcggucugg gcuugcuguu ccucucaaca guagucagga agcccuuacc		60
	ccaaaaagua ucua		74

ES 2 536 438 T3

	<210> 135		
	<211> 90		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 135		
	ugcccuucgc gaauuuuuu gcgucuggg cuugcuguac auaacucau agccggaagc		60
	ccuuacccca aaaagcauuu gcgaggggcg		90
10	<210> 136		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 136		
	ugcugcuggc cagagcucuu uucacauugu gcuacugucu gcaccuguca cuagcagugc		60
	aauguuaaaa gggcauuggc cguguagug		89
20	<210> 137		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 137		
	gccaggaggc gggguugguu guuauuuug guuaucuagc ugaugagug guguggaguc		60
	uucuuuuagc uaguuuaccg aaaguuuuuu uuuuuuuuuu cacugcgcag		110
30	<210> 138		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 138		
	cacggcgcgg cagcggcacu ggcuaagggg gggccguuuc ucucuuggu uaucuagcug		60
	uauagugucc acagagccgu cauuuagcua guuuuuuuuu aguaguuuuu		110
40	<210> 139		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 139		
	guuuuuuuuu uuuuuuuuuu agcuguuuga guuuuuuuuu cuuuuuuuuu cuuuuuuuuu		60
	gaauuuuuuu ac		72
50	<210> 140		
	<211> 101		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 140		

ES 2 536 438 T3

	ccgccccgc gucuccaggg caaccguggc uuucgauugu uacuguggga acuggaggua	60
	acagucuaca gccauggucg ccccgagca cgcccacgcg c	101
5	<210> 141 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 141	
	gggcaaccgu ggcuuucgau uguuacugug ggaacuggag guaacagucu acagccaugg	60
10	ucgccc	66
15	<210> 142 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 142	
	acaaugcuuu gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuucaaug gauuuggucc	60
20	ccuucaacca gcuguagcua ugcauuga	88
25	<210> 143 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 143	
	gggagcctaaa ugcuuugcua gagcugguaa aauggaacca aaucgacugu ccaauggauu	60
	ugguccccuu caaccagcug uagcugugca uugauggcgc cg	102
30	<210> 144 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 144	
	gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuucaaug gauuuggucc ccuucaacca	60
	gcuguagc	68
40	<210> 145 <211> 119 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 145	
45	ccucagaaga aagaugcccc cugcucuggc uggucaaaacg gaaccaaguc cgucuuccug	60
	agagguuugg uccccuucac ccagcuacag cagggcuggc aaugcccagu ccuuggaga	119
50	<210> 146 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 536 438 T3

	<400> 146		
	gccccugcu cuggcugguc aaacggaacc aaguccgucu uccugagagg uuuggucccc	60	
	uucaaccagc uacagcaggg	80	
5	<210> 147 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 147		
	cagggugugu gacugguuga ccagaggggc augcacugug uucaccugug gggccaccua	60	
	gucaccaacc cuc	73	
15	<210> 148 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 148		
	agggugugug acugguugac cagaggggca ugcacugugu ucaccugug ggccaccuag	60	
	ucaccaaccc u	71	
25	<210> 149 <211> 90 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 149		
	aggccucgcu guucucuaug gcuuuuuauu ccuaugugau ucuacugcuc acucauauag	60	
30	ggauuggagc cguggcgcac ggcggggaca	90	
35	<210> 150 <211> 100 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 150		
	agauaaaauuc acucuagugc uuuauggcuu uuuaauccua ugugauagua auaaagucuc	60	
40	auguagggau ggaagccaug aaauacauug ugaaaaauca	100	
45	<210> 151 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 151 cuauuggcuuu uuauuccuau gugauucuaug ugcucacuca uauagggauu ggagccgugg 60		
50	<210> 152 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
55	<400> 152		

ES 2 536 438 T3

	cacucugcug uggccuaugg cuuuucauuc cuaugugauu gcugucccaa acucauguag	60
	ggcuaaaagc caugggcuac agugaggggc gagcucc	97
5	<210> 153 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 153	
	ugagcccucg gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc	60
10	aaugagucu ucagaggguu cu	82
15	<210> 154 <211> 62 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 154	
	gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc aaugagucu	60
20	uc	62
25	<210> 155 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 155	
	cuucggugac ggguaauucuu ggguggauaa uacggauuac guuguuauug cuuaagaaua	60
	cgcguaugucg agg	73
30	<210> 156 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 156	
	cccuggcaug gugugguggg gcagcuggug uugugaauc ggccguugcc aaucagagaa	60
	cggcuacuuc acaacaccag ggccacacca cacuacagg	99
40	<210> 157 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 157	
	cguugcugca gcugguguug ugaaucaggc cgacgagcag cgcauccucu uacccggcua	60
	uuucacgaca ccaggguugc auca	84
50	<210> 158 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 536 438 T3

	<400> 158		
		cagcuggugu ugugaaucag gccgacgagc agcgcauccu cuuacccggc uauuucacga	60
		caccaggguu g	71
5	<210> 159 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 159		
		guguauucua cagugcacgu gucuccagug uggcucggag gcuggagacg cggcccuguu	60
		ggaguaac	68
15	<210> 160 <211> 100 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 160		
		ugugucucuc ucuguguccu gccagugguu uuacccuaug guagguuacg ucaugcuguu	60
		cuaccacagg guagaaccac ggacaggaua cgggggcacc	100
25	<210> 161 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 161		
		uccugccagu gguuuuaccc uaugguaggu uacgucaugc uguucuacca caggguagaa	60
30		ccacggacag ga	72
35	<210> 162 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 162		
		ccugccagug guuuuacccu augguaggu acgucaugcu guucuaccac aggguagaac	60
40		cacggacagg	70
45	<210> 163 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 163		
		cggccggccc uggguccauc uuccaguaca guguuggaug gucuaauugu gaagcuccua	60
		acacugucug guaaagaugg cucccgggug gguuc	95
50	<210> 164 <211> 72 <212> ARN		

ES 2 536 438 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 164	
	ggguccaucu uccaguacag uguuggaugg ucuaauugug aagcuccuaa cacugucugg	60
5	uaaagauggc cc	72
	<210> 165	
	<211> 64	
	<212> ARN	
10	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 165	
	acccauaaag uagaaagcac uacuaacagc acuggagggg guaguguuuc cuacuuuug	60
	gaug	64
15	<210> 166	
	<211> 106	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 166	
	gcgcagcgcc cugucucca gccugaggug cagugcugca ucucugguca guugggaguc	60
	ugagaugaag cacuguagcu caggaagaga gaaguuguuc ugcagc	106
25	<210> 167	
	<211> 63	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 167	
	ccugaggugc agugcugcau cucuggucag uugggagucu gagaugaagc acuguagcuc	60
	agg	63
35	<210> 168	
	<211> 86	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 168	
	uggggcccug gcugggauau caucauauac uguaaguug cgaugagaca cuacaguaua	60
	gaugauguac uaguccgggc accccc	86
45	<210> 169	
	<211> 66	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 169	
	ggcugggaua ucaucauaua ciguaaguuu gcgaugagac acuacaguau agaugaugua	60
50	cuaguc	66
	<210> 170	

ES 2 536 438 T3

	<211> 88		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 170		
	caccuugucc ucacggucca guuuucccag gaaucccuua gaugcuaaga uggggauucc		60
	uggaaauacu guucuugagg ucaugguu		88
	<210> 171		
10	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 171		
15	cucacggucc aguuuuucca ggaaucccuu agaugcuaag auggggauuc cuggaaauac		60
	uguucuugag		70
	<210> 172		
	<211> 99		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 172		
	ccgaugugua uccucagcuu ugagaacuga auuccauggg uugugucagu gucagaccuc		60
25	ugaaaauucag uucuucagcu gggauaucuc ugucaucgu		99
	<210> 173		
	<211> 65		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 173		
	agcuuugaga acugaaaucc auggguugug ucagugucag accugugaaa uucaguucuu		60
	cagcu		65
35	<210> 174		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 174		
	aaucuaaaga caacauuucu gcacacacac cagacuaugg aagccagugu guggaaaugc		60
	uucugcuaga uu		72
	<210> 175		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 175		
	gaggcaaagu ucugagacac uccgacucug aguaugauag aagucagugc acuacagaac		60
	uuugucuc		68

ES 2 536 438 T3

	<210> 176		
	<211> 99		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 176		
	caagcacgau 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		
	aagcacgauu agcauuugag gugaaguucu guuauacacu caggcugugg cucucugaaa	60	
	gucagugcau	70	
20	<210> 178		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 178		
	gccggcgccc gagcucuggc uccgugucuu cacucccgug cuuguccgag gagggagggg	60	
	gggacggggg cugugcuggg gcagcugga	89	
30	<210> 179		
	<211> 53		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 179		
	gcucuggcuc cgugucuca cucccgugcu uguccgagga gggagggagg gac 53		
40	<210> 180		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 180		
	cuccccaugg ccugucucc caaccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg	60	
	ccuggggggac agggaccugg ggac	84	
45	<210> 181		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 181		
	ccugucucc caaccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg ccuggggggac	60	
	aggg	64	
55	<210> 182		
	<211> 72		
	<212> ARN		

ES 2 536 438 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 182	
	uuuccugccc ucgaggagcu cacagucuag uaugucucau cccuacuag acugaagcuc	60
5	cuugaggaca gg	72
	<210> 183	
	<211> 69	
	<212> ARN	
10	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 183	
	ccuguccuca aggagcuuca gucuaguagg ggaugagaca uacuagacug ugagcuccuc	60
	gagggcagg	69
15	<210> 184	
	<211> 87	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 184	
	ugucuuuuuu ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucagugc	60
	augacagaac uugggccccg aaggacc	87
25	<210> 185	
	<211> 71	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 185	
	ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucagugc augacagaac	60
	uugggccccg g	71
35	<210> 186	
	<211> 90	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 186	
	cucacagcug ccagugucou uuuugugauc ugcagcuagu auucucacuc caguugcaua	60
	gucacaaaag ugaucuuugg cagguguggc	90
45	<210> 187	
	<211> 71	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 187	
	ucucucucuc ccucacagcu gccaguguca uugucacaaa agugaucauu ggcaggugug	60
50	gcugcugcau g	71
	<210> 188	

