

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 545 360**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2007 E 12154321 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2015 EP 2487253**

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

30 Prioridad:

05.01.2006 US 756585 P

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

10.09.2015

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 545 360 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

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

5 **Antecedentes de la invención**

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

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

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

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

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

En los Estados Unidos, se diagnostica a más de 20.000 individuos cáncer de estómago (gástrico) cada año. La Sociedad Americana del Cáncer estima que habrá 22.710 casos nuevos de cáncer colorrectal diagnosticados en los Estados Unidos en 2004 (Cancer Facts and Figures 2004. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2004. Disponible en www.cancer.org/docroot/STT/stt_0_2004.asp, accedida el 21 de agosto de 2005). Debido a que el cáncer de estómago puede aparecer sin síntomas, puede estar en estadios avanzados en el momento en que se realice el diagnóstico. Después el tratamiento se dirige a aumentar la comodidad del paciente y mejorar su calidad de vida.

El cáncer de pulmón provoca más muertes en todo el mundo que cualquier otra forma de cáncer (Goodman, G. E., *Thorax* 57: 994-999 (2002)). En los Estados Unidos, el cáncer de pulmón es la causa principal de muerte por cáncer

tanto en hombres como en mujeres. En 2002, la tasa de muerte de cáncer de pulmón fue una estimación de 134.900 muertes, que excede el total combinado de cáncer de mama, próstata y colon. Misma referencia. El cáncer de pulmón también es la causa principal de muerte por cáncer en todos los países Europeos, y los números de muertes relacionadas con cáncer de pulmón están aumentando rápidamente también en los países en desarrollo.

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

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

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

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

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

45 **Compendio de la invención**

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

50 En consecuencia, la invención abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer sólido. De acuerdo con los métodos de la invención, el nivel de al menos un primer producto génico de miR-24-2 en una muestra de ensayo del sujeto se compara con el nivel del producto génico de miR correspondiente en una muestra de control. Una alteración (por ejemplo, un aumento, una reducción) en el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo, en relación con el nivel del producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de que
55 el sujeto tiene un cáncer sólido. El cáncer sólido puede ser cáncer de estómago, cáncer pancreático o cáncer de colon.

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

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

y una combinación de los mismos.

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

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

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

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

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

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

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

En una realización adicional, el miR-24-2 y al menos un producto génico de miR adicional se selecciona del grupo que consiste en miR-223, miR-21, miR-218-2, miR-103-2, miR-92-2, miR-25, miR-136, miR-191, miR-221, miR-125b-2, miR-103-1, miR-214, miR-222, miR-212 prec, miR-125b-1, miR-100, miR-107, miR-92-1, miR-96, miR-192, miR-23a, miR-215, miR-7-2, miR-138-2, miR-24-1, miR-99b, miR-33b y combinaciones de los mismos.

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

La presente divulgación también abarca métodos para inhibir tumorigénesis en un sujeto que tiene, o se sospecha

que tiene, un cáncer sólido (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon), en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado negativamente, regulado positivamente) en las células de cáncer del sujeto. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado negativamente en las células de cáncer, el método comprende

5 administrar una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado, una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del producto génico de miR o variante, de modo que se inhiba la proliferación de células cancerosas en el sujeto. El al menos un producto génico de miR aislado puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos. El producto génico de miR no puede ser miR-15a o miR-16-1. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado positivamente en las células

10 cancerosas, el método puede comprender administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR (denominado en la presente memoria un "compuesto de inhibición de la expresión de miR"), de modo que se inhibe la proliferación de células cancerosas en el sujeto. El al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR puede ser específico para un producto génico de miR seleccionado del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1,

15 miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

Los métodos para inhibir la tumorigénesis en un sujeto pueden comprender adicionalmente la etapa de determinar la cantidad de al menos un producto génico de miR en células cancerosas del sujeto, y comparar ese nivel del