ES 2 536 438 T3

	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 188		
	agcgguggcc agugucauuu uugugauguu gcagcuagua auaugagccc aguugcauag	60	
	ucacaaaagu gaucauugga aacugug	87	
10	<210> 189		
	<211> 69		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 189		
	cagugucauu uuugugaugu ugcagcuagu aaauaugagcc caguugcaua gucacaaaag	60	
	ugaucauug	69	
20	<210> 190		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 190		
	gugguacuug aagauagguu auccguguug ccuucgcuu auuugugacg aaucacuacac	60	
	gguugaccua uuuuucagua ccaa	84	
30	<210> 191		
	<211> 66		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 191		
	gaagauaggu uauccguguu gccuucgcuu uauuugugac gaucacuaca cgguugaccu	60	
35	auuuuu	66	
40	<210> 192		
	<211> 65		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 192		
	cuguuaaugc uaaucgugau agggguuuu gccuccaacu gacuccuaca uauuagcauu	60	
45	aacag	65	
50	<210> 193		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 193		
	ccuaacacug ucugguaaag auggcucccg gguggguucu cucggcagua accuucaggg	60	
	agcccugaag accauggagg ac	82	
55	<210> 194		

ES 2 536 438 T3

	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 194		
	gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucuccc	60	
	cucuggcugc caauuccaau ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110	
10	<210> 195		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 195		
	ucccgcccc uguaacagca acuccaugug gaagugccca cugguuccag uggggcugcu	60	
	guuauucuggg gcgagggcca	80	
20	<210> 196		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 196		
	aaagcugggu ugagagggcg aaaaaggaug aggugacugc ucugggcuac gcuaugcugc	60	
	ggcgcucggg	70	
30	<210> 197		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 197		
	cauuggccuc cuaagccagg gauugugggu ucgaguccca cccgggguaa agaaaggccg	60	
35	aaau	64	
40	<210> 198		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 198		
	ccuaagccag ggauuguggg uucgaguccc accuggggua gaggugaaag uuccuuuuac	60	
45	ggaauuuuuu	70	
50	<210> 199		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 199		
	caaugucagc agugccuuag cagcacguaa auauuggcgu uaagauucua aaauuauuc	60	
	caguauuaac ugugcugcug aaguaagguu gaccuauuc uacaguug	108	
55	<210> 200		

ES 2 536 438 T3

	<211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 200		
	gggcuuucaa gucacuagug guuccguuuu guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60	
	gcccuaaguga cuacaaagcc c	81	
10	<210> 201 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 201		
	acgcaagugu ccuaagguga gcucagggag cacagaaacc uccaguggaa cagaagggca	60	
	aaagcucauu	70	
20	<210> 202 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 202		
	caugugucac uuucaggugg aguuucaaga gucccuuccu gguucaccgu cuccuuugcu	60	
25	cuuccacaac	70	
30	<210> 203 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 203		
	agaagggcua ucagggcagc cuucagagga cuccaaggaa cauucaacgc ugucggugag	60	
35	uuugggauuu gaaaaaacca cugaccguug acuguaccuu gggguccuaa	110	
40	<210> 204 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 204		
	ccugugcaga gauuauuuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug	60	
	aacugugugg acaagcucac ugaacauga augcaacugu ggccccgcuu	110	
45	<210> 205 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 205		
	cugauggcug cacucaacau ucauugcugu cgguggguuu gagucugaau caacucacug	60	
	aucaaugaa gcaaacugcg gaccaaaca	89	

ES 2 536 438 T3

	<210> 206		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 206		
	cggaaaauuu gccaaaggguu ugggggaaca uucaaccugu cggugaguuu gggcagcuca		60
	ggcaaaccuau cgaccguuga guggaccug aggccuggaa uugccauccu		110
10	<210> 207		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 207		
	gagcugcuug ccuc(ccccc)g uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg		60
	auccgguggu ucuagacuug ccaacuauagg ggcgaggacu cagccggcac		110
20	<210> 208		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 208		
	uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg auccgguggu ucuagacuug		60
	ccaacuauagg		70
30	<210> 209		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 209		
	ccgcagagug ugacuccugu ucuguguaug gcacugguag aaucacugu gaacagucuc		60
35	agucagugaa uuaccgaagg gccauaaaca gagcagagac agauccacga		110
40	<210> 210		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 210		
	ccagucacgu ccccuuauca cuuuuccagc ccagcuuugu gacuguaagu guuggacgga		60
45	gaacugauaa ggguaagguga uuga		84
50	<210> 211		
	<211> 65		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 211		

ES 2 536 438 T3

	ccuuaucacu uuuccagccc agcuuuguga cuguaagugu uggacggaga acugauaagg	60
	guagg	65
5	<210> 212 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 212	
	agggggcgag ggauuggaga gaaaggcagu uccugauggu cccucuccca ggggcuggcu	60
10	uuccucuggu ccuucccucc ca	82
15	<210> 213 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 213	
	agggauugga gagaaaggca guuccugaug guccccucc caggggcugg cuuuccucug	60
20	guccuu	66
25	<210> 214 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 214	
	ugcuuguaac uuuccaaaga auucuccuuu ugggcuuucu gguuuuuuu uaagcccaa	60
	ggugaauuuu uugggaaguu ugagcu	86
30	<210> 215 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 215	
	acuuuccaaa gaauucuccu uuugggcuuu cugguuuuau uuuaagccca aaggugaauu	60
	uuuugggaag u	71
40	<210> 216 <211> 109 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 216	
	ggucgggcuc accaugacac agugugagac ucgggcuaaca acacaggacc cggggcgcug	60
	cucugacccc ucgugucuug uguugcagcc ggagggacgc agguccgca	109
50	<210> 217 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 536 438 T3

	<400> 217		
	ugcuccucu cucacaucc uugcauggug gagggugagc uuucugaaaa cccucccac	60	
	augcaggguu ugcaggaugg cgagcc	86	
5	<210> 218 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 218		
	ucucacaucc cuugcauggu ggagggugag cuuucugaaa accccuccca caugcagggu	60	
	uugcagga	68	
15	<210> 219 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 219		
	cugucgauug gacccgcccu ccggugccua cugagcugau aucaguucuc auuuuacaca	60	
	cuggcucagu ucagcagga caggagucga gcccuugagc aa	102	
25	<210> 220 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 220		
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg	60	
30	aacaggag	68	
35	<210> 221 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 221		
	ugcaggccuc ugugugauau guuugauaua uuagguuguu auuuaucca acuaauauuc	60	
40	aaacauauuc cuacaguguc uugcc	85	
45	<210> 222 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 222		
	cugugugaua uguuugauau auuagguugu uauuuaucc aacuaauau caaacauuu	60	
	ccuacag	67	
50	<210> 223 <211> 92 <212> ARN		

ES 2 536 438 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 223	
	cggcuggaca gcgggcaacg gaaucctaaa agcagcuguu gucuccagag cauuccagcu	60
5	gcgcuuggau uucgucctccu gcucuccugc cu	92
	<210> 224	
	<211> 74	
	<212> ARN	
10	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 224	
	agcgggcaac ggaaucccaa aagcagcugu ugucuccaga gcauuccagc ugcgcuugga	60
	uuucgucctcc ugcu	74
15	<210> 225	
	<211> 108	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 225	
	ccgagaccga gugcacaggg cucugaccua ugaauugaca gccagugcuc ucgucucctcc	60
	ucuggcugcc aaauccauag gucacaggua uguucgccuc aaugccag	108
25	<210> 226	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 226	
	gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucucctcc	60
	cucuggcugc caauccaua ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110
35	<210> 227	
	<211> 88	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 227	
	cgaggauagg agcugagggc ugggucuuug cgggagagau gaggugugc gaucaacugg	60
	ccuacaaagu cccaguucuc ggctctccg	88
45	<210> 228	
	<211> 58	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 228	
	gcugggucuu ugcgggagcag augagggugu cggaucaacu ggccuacaaa guccagu 58	
	<210> 229	
	<211> 85	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 536 438 T3

	<400> 229		
	augguguuau caaguguaac agcaacucca uguggacugu guaccaauuu ccaguggaga		60
	ugcuguuacu uuugaugguu accaa		85
5	<210> 230 <211> 63 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 230		
	guguaacagc aacuccaugu ggacugugua ccaauuucca guggagaugc uguuacuuuu		60
	gau		63
15	<210> 231 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 231		
	agcuucccug gcucuagcag cacagaaaua uuggcacagg gaagcgaguc ugccaauuu		60
	ggcugugcug cuccaggcag gguggug		87
25	<210> 232 <211> 58 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 232 uagcagcaca gaaauauugg cacaggaag cgagucugcc aauauuggcu gucugcu 58		
35	<210> 233 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 233		
	cuagagcuug aauuggaacu gcugagugaa uuagguagu ucauguuguu gggccugggu		60
	uucugaacac aacaacaua aaccaccga uucacggcag uuacugcucc		110
40	<210> 234 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 234		
	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc ugguuuucug aacacaaca cauuaaacca		60
	cccgaucac		70
50	<210> 235 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 235		

ES 2 536 438 T3

	ugcucgcuca gcugaucugu ggcuuaggua guuucauguu guugggauug aguuuugaac	60
	ucggcaacaa gaaacugccu gaguacauc agucgguuuu cgucgagggc	110
5	<210> 236 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 236	
10	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc ugguuuucug aacacaacaa cauuaaacca	60
	cccgauucac	70
15	<210> 237 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 237	
	acuggucggu gauuuaggua guuuccuguu guugggaucc accuucucu cgacagcacg	60
20	acacugccuu cauuacuca guug	84
	<210> 238 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 238	
	ggcugugccg gguagagagg gcagugggag guaagagcuc uucacccuuc accaccuucu	60
	ccacccagca uggcc	75
30	<210> 239 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 239 gugcaugugu auguugugu gcaugugcau guguaugugu augagugcau gcgugugugc 60	
40	<210> 240 <211> 62 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 240	
45	ucauuggucc agaggggaga uagguuccug ugauuuuucc uucuucucua uagaauaaau	60
	ga	62
50	<210> 241 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 241	

ES 2 536 438 T3

	gccaaaccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac	60
	auugguuagg c	71
5	<210> 242 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 242	
	aggaagcuuc uggagauccu gcuccgucgc cccaguguuc agacuaccug uucaggacaa	60
10	ugccguugua caguagucug cacauugguu agacugggca agggagagca	110
15	<210> 243 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 243	
	ccagaggaca ccuccacucc gucuaccag uguuuagacu aucuguucag gacucccaaa	60
20	uuguacagua gucugcacau ugguuaggcu gggcuggguu agaccucgg	110
25	<210> 244 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 244	
	gccaaaccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac	60
	auugguuagg c	71
30	<210> 245 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 245	
	gccguggcca ucuuacuggg cagcauugga uggagucagg ucucuaauac ugccugguaa	60
	ugaugacggc	70
40	<210> 246 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 246	
45	ccagcucggg cagccguggc caucuucug ggcagcauug gauggaguca ggucucuaau	60
	acugccuggu aaugaugacg gcggagcccu gcacg	95
50	<210> 247 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 536 438 T3