20 producto génico de miR en las células con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en células de control. Si la expresión del producto génico de miR está desregulada (por ejemplo, regulada negativamente, regulada positivamente) en células cancerosas, los métodos comprenden además alterar la cantidad del al menos un producto génico de miR expresado en las células cancerosas. La cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas puede ser menor que la cantidad de producto génico de miR expresado en una célula de

25 control (por ejemplo, células de control), y se administra al sujeto una cantidad eficaz del producto génico de miR regulado negativamente, variante aislada o fragmento biológicamente activo del producto génico de miR o variante. Los productos génicos de miR adecuados incluyen miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos, entre otros. El producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. La cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas puede ser mayor que la cantidad del producto génico de miR expresado en la

30 célula de control (por ejemplo, células de control), y puede administrarse al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR regulado positivamente. Los compuestos adecuados para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR incluyen, pero sin limitación, compuestos que inhiben la expresión de miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b,

35 miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

La presente divulgación proporciona además composiciones farmacéuticas para tratar cánceres sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon). Las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un producto génico de miR aislado y un

40 vehículo farmacéuticamente aceptable. El al menos un producto génico de miR puede corresponder a un producto génico de miR que tenga una nivel reducido de expresión en células cancerosas en relación con las células de control. El producto génico de miR aislado puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR y un vehículo farmacéuticamente aceptable. El al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR puede ser específico de un producto génico de miR cuya expresión es mayor en células cancerosas que en células de

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

También se desvelan métodos para identificar un inhibidor de tumorigénesis, que comprenden proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR en la célula. El método

55 puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión reducidos en cánceres sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon). Un aumento en el nivel del producto génico de miR en la célula, en relación con una célula de control adecuada, es indicativo de que el agente de ensayo es un inhibidor de tumorigénesis. El al menos un producto génico de miR asociado con niveles de

60 expresión reducidos en células de cáncer sólido pueden seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

El método puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con aumento de los niveles de expresión en cánceres sólidos. Una reducción en el

65 nivel del producto génico de miR en la célula, en relación con una célula de control adecuada, es indicativa de que el agente de ensayo es un inhibidor de tumorigénesis. El al menos un producto génico de miR asociado con niveles de

expresión aumentados en células de cáncer sólido puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

5

Breve descripción de los dibujos

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

10

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

15

20

La FIGURA 3 representa la expresión de miARN regulados diferencialmente entre cánceres sólidos (parte superior). Se representan sesenta y un microARN, que están presentes en al menos 90 % de los cánceres sólidos tisulares (derecha del panel). El árbol presenta los valores de expresión absolutos medios para cada uno de los microARN enumerados después de transformación log₂. La media se calculó sobre todas las muestras del mismo histotipo tumoral o tejido. Los genes se centraron en la media y se normalizaron usando Gene Cluster 2.0. Se realizó agrupamiento de enlace medio usando la distancia Euclídea.

25

La FIGURA 4 representa el factor de cambio en la expresión de miARN presentes en al menos 75 % de los tumores sólidos con al menos un valor absoluto de tumor mayor que 2 en diferentes muestras de cáncer (parte superior), en relación con muestras normales. El árbol presenta la transformación log₂ del factor de cambio medio (cáncer frente a normal). La media se calculó sobre todas las muestras del mismo histotipo tumoral o tejido. Las matrices se centraron en la media y se normalizaron usando Gene Cluster 2.0. Se realizó agrupamiento de enlaces medio usando métrica de correlación no centrada.

30

La FIGURA 5 representa el factor de cambio en la expresión de miARN presentes en los distintivos de al menos 50 % de los tumores sólidos en muestras de cáncer frente a normales. El árbol representa la transformación log₂ del factor de cambio medio (cáncer frente a normal). La media se calculó sobre todas las muestras del mismo histotipo tumoral o tejido. Las matrices se centraron en la media y se normalizaron usando Gene Cluster 2.0. Se realizó agrupamiento de enlace medio usando métrica de correlación no centrada.

35

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

40

45

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

50

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

55

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

60

Descripción detallada

65

La presente divulgación se basa, en parte, en la identificación de microARN particulares cuya expresión está

alterada en células cancerosas asociadas con diferentes cánceres sólidos, tales como cáncer de colon, de estómago, pancreático, de pulmón, de mama y de próstata, en relación con células de control normales.

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

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

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

Tabla 1a- Secuencias precursoras de microARN humano

Nombre del Precursor	Secuencia (5' a 3')	SEC ID N°
<i>let-7a-1</i>	CACUGUGGG <u>AUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUU</u> AGGGUCAC ACCCACCACUGGGAGAUAA <u>CUAUACA</u> AUCUACUGUCUUCCU AACGUG	1
<i>let-7a-2</i>	AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUACAUCAAG GGAGAUAA <u>CUGUACAGCCUCCUAGCUUU</u> CCU	2
<i>let-7a-3</i>	GGGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUU <u>UGGGGCUCUGCCC</u> UGCU AUGGGAUAA <u>CUAUACA</u> AUCUACUGUCUUCCU	3
<i>let-7a-4</i>	GUGACUGCAUGCUCCCAGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU UAGAAUACACAAGGGAGAUAA <u>CUGUACAGCCUCCUAGCUUU</u> CCUUGGGUCUUGCACUAAACAAC	4
<i>let-7b</i>	GGCGGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUUCAGGGCAGUGA UGUUGCCCCUCGGAAGAUAA <u>CUAUACA</u> ACCUACUGCCUCCCC UG	5
<i>let-7c</i>	GCAUCCGGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUUUAGAGUUACA CCUGGGAGUUAACUGUACAACCUUCUAGCUUUCCUUGGAGC	6
<i>let-7d</i>	CCUAGGAAGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUUUUAGGGCAGGGAU UUUGCCCACAAGGAGGUAA <u>CUAUACG</u> ACCUGCUGCCUUUCUU AGG	7
<i>let-7d-v1</i>	CUAGGAAGAGGUAGUAGUUUGCAUAGUUUUAGGGCAAAGAU UUUGCCCACAAGUAGUUAGCUAUACGACCUGCAGCCUUUUGU AG	8
<i>let-7d-v2</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACA UUGCCCGCUGUGGAGAUAA <u>CUGCGCA</u> AGCUACUGCCUUGCUA G	9

ES 2 545 360 T3

<i>let-7e</i>	CCCGGGCUGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUUGAGGAGGACACCC AAGGAGAUCACUAUACGGCCUCCUAGCUUUC CC CAGG	10
<i>let-7f-1</i>	UCAGAGUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGGUAGUGAU UUUACCCUGUUCAGGAGAUAAACUAUACAAUCUAUUGCCU UCC CUGA	11
<i>let-7f-2-1</i>	CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGGUAGUG AUUUUACCCUGUUCAGGAGAUAAACUAUACAAUCUAUUGCCU U CCCUGA	12
<i>let-7f-2-2</i>	CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUUUAGGGUCAUA CCCCAUCUUGGAGAUAAACUAUACAGUCUACUGUCU U UCCCAC GG	13
<i>let-7g</i>	UUGCCUGAUUCCAGGCUGAGGUAGUAGUUUGUACAGU U UGAG GGUCUAUGAUACCACCCGGUACAGGAGAUAAACUGUACAGGCC ACUGCCUUGCCAGGAACAGCGCGC	14
<i>let-7i</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACA UUGCCCGCUGUGGAGAUAAACUGCGCAAGCUACUGCCU U GCUA G	15
<i>miR-1b-1-1</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCAU AUGAACA UACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAG GC	16
<i>miR-1b-1-2</i>	CAGCUAACAACUAGUAAUACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCU UUUUAUGUACCCAU AUGAACA UACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGA AGUAUGUAUUUUUGGUAGGCAAUA	17
<i>miR-1b-2</i>	GCCUGCUUGGGAAACAUAUCUUCUUUAUAUGCCCAUAUGGACC UGCUAAGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCAGGCCCGG G	18
<i>miR-1b</i>	UGGGAAACAUAUCUUCUUUAUAUGCCCAUAUGGACCUGCUAAG CUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCA	19
<i>miR-1d</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCAU AUGAACA UACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAG GC	20
<i>miR-7-1a</i>	UGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUGU UGUUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAACAAUACAGUCUGCCA UAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACA	21
<i>miR-7-1b</i>	UUGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUG UUGUUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAACAAUACAGUCUGCC AUAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACAG	22
<i>miR-7-2</i>	CUGGAUACAGAGUGGACCGGCUGGCCCAUCUGGAAGACUAG UGAUUUUGUUGUUGUCUACUGCGCUCAACAACAAUCCAG UCUACCUA AUGGUGCCAGCCAUCGCA	23