	<400> 247		
		cccucgucuu acccagcagu guuugggugc gguugggagu cucuaauacu gccggguaau	60
		gauggagg	68
5	<210> 248 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 248		
		guuccuuuuu ccuaugcaua uacuucuuug aggaucuggc cuaaagaggu auagggcaug	60
		ggaagaugga gc	72
15	<210> 249 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 249		
		guguugggga cucgcgcgcu gguccagug guucuaaca guucaacagu ucuguagcgc	60
		aaugugaaa uguuuaggac cacuagacc gccgggcgcg gcgacagcga	110
25	<210> 250 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 250		
		ggcuacaguc uuucuucaug ugacucgugg acuucccuuu gucauccuau gccugagaau	60
30		auaugaagga ggcugggaag gcaaaggac guucaauugu caucacuggc	110
35	<210> 251 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 251		
		aaagauccuc agacaaucca ugugcuucuc uuguccuuca uuccaccgga gucugucuca	60
40		uacccaacca gauuucagug gagugaaguu caggaggcau ggagcugaca	110
45	<210> 252 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 252		
		ugcuucccga ggccacaugc uucuuuauau ccccauagg auuacuuugc uauggaaugu	60
		aaggaagugu gugguuucgg caagug	86
50	<210> 253 <211> 69 <212> ARN		

ES 2 536 438 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 253	
	aggccacaug cuucuuuaua ucccacauug gauuacuuug cuauggaag uaaggaagug	60
5	ugugguuuu	69
	<210> 254	
	<211> 71	
	<212> ARN	
10	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 254	
	ugacgggcga gcuuuuggcc cggguauac cugaugcuca cguauaagac gagcaaaaag	60
	cuuguugguc a	71
15	<210> 255	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 255	
	acccggcagu gccuccaggc gcagggcagc cccugcccac cgcacacugc gcugccccag	60
	acccacugug cgugugacag cggcugaucu gugccugggc agcgcgaccc	110
25	<210> 256	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 256	
	ucaccuggcc augugacuug ugggcuuccc uuugucaucc uucgccuagg gcucugagca	60
	gggcagggac agcaaagggg ugcucaguug ucacuuccca cagcacggag	110
35	<210> 257	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 257	
40	cggggcaccc cgcccggaca gcgcgccggc accuuggcuc uagacugcuu acugcccggg	60
	ccgcccucag uaacagucuc cagucacggc caccgacgcc uggccccgcc	110
	<210> 258	
	<211> 110	
45	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 258	
	ccugugcaga gauuauuuuu uaaaaggguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug	60
50	aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu	110
	<210> 259	

ES 2 536 438 T3

	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 259		
	gaguuuugag guugcuucag ugaacauuca acgcugucgg ugaguugga auuaaaauca	60	
	aaaccaucga ccguugauug uaccuauugg cuaaccauca ucuacucc	108	
	<210> 260		
10	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 260		
15	ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc	60	
	gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu	110	
	<210> 261		
20	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 261		
	aucaucaga aaugguauac aggaaauga ccuaugaaau gacagacaau auagcugagu	60	
25	uugucuguca uuucuuuagg ccaauauucu guaugacugu gcuacuucaa	110	
	<210> 262		
30	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 262		
	gauggcugug aguuggcuua aucucagcug gcaacuguga gauguucaua caaucccuca	60	
35	caguggucuc ugggauuauug cuaaacagag caauuuccua gccucacga	110	
	<210> 263		
40	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 263		
	aguauaaaua uuacauaguu uuugaugucg cagauacugc aucaggaacu gauuggauaa	60	
	gaucaguca ccaucaguuc cuaaugcauu gccuucagca ucuaaacaag	110	
45	<210> 264		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 264		
	gugauaaugu agcgagauuu ucuguugucg uugaucuaac caugugguug cgagguauga	60	
	guaaaacaug guuccgucaa gcaccaugga acgucacgca gcuuucuaca	110	

ES 2 536 438 T3

<210> 265
 <211> 110
 <212> ARN
 5 <213> *Homo sapiens*

 <400> 265
gaccagucgc ugcggggcuu uccuuugugc uugaucuaac cauguggugg aacgauggaa 60
acggaacaug guucuguca gacccgcgga aagcaccgug cucuccugca 110
 10
 <210> 266
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 266
ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuau ggcuccggcc 60
gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gccccaaac cucgagcggg 110
 20
 <210> 267
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <400> 267
ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuau ggcuccggcc 60
gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gccccaaac cucgagcggg 110
 30
 <210> 268
 <211> 97
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 268
acucaggggc uucgccacug auuguccaaa cgcaauucuu guacgagucu gcgccaacc 60
gagaauugug gcuggacauc uguggcugag cuccggg 97
 40
 <210> 269
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 269
gacagugugg cauuguaggg cuccacaccg uaucugacac uuugggcgag ggcaccaugc 60
 45
ugaagguguu caugaugcgg ucugggaacu ccucacggau cuuacugaug 110
 50
 <210> 270
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 270

ES 2 536 438 T3

	ugaacaucca ggucuggggc augaaccugg cauacaaugu agauuucugu guucguuagg	60
	caacagcuac auugucugcu ggguuucagg cuaccuggaa acauguucuc	110
5	<210> 271 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 271	
	gcugcuggaa gguguaggua cccucaaugg cucaguagcc aguguagauc cugucuuucg	60
10	uaaucagcag cuacaucugg cuacuggguc ucugauggca ucuucuagcu	110
15	<210> 272 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 272	
	ccuggccucc ugcagugcca cgcuccgugu auuugacaag cugaguugga cacuccaugu	60
20	gguagagugu caguuuugua aauaccccaa gugcggcaca ugcuuaccag	110
25	<210> 273 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 273	
	gggcuuucua gucacuagug guuccguua guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
	gcccuauguga cuacaaagcc c	81
30	<210> 274 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 274 caaucuuccu uaucauggu auugauuuuu cagugcuucc cuuuugugug agagaagaua 60	
40	<210> 275 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 275	
	aggaccuuc cagagggccc ccccucauc cuguugugcc uaaucagag gguugggugg	60
45	aggcucuccu gaagggcucu	80
50	<210> 276 <211> 63 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 276	

ES 2 536 438 T3

	aagaaauggu uuaccguccc acauacauuu ugaauaugua ugugggaugg uaaaccgcuu	60
	cuu	63
5	<210> 277 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 277	
	acugcuaacg aaugcucuga cuuuauugca cuacuguacu uuacagcuag cagugcaaua	60
10	guauugucaa agcaucugaa agcagg	86
15	<210> 278 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 278	
	ccaccacuua aacguggaug uacuugcuuu gaaacuaaag aaguaagugc uccauguuu	60
20	uggugaugg	69
25	<210> 279 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 279	
	gcucccuuca acuuuaacau ggaagugcuu ucugugacuu uaaaaguaag ugcuuccaug	60
30	uuuuaguagg agu	73
35	<210> 280 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 280	
	ccuuugcuuu aacauggggg uaccugcugu gugaaacaaa aguaagugcu uccauguuuc	60
40	aguggagg	68
45	<210> 281 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 281	
	ccucuacuuu aacauggagg cacuugcugu gacaugacaa aaauaagugc uccauguuu	60
50	gagugugg	68
	<210> 282 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 536 438 T3

	<400> 282	
	gcuucgcucc ccuccgccuu cucuucccg g uucuuucccg agucgggaaa agcuggguug	60
	agagggcgaa aaaggaugag gu	82
5	<210> 283 <211> 59 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 283 uuggccuccu aagccagga uugugguuc gaguccacc cgggguaag aaaggccga 59	
	<210> 284 <211> 86	
15	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 284	
	uugguacuug gagagaggug guccguggcg cguucgcuu auuuauaggcg cacauuacac	60
20	ggucgaccuc uuugcaguau cuaauc	86
	<210> 285 <211> 83 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 285	
	cugacuaugc cuccccgc au ccccuagggc auugguguaa agcuggagac ccacugcccc	60
	aggugcugcu gggggguugua guc	83
30	<210> 286 <211> 98 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 286	
	auacagugcu ugguuccuag uaggugucca guaaguguu gugacauau uuguuuauug	60
	aggaccuccu aucaaucaag cacugugcua ggcucugg	98
40	<210> 287 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 287	
	cucaucuguc uguugggug gaggcagggc cuuugugaag gcggguggug cucagaucgc	60
	cucugggcc uuccuccagc cccgagggcg auuca	95
50	<210> 288 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 288	

	uggagugggg gggcaggagg ggcucaggga gaaagugcau acagccccug gccucucug	60
	cccuuccguc ccug	75
5	<210> 289 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 289	
10	cuuuggcgau cacugccucu cugggccugu gucuuaaggcu cugcaagauc aaccgagcaa	60
	agcacacggc cugcagagag gcagcgcucu gccc	94
15	<210> 290 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 290	
	gaguuuugguu uuguuuugggu uuguucuagg uaugguccca gggaucccag aucaaaccag	60
20	gccccugggc cuauccuaga accaaccuaa gcuc	94
25	<210> 291 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 291	
	uguuuugagc gggggucaag agcaauaacg aaaauguuu gucauaaacc guuuuucuu	60
30	auugcuccug accuccucuc auuugcuaua uuca	94
35	<210> 292 <211> 93 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 292	
	guagucagua guuggggggu gggaacggcu ucauacagga guugaugcac aguuauccag	60
40	cuccuauaug augccuuucu ucauccccuu caa	93
45	<210> 293 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 293	
	ucuccaacia uauccuggug cugagugaug acucaggcga cuccagcauc agugauuuug	60
50	uugaaga	67
	<210> 294 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 536 438 T3