ES 2 545 360 T3

<i>miR-7-3</i>	AGAUUAGAGUGGCUGUGGUCUAGUGCUGUGUGGAAGACUAGU GAUUUUGUUGUUCUGAUGUACUACGACAACAAGUCACAGCCG GCCUCAUAGCGCAGACUCCCUUCGAC	24
<i>miR-9-1</i>	CGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGG UGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAUAA CCCCA	25
<i>miR-9-2</i>	GGAAGCGAGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGU AUUGGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAACUCCU UCA	26
<i>miR-9-3</i>	GGAGGCCCGUUUCUCUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGC CACAGAGCCGUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAGAAAUGA UUCUCA	27
<i>miR-10a</i>	GAUCUGUCUGUCUUCUGUAUAUACCCUGUAGAUCCGAAUUUG UGUAAGGAAUUUUGUGGUCACAAAUUCGUAUCUAGGGGAAUA UGUAGUUGACAUA AACACUCCGCUCU	28
<i>miR-10b</i>	CCAGAGGUUGUAACGUUGUCUAUAUAUACCCUGUAGAACCGA AUUUGUGUGGUAUCCGUUAGUCACAGAUUCGAUUCUAGGGG AAUAUAUGGUCGAUGCAAAAACUUCA	29
<i>miR-15a-2</i>	GCGCGAAUGUGUGUUUAAAAAAAAUAAAACCUUGGAGUAAAG UAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUGAAAAGGUGCAGGC CAUAUUGUGCUGCCUCAAAAUAAC	30
<i>miR-15a</i>	CCUUGGAGUAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUG AAAAGGUGCAGGCCAUUUGUGCUGCCUCAAAAUAACAAGG	31
<i>miR-15b-1</i>	CUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAUGCUACAGUCAAGAUGC GAAUCAUUUUUGCUGCUCUAG	32
<i>miR-15b-2</i>	UUGAGGCCUUAAAAGUACUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAU GCUACAGUCAAGAUGCGAAUCAUUUUUGCUGCUCUAGAAAU UUAAGGAAAUUCAU	33
<i>miR-16-1</i>	GUCAGCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUAAGAU UCUAAAUAUUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGUAAGG UUGAC	34
<i>miR-16-2</i>	GUUCCACUCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUAGUGAAUAU AUUUAAAACACCAUAUUAUCUGUGCUGCUUUAGUGUGAC	35
<i>miR-16-13</i>	GCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUAAGAUUCUA AAUUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGUAAGGU	36
<i>miR-17</i>	GUCAGAAUAAUGUCAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAUU GUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGAC	37
<i>miR-18</i>	UGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAUUAGC AUCUACUGCCUAAGUGCUCCUUCUGGCA	38