	<400> 294		
	cggggcggcc gcucuccug uccuccagga gcucacgugu gccugccugu gagcggccug	60	
	acgacagagc cggcggccug cccagugucu gcgc	94	
5	<210> 295 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 295		
	uuguaccugg ugugauuaua aagcaaugag acugauuguc auaugucguu ugugggaucc	60	
	gucucaguua cuuuauagcc auaccuggua ucuua	95	
15	<210> 296 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 296		
	gaaacugggc ucaaggugag gggugcuauc ugugauugag ggacaugguu aauggaaug	60	
	ucucacacag aaaucgcacc cgucaccuug gccuacuua	99	
25	<210> 297 <211> 98 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 297		
	acccaaacc uaggucugcu gacuccuagu ccagggcucg ugauggcugg ugggccuga	60	
30	acgagggguc uggaggccug gguuugaaua ucgacagc	98	
35	<210> 298 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 298		
	gucugucugc ccgcaugccu gccucucugu ugcucugaag gaggcagggg cugggccugc	60	
40	agcugccugg gcagagcggc uccugc	86	
45	<210> 299 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 299		
	ccaauacugu ugcuaauaug caacucuguu gaauauaaau uggaauugca cuuuagcaau	60	
	ggugaugg	68	
50	<210> 300 <211> 66 <212> ARN		

ES 2 536 438 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 300	
	aaaaggugga uauuccuucu auguuuangu uauuuauggu uaaacauaga ggaaauucca	60
5	cguuuu	66
	<210> 301	
	<211> 70	
	<212> ARN	
10	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 301	
	uugaaggag aucgaccgug uuauauucgc uuuauugacu ucgaauaaua caugguugau	60
	cuuuucucag	70
15	<210> 302	
	<211> 75	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 302	
	agacagagaa gccaggucac gucucugcag uuacacagcu cacgagugcc ugcuggggug	60
	gaaccugguc ugucu	75
25	<210> 303	
	<211> 67	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 303	
	guggcacuca aacugugggg gcacuuucug cucucuggug aaagugccgc caucuuuuga	60
	guguuac	67
35	<210> 304	
	<211> 67	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 304	
	gugggccuca aauguggagc acuaucuga uguccaagug gaaagugcug cgacauuuga	60
	gcgucac	67
45	<210> 305	
	<211> 69	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 305	
	gggauacuca aaaugggggc gcuuuccuuu uugucuguac ugggaagugc uucgauuuug	60
50	ggguguccc	69
	<210> 306	

ES 2 536 438 T3

	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 306		
	uacaucggcc auuauaaauac aaccugauaa guguuauagc acuuaucaga uuguauugua	60	
	auugucugug ua	72	
	<210> 307		
10	<211> 102		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 307		
15	auggagcugc ucaccugug ggccucaaau guggaggaac uauucugaug uccaagugga	60	
	aagugcugcg acauuugagc gucaccggug acgcccauau ca	102	
	<210> 308		
	<211> 101		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 308		
	gcaucccuc agccuguggc acucaaacug ugggggcacu uucugcucuc uggugaaagu	60	
25	gccgccaucu uuugaguguu accgcuugag aagacucaac c	101	
	<210> 309		
	<211> 102		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 309		
	cgaggagcuc auacugggau acucaaaug ggggcgcuuu ccuuuuuguc uguuacuggg	60	
35	aagugcuucg auuuuggggu gucccuguuu gaguagggca uc	102	
	<210> 310		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 310		
	ugagguagua gguuguauag uu 22		
	<210> 311		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 311		
50	ugagguagua gguugugugg uu 22		
	<210> 312		
	<211> 22		
	<212> ARN		
55	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 312		

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

<210> 321
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 321
 uaaagcuaga uaaccgaaag u 21
 <210> 322
 10 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 322
 15 uaccuguag auccgaauiu gug 23
 <210> 323
 <211> 22
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 323
 uaccuguag aaccgaauiu gu 22
 <210> 324
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <400> 324
 30 uagcagcaca uaaugguuug ug 22
 <210> 325
 <211> 22
 <212> ARN
 35 <213> *Homo sapiens*
 <400> 325
 uagcagcaca ucauguuuu ca 22
 40
 <210> 326
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 326
 uagcagcacg uaaauuugg cg 22
 <210> 327
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50
 <400> 327
 55 caaagugcuu acagucagg uagu 24
 <210> 328
 <211> 20
 <212> ARN
 60 <213> *Homo sapiens*
 <400> 328
 acugcaguga aggcacuugu 20
 <210> 329
 <211> 22
 65

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 329
 5 uaaggugcau cuagugcaga ua 22

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

 <400> 330
 ugugcaaauc uaugcaaaac uga 23

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

 20 <400> 331
 ugugcaaauc caugcaaaac uga 23

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

 <400> 332
 uaaagugcuu auagugcagg ua 22

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

 35 <400> 333
 uagcuuauca gacugauguu ga 22

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

 <400> 334
 45 aagcugccag uugaagaacu gu 22

 <210> 335
 <211> 21
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 335
 aucacauugc caggauuuc c 21

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

 60 <400> 336
 aucacauugc caggauuac cac 23

 <210> 337
 <211> 22
 65 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

- <400> 337
uggcucaguu cagcaggaac ag 22
- 5 <210> 338
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 10 <400> 338
cauugcacuu gucucggucu ga 22
- 15 <210> 339
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 20 <400> 339
uucaaguaau ccaggauagg cu 22
- 25 <210> 340
<211> 21
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 30 <400> 340
uucaaguaau ucaggauagg u 21
- 35 <210> 341
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 40 <400> 341
uucacagugg cuaaguuccg cc 22
- 45 <210> 342
<211> 20
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 50 <400> 342
uucacagugg cuaaguucug 20
- 55 <210> 343
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 60 <400> 343
aaggagcuca cagucuauug ag 22
- 65 <210> 344
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 70 <400> 344
cuagcaccau cugaaucgg uu 22
- 75 <210> 345
<211> 20
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 80 <400> 345
uagcaccauu ugaaucagu 20

<210> 346
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 346
 uagcaccuu ugaaucggu ua 22
 <210> 347
 10 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 347
 15 uguaaacauc cucgacugga agc 23
 <210> 348
 <211> 22
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 348
 cuucagucg gauguuugca gc 22
 <210> 349
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 349
 uguaaacauc cuacacucag c 21
 <210> 350
 <211> 23
 <212> ARN
 35 <213> *Homo sapiens*
 <400> 350
 uguaaacauc cuacacucuc agc 23
 40 <210> 351
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 351
 uguaaacauc cccgacugga ag 22
 <210> 352
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 352
 uguaaacauc cuugacugga 20
 <210> 353
 <211> 21
 <212> ARN
 60 <213> *Homo sapiens*
 <400> 353
 ggcaagaugc uggcauagcu g 21
 65 <210> 354
 <211> 21

- <212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 5 <400> 354
uauugcacau uacuaaguug c 21
- 10 <210> 355
<211> 19
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 15 <400> 355
gugcauugua guugcauug 19
- 20 <210> 356
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 25 <400> 356
uggcaguguc uuagcugguu gu 22
- 30 <210> 357
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 35 <400> 357
aggcaguguc auuagcugau ug 22
- 40 <210> 358
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 45 <400> 358
aggcagugua guuagcugau ug 22
- 50 <210> 359
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 55 <400> 359
uauugcacuu gucccggccu gu 22
- 60 <210> 360
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 65 <400> 360
aaagugcugu ucgugcaggu ag 22
- 70 <210> 361
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*
- 75 <400> 361
uucaacgggu auuuauugag ca 22
- 80 <210> 362
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

<400> 362
 uuuggcacua gcacauuuuu gc 22

5 <210> 363
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 363
 ugagguagua aguuguauug uu 22

15 <210> 364
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 364
 aaccgguaga uccgaucuug ug 22

20 <210> 365
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 365
 caccgguaga accgaccuug cg 22

30 <210> 366
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 366
 uacaguacug ugauaacuga ag 22

40 <210> 367
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 367
 uacaguacug ugauaacuga ag 22

45 <210> 368
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 368
 agcagcauug uacagggcua uga 23

55 <210> 369
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 369
 ucaaaugcuc agacuccugu 20

60 <210> 370
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

65 <400> 370
 aaaagugcuu acagugcagg uagc 24

<210> 371
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 371
 uaaagugcug acagugcaga u 21
 <210> 372
 10 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 372
 15 agcagcauug uacagggcua uca 23
 <210> 373
 <211> 23
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 373
 uggaguguga caaugguguu ugu 23
 25 <210> 374
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 374
 uuaaggcacg cggugaaugc ca 22
 <210> 375
 <211> 23
 <212> ARN
 35 <213> *Homo sapiens*
 <400> 375
 ucccugagac ccuuuaaccu gug 23
 40 <210> 376
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 376
 ucccugagac ccuaacuugu ga 22
 <210> 377
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 377
 cauuuuacu uuugguacgc g 21
 <210> 378
 <211> 21
 <212> ARN
 60 <213> *Homo sapiens*
 <400> 378
 ucguaccgug aguaauaaug c 21
 65 <210> 379
 <211> 22

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 379
 5 ucggaucCGU cUGagcuUGG cu 22

 <210> 380
 <211> 22
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 380
 ucacagUGAA cCGGUCUCUu uu 22

 15 <210> 381
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 20 <400> 381
 ucacagUGAA cCGGUCUCUu uc 22

 <210> 382
 <211> 21
 25 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 382
 CUUUUUGCGG ucUGGgCUUG c 21
 30
 <210> 383
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 383
 cagUGCAUG uUAAAAGGGc 20

 <210> 384
 40 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 384
 45 cagUGCAUG aUGAAAGGGc au 22

 <210> 385
 <211> 22
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 385
 uAACAGUCua cAGcCAUGGu cg 22

 55 <210> 386
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 60 <400> 386
 uUGGUCCCCu uCAACCAGcu gu 22

 <210> 387
 <211> 21
 65 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 387
 uugguccccu ucaaccagcu a 21

5 <210> 388
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 388
 ugugacuggu ugaccagagg g 21

15 <210> 389
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 389
 uauggcuuuu uauuccuaug uga 23

25 <210> 390
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 390
 uauggcuuuu cauuccuaug ug 22

35 <210> 391
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 391
 acuccauuug uuuugaugau gga 23

45 <210> 392
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 392
 uauugcuuaa gaauacgcgu ag 22

55 <210> 393
 <211> 17
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 393
 agcugguguu gugauc 17