ES 2 545 360 T3

<i>miR-18-13</i>	UUUUUGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAU UAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGGCAUAAGAA	39
<i>miR-19a</i>	GCAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAA UGUAGUUGUGCAA <u>AUCUAUGCAAACUGAUGGUGGCCUGC</u>	40
<i>miR-19a-13</i>	CAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAAU GUAGUUGUGCAA <u>AUCUAUGCAAACUGAUGGUGGCCUG</u>	41
<i>miR-19b-1</i>	CACUGUUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUG UGAUAUUCUGCUGUGCAA <u>UCCAUGCAAACUGACUGUGGUA</u> GUG	42
<i>miR-19b-2</i>	ACAUUGCACUACAAUAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGC GUUAUAUGUAUAUGUGGCUGUGCAA <u>UCCAUGCAAACUGA</u> UUGUGAUAAUGU	43
<i>miR-19b-13</i>	UUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUGUGAUA UUCUGCUGUGCAA <u>UCCAUGCAAACUGACUGUGGUAG</u>	44
<i>miR-19b-X</i>	UUACA <u>AUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGCGUAUAUAUGU</u> AUAUGUGGCUGUGCAA <u>UCCAUGCAAACUGAUUGUGAU</u>	45
<i>miR-20 (miR-20a)</i>	GUAGCACUAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUUAGUU <u>AUC</u> UACUGCAUUAUGAGCACUAAAGUACUGC	46
<i>miR-21</i>	UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCA UGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA	47
<i>miR-21-17</i>	ACCUUGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAU CUC <u>AUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA</u> UUUUG	48
<i>miR-22</i>	GGCUGAGCCGCAGUAGUUCUUCAGUGGCAAGCUUUAUGUCCU GACCCAGCUAAAGCUGCCAGUUGAAGAACUGUUGCC <u>CUCUGC</u> C	49
<i>miR-23a</i>	GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUGUCAC AA <u>AUCACA</u> UUGCCAGGGAUUCCAACCGACC	50
<i>miR-23b</i>	CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGGUCCUGGCAUGCUGAUUUG UGACUUAAGAUUAAA <u>UACAUUGCCAGGGAUUACCACGCAA</u> CCACGACCUUGGC	51
<i>miR-23-19</i>	CCACGGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUG UCACAAAUCACA <u>UUGCCAGGGAUUCCAACCGACCCUGA</u>	52
<i>miR-24-1</i>	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAU <u>AUCAGUUCUCAUUUUACACA</u> CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	53
<i>miR-24-2</i>	CUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGUUGGUUUG UGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGG	54
<i>miR-24-19</i>	CCUUGGGCUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGU UGGUUUGUGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGGG	55
<i>miR-24-9</i>	CCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAU <u>AUCAGUUCUCAUUUUACA</u> CACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGCAUC	56
<i>miR-25</i>	GGCCAGUGUUGAGAGGCGGAGACUUGGGCAAUUGCUGGACGC UGCCCGGGCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACAGUGCCGGCC	57