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

70 <400> 394
 ucuacagugc acgugucu 18

75 <210> 395
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

80 <400> 395
 agugguuuuu cccuauggua g 21

<210> 396
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 396
 aacacugucu gguaaagaug g 21
 10
 <210> 397
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 397
 uguaguguuu ccuacuuuau gga 23
 20
 <210> 398
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 398
 cauaaaguag aaagcacuac 20
 25
 <210> 399
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30
 <400> 399
 ugagaugaag cacuguagcu ca 22
 35
 <210> 400
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 400
 uacaguuuag augauguacu ag 22
 40
 <210> 401
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 401
 guccaguuuu cccaggauc ccu 24
 50
 <210> 402
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 402
 ugagaacuga auuccauggg uu 22
 55
 <210> 403
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 403
 guguguggaa augcuucugc 20
 60
 <210> 404
 <211> 22
 65

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 404
 5 ucagugcacu acagaacuuu gu 22

 <210> 405
 <211> 22
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 405
 ucagugcauc acagaacuuu gu 22

 15 <210> 406
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 20 <400> 406
 ucuggcuccg ugucuucacu cc 22

 <210> 407
 <211> 22
 25 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 407
 ucucccaacc cuuguaccag ug 22
 30
 <210> 408
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 408
 acuagacuga agcucuuuga gg 22

 <210> 409
 40 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 409
 45 ucagugcaug acagaacuug g 21

 <210> 410
 <211> 20
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 410
 uugcauaguc acaaaaguga 20

 55 <210> 411
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 60 <400> 411
 uagguuaucc guguugccuu cg 22

 <210> 412
 <211> 22
 65 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 412
 aaucauacac gguugaccua uu 22

5 <210> 413
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 413
 uuaaugcuaa ucgugauagg gg 22

15 <210> 414
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 414
 aacauucaac gcugucggug agu 23

20 <210> 415
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 415
 aacauucauu gcugucggug gguu 24

30 <210> 416
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 416
 aacauucaac cugucgguga gu 22

40 <210> 417
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 417
 uuggcaaug guagaacuca ca 22

45 <210> 418
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 418
 ugguucuaga cuugccaacu a 21

55 <210> 419
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 419
 uaggcacug guagaauuca cug 23

60 <210> 420
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

65 <400> 420
 uggacggaga acugauaagg gu 22

<210> 421
 <211> 18
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 421
 uggagagaaa ggcaguuc 18
 <210> 422
 10 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 422
 15 caaagaauuc uccuuuuggg cuu 23
 <210> 423
 <211> 21
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 423
 ucgugucuug uguugcagcc g 21
 25 <210> 424
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 424
 caucccuugc augguggagg gu 22
 <210> 425
 <211> 23
 <212> ARN
 35 <213> *Homo sapiens*
 <400> 425
 gugccuacug agcugauauc agu 23
 40 <210> 426
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 426
 ugauauguuu gauauuuag gu 22
 <210> 427
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 427
 caacggauc ccaaaagcag cu 22
 <210> 428
 <211> 21
 <212> ARN
 60 <213> *Homo sapiens*
 <400> 428
 cugaccuauug aauugacagc c 21
 65 <210> 429
 <211> 21

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 429
 5 aacuggccua caaaguccca g 21

 <210> 430
 <211> 22
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 430
 uguaacagca acuccaugug ga 22

 15 <210> 431
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 20 <400> 431
 uagcagcaca gaaauauugg c 21

 <210> 432
 <211> 21
 25 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 432
 uagguaguuu cauguuguug g 21
 30
 <210> 433
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 433
 uagguaguuu ccuguuguug g 21

 <210> 434
 40 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 434
 45 uucaccaccu ucuccacca gc 22

 <210> 435
 <211> 19
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 435
 gguccagagg ggagauagg 19

 55 <210> 436
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 60 <400> 436
 cccaguguuc agacuaccug uuc 23

 <210> 437
 <211> 22
 65 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 437
 uacaguaguc ugcacauugg uu 22

5 <210> 438
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 438
 cccaguguuu agacuaucug uuc 23

15 <210> 439
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 439
 uaacacuguc ugguaacgau gu 22

25 <210> 440
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 440
 cucuaauacu gccugguaau gaug 24

35 <210> 441
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 441
 aaucacugccg gguaaugaug ga 22

45 <210> 442
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 442
 agagguauag ggcaugggaa ga 22

55 <210> 443
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 443
 gugaaauguu uaggaccacu ag 22

65 <210> 444
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

70 <400> 444
 uuuccuuugu cauccuaugc cu 22

75 <210> 445
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

80 <400> 445
 uccuucuuuc caccggaguc ug 22

<210> 446
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 446
 uggaauguaa ggaagugugu gg 22
 <210> 447
 10 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 447
 15 auaagacgag caaaaagcuu gu 22
 <210> 448
 <211> 21
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 448
 cugugcgugu gacagcggu g 21
 25 <210> 449
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 449
 uucccuuugu cauccuucgc cu 22
 <210> 450
 <211> 21
 <212> ARN
 35 <213> *Homo sapiens*
 <400> 450
 uaacagucuc cagucacggc c 21
 40 <210> 451
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 451
 accaucgacc guugauugua cc 22
 <210> 452
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 452
 55 acagcaggca cagacaggca g 21
 <210> 453
 <211> 21
 <212> ARN
 60 <213> *Homo sapiens*
 <400> 453
 augaccuauug aauugacaga c 21
 65 <210> 454
 <211> 21

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 454
 5 uaaucucagc uggcaacugu g 21

 <210> 455
 <211> 24
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 455
 uacugcauca ggaacugauu ggau 24

 15 <210> 456
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 20 <400> 456
 uugugcuuga ucuaaccaug u 21

 <210> 457
 <211> 21
 25 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 457
 ugauugucca aacgcaauuc u 21
 30
 <210> 458
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 458
 ccacaccgua ucugacacuu u 21

 <210> 459
 40 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 459
 45 agcuacauug ucugcugggu uuc 23

 <210> 460
 <211> 24
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 460
 agcuacaucu ggcuacuggg ucuc 24

 55 <210> 461
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 60 <400> 461
 ugucaguuug ucaaauacc c 21

 <210> 462
 <211> 23
 65 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 462
 caagucacua gugguuccgu uua 23

5 <210> 463
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 463
 agggccccc cucaauccug u 21

15 <210> 464
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 464
 ugguuuaccg ucccacauac au 22

20 <210> 465
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 465
 cagugcaaua guauugucua agc 23

30 <210> 466
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 466
 uaagugcuuc cauguuuugg uga 23

40 <210> 467
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 467
 acuuuaacau ggaagugcuu ucu 23

45 <210> 468
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 468
 uaagugcuuc cauguuuuag uag 23

55 <210> 469
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 469
 uuuacaugg gguaccugc ug 22

60 <210> 470
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

65 <400> 470
 uaagugcuuc cauguuucag ugg 23

<210> 471
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 471
 uaagugcuuc cauguuugag ugu 23
 <210> 472
 10 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 472
 15 aaaagcuggg uugagagggc gaa 23
 <210> 473
 <211> 21
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 473
 uaagccaggg auuguggguu c 21
 25 <210> 474
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 474
 gcacauuaca cggucgaccu cu 22
 <210> 475
 <211> 23
 35 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 475
 cgcauccccu agggcauugg ugu 23
 40 <210> 476
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 476
 ccacugcccc agguvcugcu gg 22
 <210> 477
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 477
 ccuaguaggu guccaguaag u 21
 <210> 478
 <211> 20
 <212> ARN
 60 <213> *Homo sapiens*
 <400> 478
 ccucugggcc cuuccuccag 20
 65 <210> 479
 <211> 22

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 479
 5 cuggcccucu cugcccuucc gu 22

 <210> 480
 <211> 23
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 480
 gcaaagcaca cggccugcag aga 23

 15 <210> 481
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 20 <400> 481
 gcccugggc cuauccuaga a 21

 <210> 482
 <211> 23
 25 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 482
 ucaagagcaa uaacgaaaa ugu 23
 30
 <210> 483
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 483
 uccagcuccu auaugaugcc uuu 23

 <210> 484
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40
 <400> 484
 45 uccagcauca gugauuuugu uga 23

 <210> 485
 <211> 21
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 485
 ucccuguccu ccaggagcuc a 21

 55 <210> 486
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 60 <400> 486
 uccgucucag uuacuuuuaa gcc 23

 <210> 487
 <211> 24
 65 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 487
 ucucacacag aaaucgcacc cguc 24

5 <210> 488
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 488
 ugcugacucc uaguccaggg c 21

15 <210> 489
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 489
 ugucugcccg caugccugcc ucu 23

25 <210> 490
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 490
 aaugcacuu uagcaauggu ga 22

35 <210> 491
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 491
 acauagagga aaauccacgu uu 22

45 <210> 492
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 492
 aaauaacau gguugaucuu u 21

55 <210> 493
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 493
 gccugcuggg guggaaccug g 21

65 <210> 494
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

70 <400> 494
 gugccgccaau cuuuugagug u 21

75 <210> 495
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

80 <400> 495
 aaagugcugc gacauuugag cgu 23

ES 2 536 438 T3

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

5
<400> 496
acucaaaaug ggggcgcuuu cc 22

10
<210> 497
<211> 23
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

15
<400> 497
gaagugcuuc gauuuugggg ugu 23

20
<210> 498
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

<400> 498
uuauaaauaca accugauaag ug 22

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar el pronóstico de un sujeto con cáncer de pulmón, que comprende la medición del nivel de productos génicos de miR en una muestra de ensayo de dicho sujeto, en el que:

5 la firma de los productos génicos de miR está asociada con un pronóstico adverso en cáncer de pulmón; y una alteración del nivel de los productos génicos de miR en la muestra de ensayo de pulmón, con respecto al nivel de los productos génicos correspondientes de miR en una muestra de control, es indicativa de un pronóstico adverso,
 10 en donde el cáncer de pulmón es un adenocarcinoma de pulmón, y los productos génicos de miR consisten en miR-155 y let-7a-2; y en donde el nivel del producto génico de miR-155 en la muestra de ensayo es mayor que el nivel del producto génico correspondiente de miR en la muestra de control, y en donde el nivel del producto génico de let-7a-2 en la muestra de ensayo es menor que el nivel del producto génico correspondiente de miR en la muestra de control.

2. El método de la reivindicación 1 en el que los productos génicos de miR son un grupo de productos génicos de miR que consiste en miR-155, miR-17-3p, miR-106a, miR-93, let-7a-2, miR-145, let-7b, miR-20 y miR-21; en donde el nivel de los productos génicos de miR-155, miR-17-3p, miR-106a, miR-93 y miR-21 en la muestra de ensayo es mayor que el nivel de los productos génicos correspondientes de miR en la muestra de control; y
 20 en donde el nivel de los productos génicos de let-7a-2, miR-145 y let-7b en la muestra de ensayo es menor que el nivel de los productos génicos correspondientes de miR en la muestra de control.

3. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer de pulmón, que comprende:

25 la transcripción inversa de 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 de la muestra de ensayo; y
 30 comparar el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con el perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control, en donde una alteración de la señal de productos génicos de miR es indicativa de que el sujeto tiene cáncer de pulmón, en donde el cáncer de pulmón es un adenocarcinoma de pulmón y los productos génicos de miR consisten en miR-155 y let-7a-2; y
 35 en donde el nivel del producto génico de miR-155 en la muestra de ensayo es mayor que el nivel del producto génico correspondiente de miR en la muestra de control; y en donde el nivel del producto génico de let-7a-2 en la muestra de ensayo es menor que el nivel del producto génico correspondiente de miR en la muestra de control.

4. El método de la reivindicación 3 en el que los productos génicos de miR son un grupo de productos génicos de miR que consiste en miR-155, miR-17-3p, miR-106a, miR-93, let-7a-2, miR-145, let-7b, miR-20 y miR-21; en donde el nivel de los productos génicos de miR-155, miR-17-3p, miR-106a, miR-93 y miR-21 en la muestra de ensayo es mayor que el nivel de los productos génicos correspondientes de miR en la muestra de control; y
 40 en donde el nivel de los productos génicos de let-7a-2, miR-145 y let-7b en la muestra de ensayo es menor que el nivel de los productos génicos correspondientes de miR en la muestra de control.