<i>miR-26a</i>	AGGCCGUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAG GUCCCAAUGGCCUAUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGCGGGC CU	58
<i>miR-26a-1</i>	GUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAGGUCCC AAUGGGCCUAUUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGC	59
<i>miR-26a-2</i>	GGCUGUGGCUGGAUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUUUCCA UCUGUGAGGCCUAUUCUUGAUUACUUGUUUCUGGAGGCAGCU	60
<i>miR-26b</i>	CCGGGACCCAGUUCAAGUAAUUCAGGAUAGGUUGUGUGCUGU CCAGCCUGUUCUCCAUAUACUUGGCUCGGGGACCGG	61
<i>miR-27a</i>	CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACC AAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCCAG	62
<i>miR-27b-1</i>	AGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAGUGAUUGGUUUC GCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACCU	63
<i>miR-27b-2</i>	ACCUCUCUAACAAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAG UGAUUGGUUCCGCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACC UGAAGAGAAGGUG	64
<i>miR-27-19</i>	CCUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACAC CAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCCAGG	65
<i>miR-28</i>	GGUCCUUGCCUCAAGGAGCUCACAGUCUAUUGAGUUACCUU UCUGACUUUCCACUAGAUUGUGAGCUCCUGGAGGGCAGGCA CU	66
<i>miR-29a-2</i>	CCUUCUGUGACCCCUUAGAGGAUGACUGAUUUUUUUGGUGU UCAGAGUCAUAUAUUUUUCUAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA UAAUGAUUGGGGAAGAGCACCAUG	67
<i>miR-29a</i>	AUGACUGAUUUUUUUGGUGUUCAGAGUCAUAUAUUUUUCU AGCACCAUCUGAAAUCGGUUAU	68
<i>miR-29b-1</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUUUGGUGGUUUAGAUUUAAAUAG UGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGGG	69
<i>miR-29b-2</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCUUAGAUUUUUCCAU CUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUUUAGGAG	70
<i>miR-29c</i>	ACCACUGGCCCAUCUCUACACAGGCUGACCGAUUUCUCCUG GUGUUCAGAGUCUGUUUUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCGGU UAUGAUGUAGGGGGAAAAGCAGCAGC	71
<i>miR-30a</i>	GCGACUGUAAACAUCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCACAGA UGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGC	72
<i>miR-30b-1</i>	AUGUAAACAUCUACACUCAGCUGUAAUACAUGGAUUGGCUG GGAGGUGGAUGUUUACGU	73
<i>miR-30b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUCAUGUAAACAUCUACACUCAGCUGUAA UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	74

ES 2 545 360 T3

<i>miR-30c</i>	AGAUACUGUAAACA <u>UCCUACACUCUCAGCUGUGGAAAGUAAG</u> AAAGCUGGGAGAAGGCUGUUUACUCUUUCU	75
<i>miR-30d</i>	GUUGUUGUAAACA <u>UCCCCGACUGGAAGCUGUAAGACACAGCU</u> AAGCUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC	76
<i>miR-30e</i>	CUGUAAACA <u>UCCUUGACUGGAAGCUGUAAGGUGUUCAGAGGA</u> GCUUCAGUCGGAUGUUUACAG	77
<i>miR-31</i>	GGAGAGGAGGCAAGA <u>UGCUGGCAUAGCUGUUGAACUGGGAAC</u> CUGCUAUGCCAACAUAUUGCCAUCUUCC	78
<i>miR-32</i>	GGAGAU <u>AUUGCACAUAUAAGUUGCAUGUUGUCACGGCCUC</u> AAUGCAAUUUAGUGUGUGUGAUUUUUC	79
<i>miR-33b</i>	GGGGGCCGAGAGAGGGCGGGCGGCCCCGCGG <u>UGCAUUGCUGUU</u> <u>GCAUUGCACGUGUGUGAGGGCGGGUGCAGUGCCUCGGCAGUGC</u> AGCCCCGAGCCGGCCCCUGGCACCAC	80
<i>miR-33b-2</i>	ACCAAGUUUCAGU <u>UCAUGUAAACAUCCUACACUCAGCUGUAA</u> UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	81
<i>miR-33</i>	CUGUGGUGCAU <u>UGUAGUUGCAUUGCAUGUUCUGGUGGUACCC</u> AUGCAAUGUUUCCACAGUGCAUCACAG	82
<i>miR-34-a</i>	GGCCAGCUGUGAGUGUUUCUU <u>UGGCAGUGUCUUAGCUGGUUG</u> <u>UUGUGAGCAAUAGUAAGGAAGCAAUCAGCAAGUAUACUGCCC</u> UAGAAGUGCUGCACGUUGUGGGGCC	83
<i>miR-34-b</i>	GUGCUCGGUUUGU <u>AGGCAGUGUCAUUAGCUGAUUGUACUGUG</u> GUGGUUACAAUCACUAACUCCACUGCCAUCAAAAACAAGGCAC	84
<i>miR-34-c</i>	AGUCUAGUUACU <u>AGGCAGUGUAGUUAGCUGAUUGC</u> UAAUAGU ACCAAUCACUAACCACACGGCCAGGUAAAAAGAUU	85
<i>miR-91-13</i>	UCAGAAUAAUGUCA <u>AAAGUGC</u> UUACAGUGCAGGUAGUGAU <u>AUG</u> UGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGA	86
<i>miR-92-1</i>	CUUUCUACACAGGUUGGG <u>AUCGGUUGCAUUGCUGUGUUUCUG</u> UAUGGUAUUGCACUUGUCCCGGCCUGUUGAGUUUGG	87
<i>miR-92-2</i>	UCAUCCCGGGGUGGGGAUUUGUUGCAUUACUUGUGUUCU <u>AUA</u> UAAAGUAUUGCACUUGUCCCGGCCUGUGGAAGA	88
<i>miR-93-1</i> (<i>miR-93-2</i>)	CUGGGGGCUCCAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAGUGUGAUUAC CCAACCUACUGCUGAGCUAGCACUUC <u>CCGAGCCCCCGG</u>	89
<i>miR-95-4</i>	AACACAGUGGGCACUCAUAA <u>UAGUCUGUUGAAUUGAAAUGC</u> GUUACA <u>UUAACGGGU</u> AUUUAUUGAGCACCCACUCUGUG	90
<i>miR-96-7</i>	UGGCCGAUUUUGGCACUAGCACAUUUUUGCUUGUGUCUCUCC GCUCUGAGCAAUCAUGUGCAGUGCCAUAUUGGGAAA	91
<i>miR-97-6</i> (<i>miR-30*</i>)	GUGAGCGACUGUAAACA <u>UCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCA</u> CAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGCCUACU	92
<i>miR-98</i>	GUGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUUGUGGGGUAGGGGAU <u>AUUAG</u> GCCCAAUUAGAAGUAACUAUACAACUACUACUUCC	93