5. El método de las reivindicaciones 3 o 4, en el que el cáncer de pulmón es cáncer de pulmón con un pronóstico adverso.

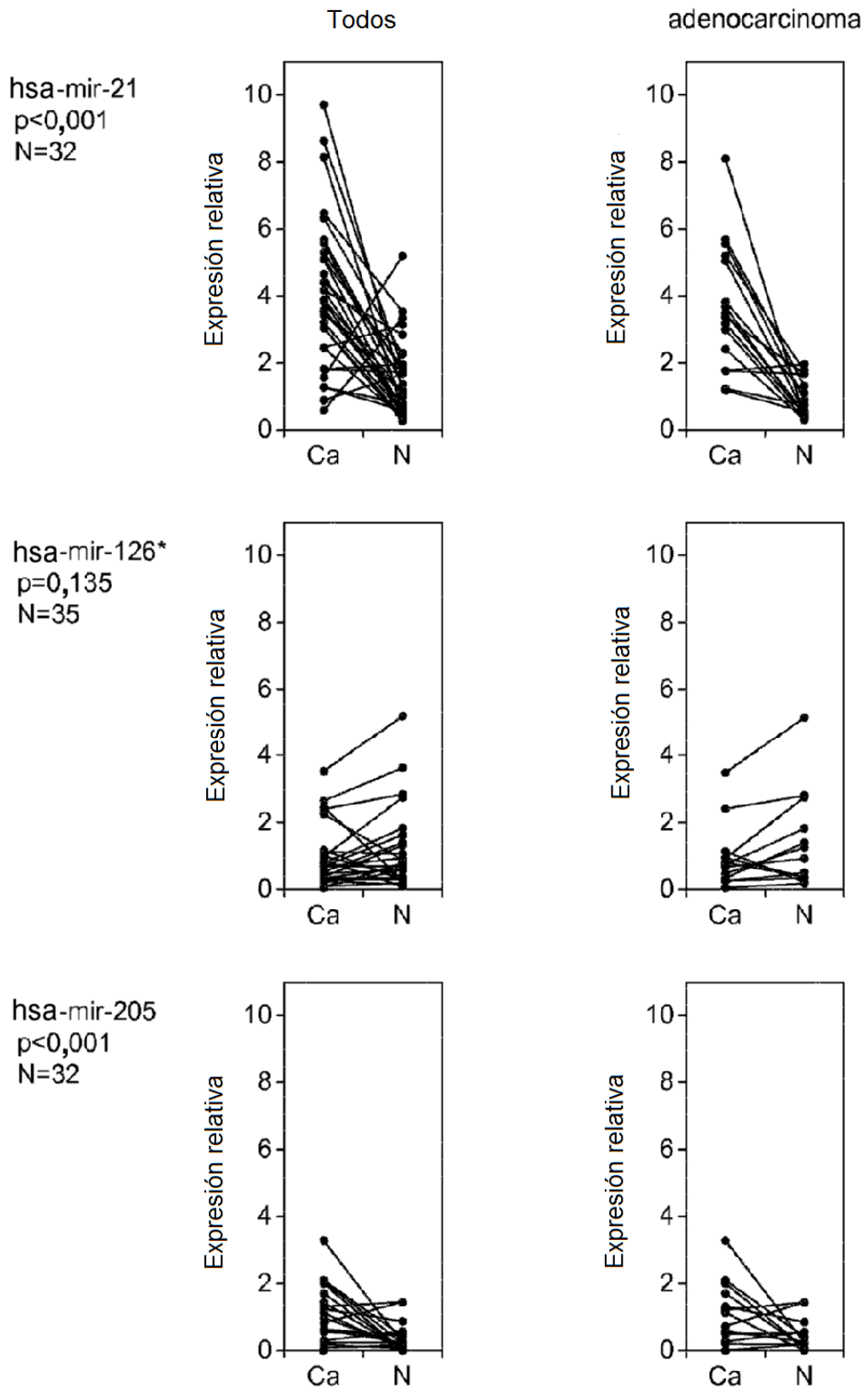


FIG. 1

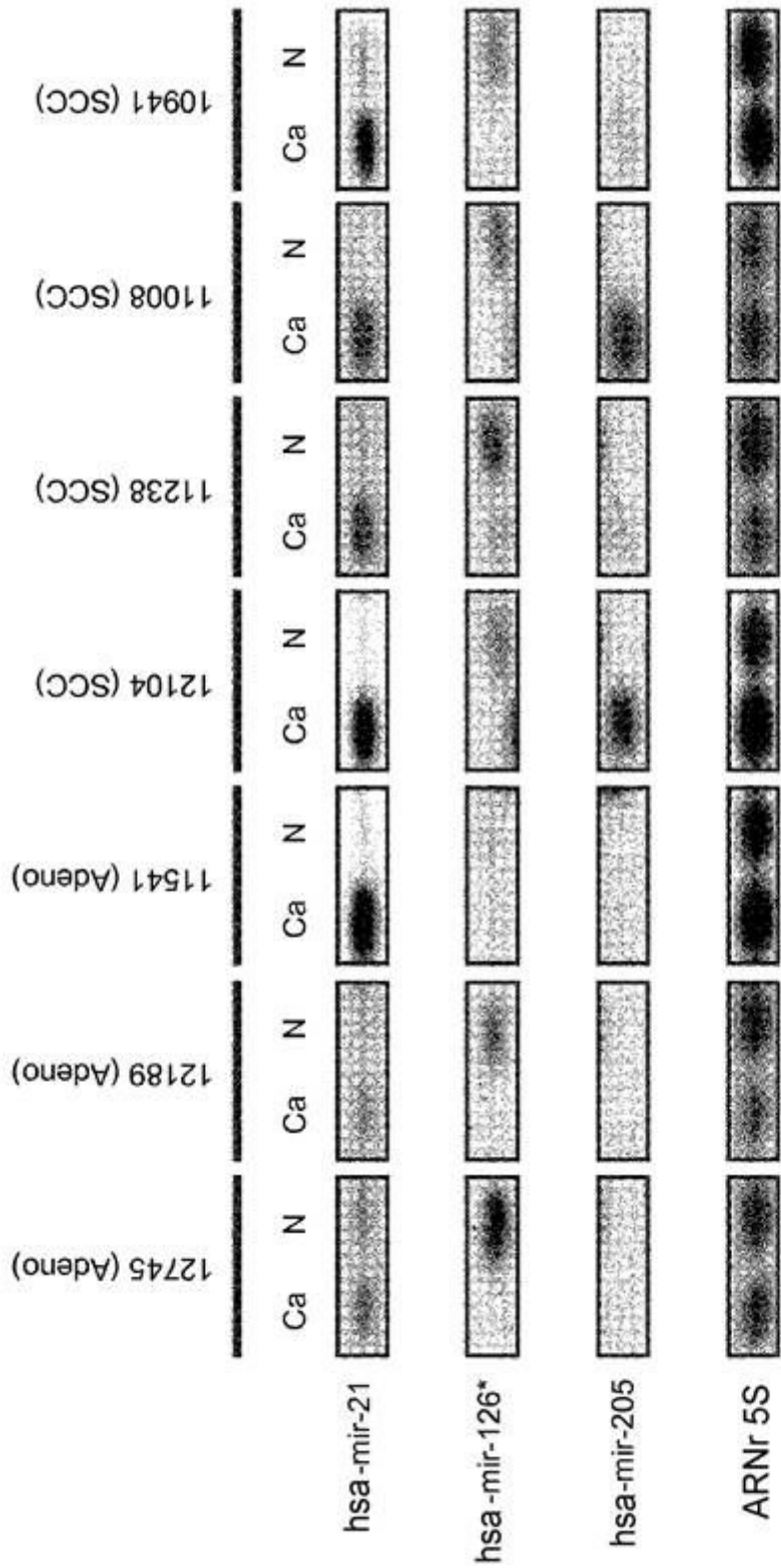


FIG. 2

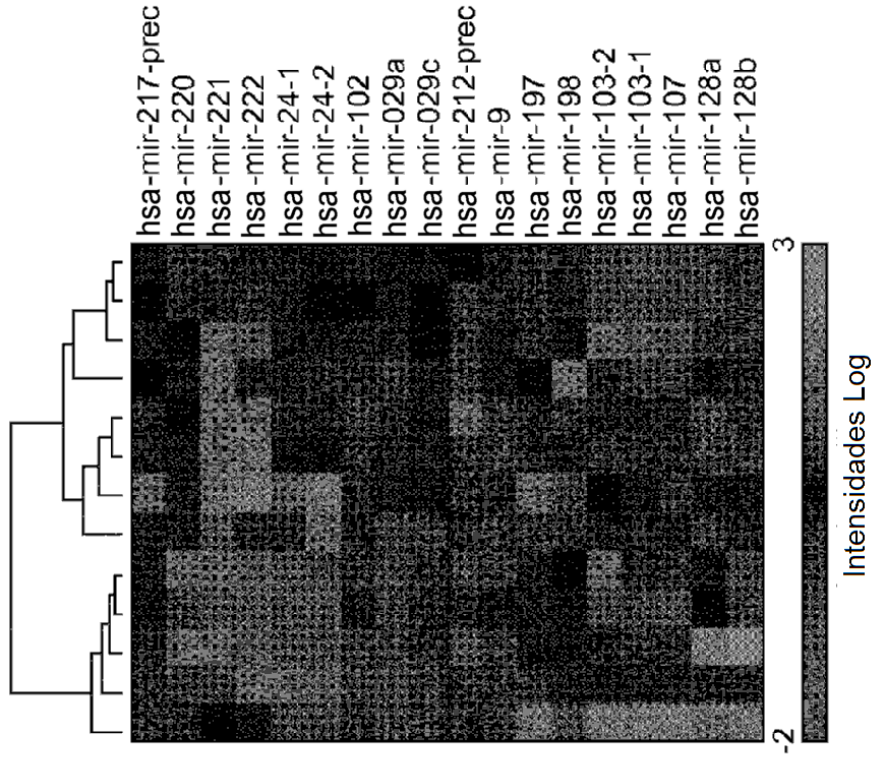


FIG. 3B

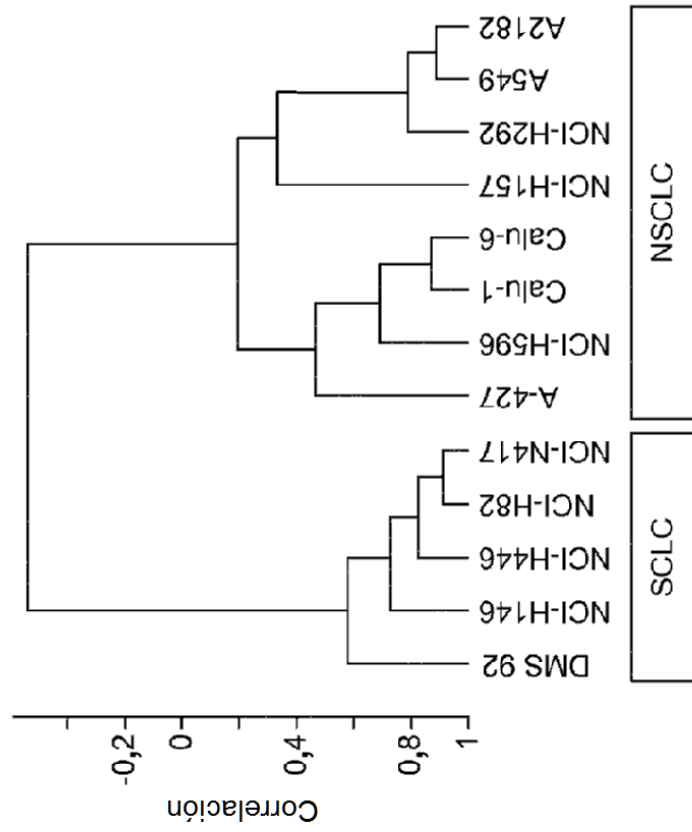


FIG. 3A

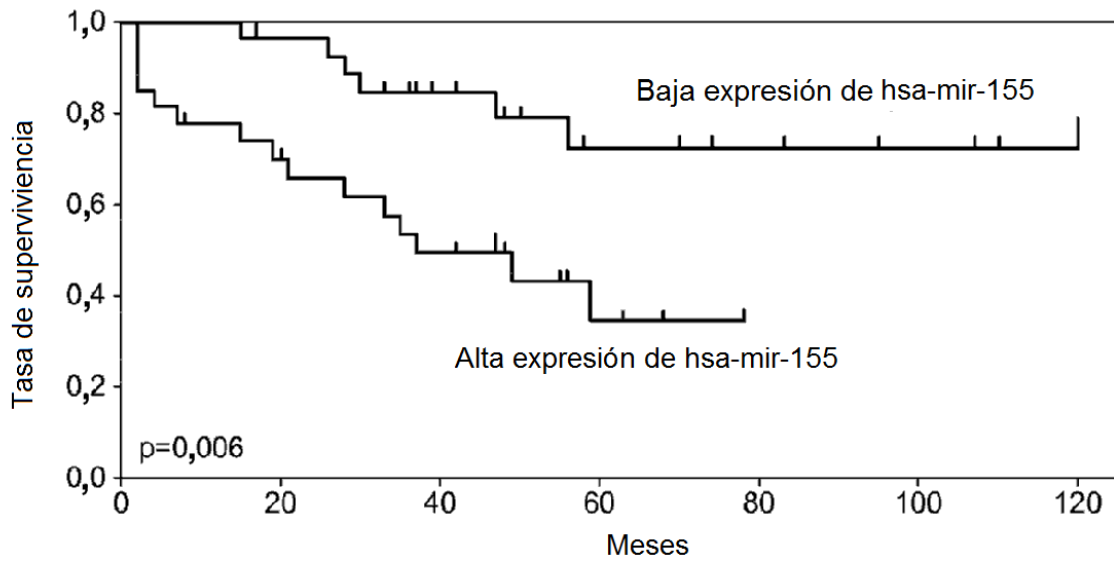


FIG. 4

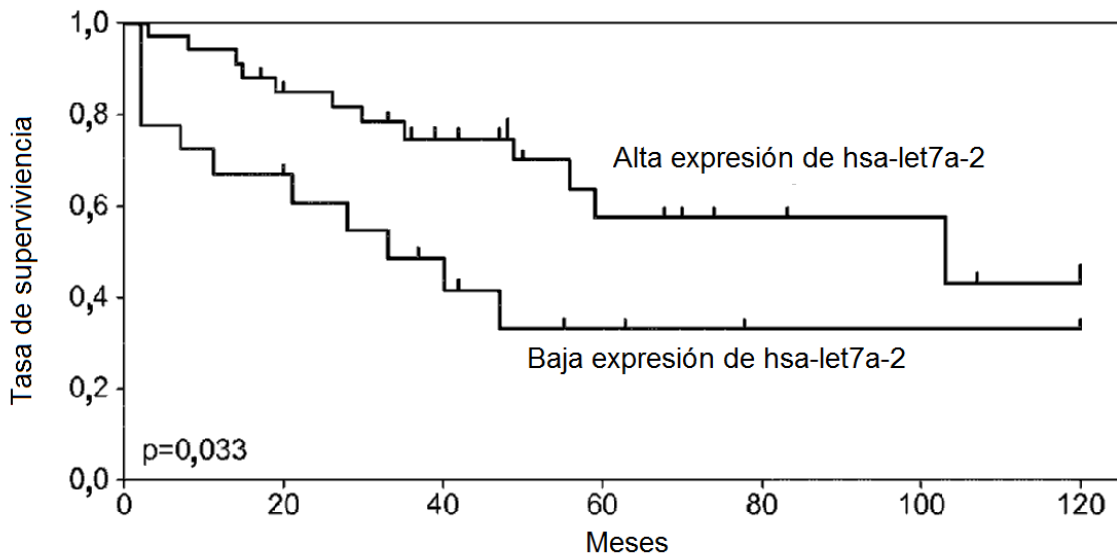


FIG. 5

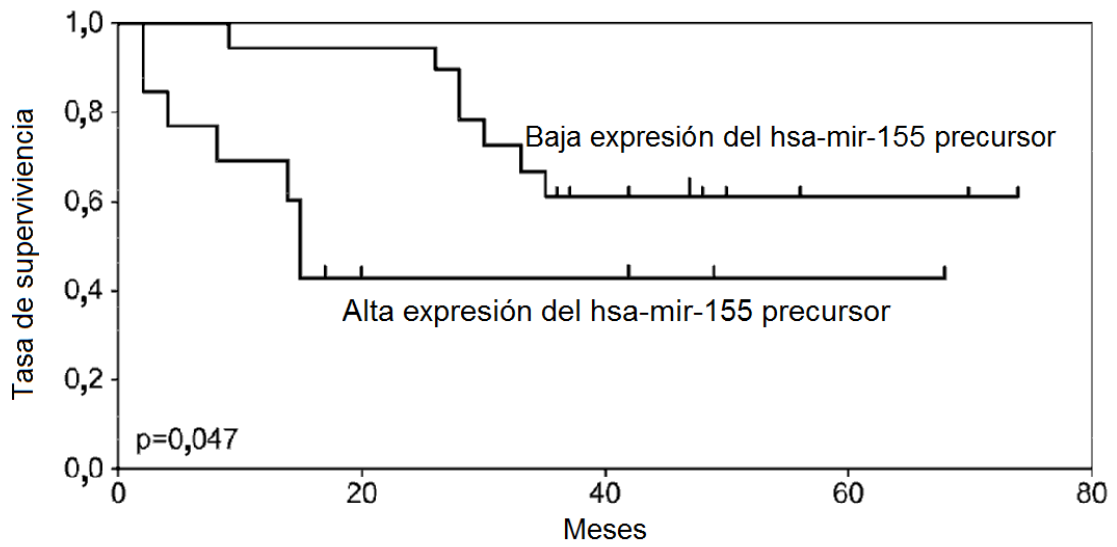


FIG. 6

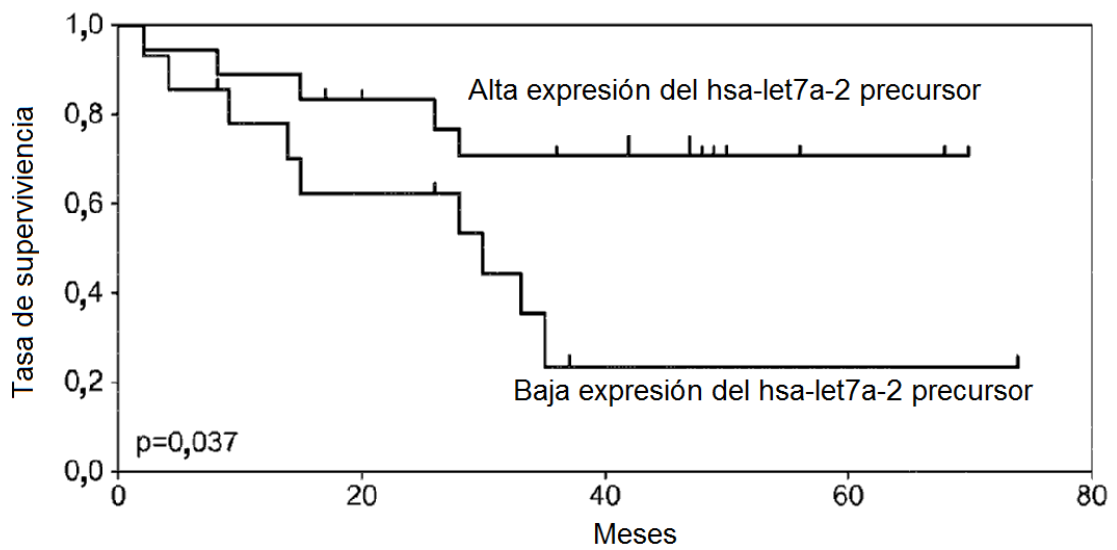


FIG. 7

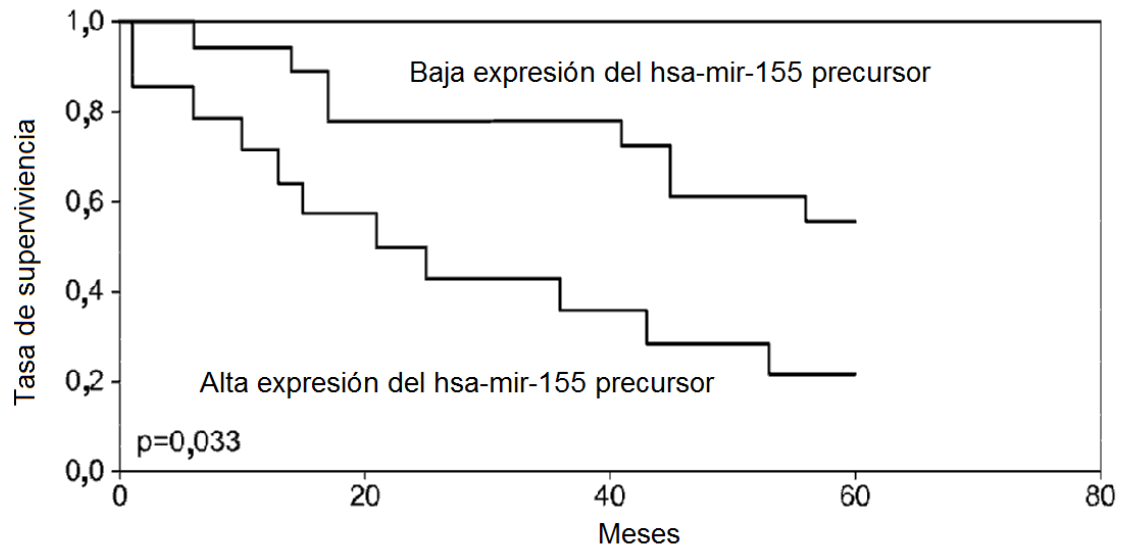


FIG. 8

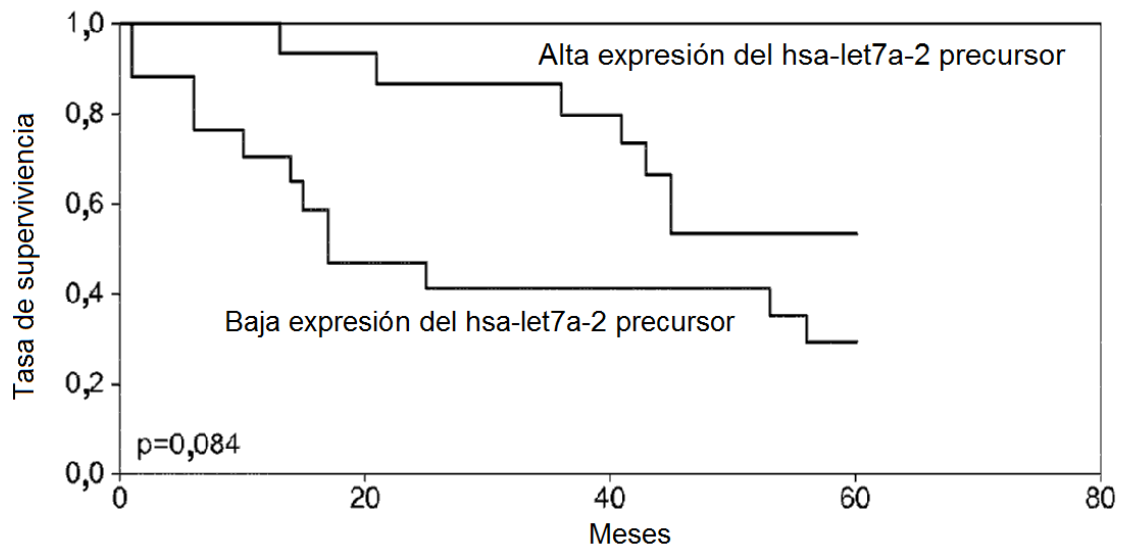


FIG. 9

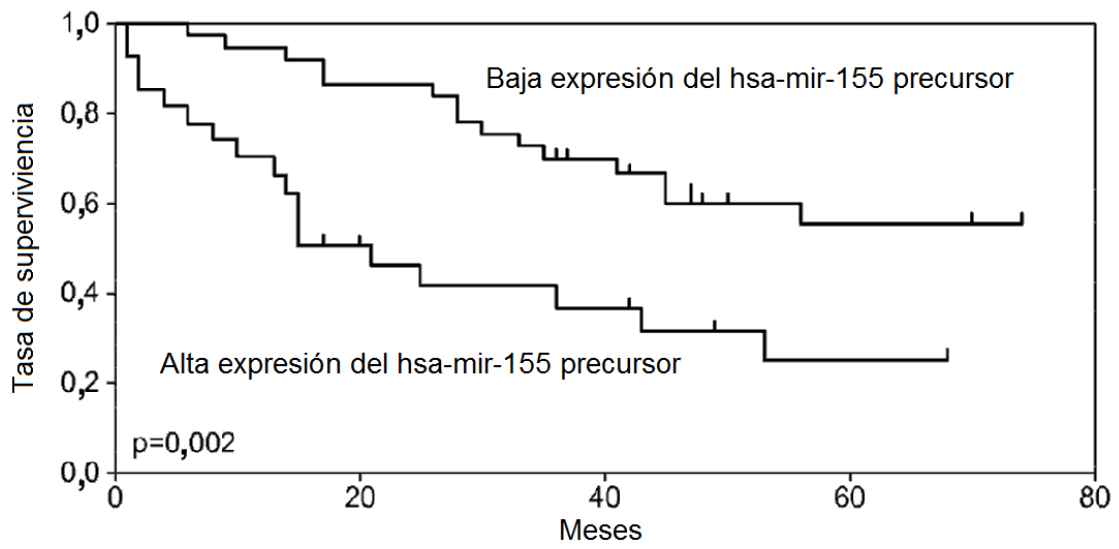


FIG. 10

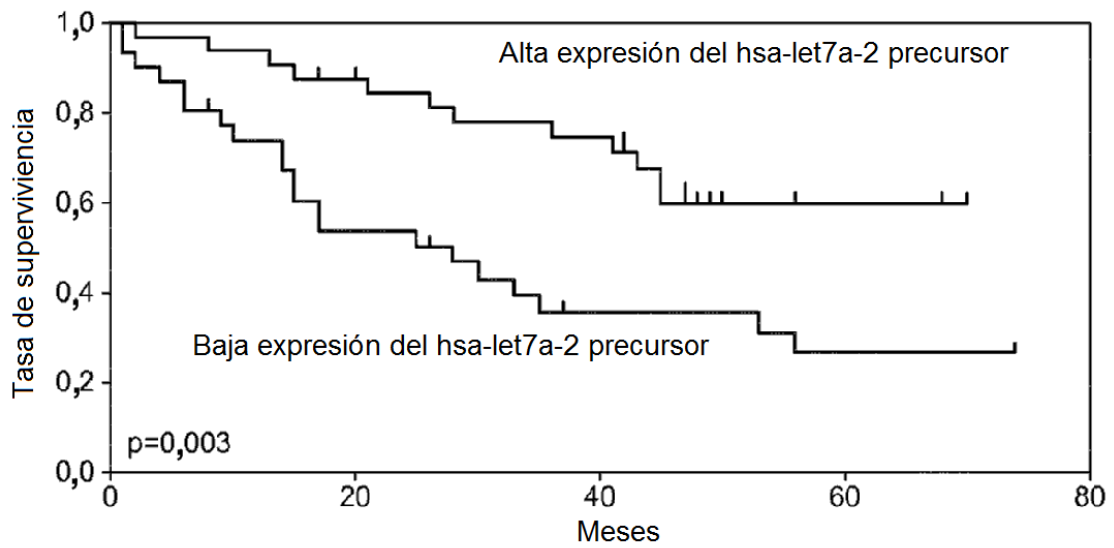


FIG. 11

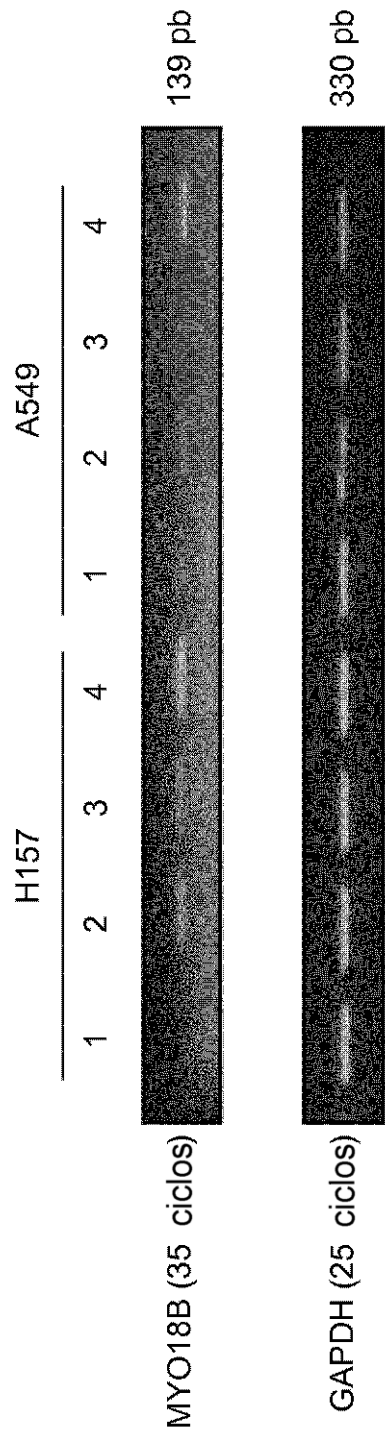


FIG. 12