<i>miR-99b</i>	GGCACCCACCCGUAGAACC <u>GACCUUGCGGGGCCUUCGCCGCAC</u> ACAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCGUGUC	94
<i>miR-99a</i>	CCCAUUGGCAUAAACCCGUAGA <u>UCCGAUCUUGUGGUGAAGUG</u> GACCGCACAAGCUCGCUCUAUGGGUCUGUGUCAGUGUG	95
<i>miR-100-1/2</i>	AAGAGAGAAGAUUUUGAGGCCUGUUGCCACA <u>AAACCCGUAGAU</u> CCGAACUUGUGGUUUAGUCCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGG UAUGUGUCUGUUAGGCAAUCUCAC	96
<i>miR-100-11</i>	CCUGUUGCCACA <u>AAACCCGUAGA</u> UCCGAACUUGUGGUUUAGU CCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGGUAUGUGUCUGUUAGG	97
<i>miR-101-1/2</i>	AGGCUGCCCUGGCUCAGUU <u>AUCACAGUGCUGAUGCUGUCUAU</u> UCUAAAGGUACAGUACUGUGAUAA <u>CUGAAGGAUGGCAGCCAU</u> CUUACCUUCCAUCAGAGGAGCCUCAC	98
<i>miR-101</i>	UCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCCA <u>UUCUAAAGGUACAG</u> UACUGUGAUAA <u>CUGA</u>	99
<i>miR-101-1</i>	UGCCCUGGCUCAGUU <u>AUCACAGUGCUGAUGCUGUCUAUUCUA</u> AAGGUACAGUACUGUGAUAA <u>CUGAAGGAUGGCA</u>	100
<i>miR-101-2</i>	ACUGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGU <u>ACCGAUGCUGUAUAUCU</u> GAAAGGUACAGUACUGUGAUAA <u>CUGAAGAAUGGUGGU</u>	101
<i>miR-101-9</i>	UGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGU <u>ACCGAUGCUGUAUAUCUGA</u> AAGGUACAGUACUGUGAUAA <u>CUGAAGAAUGGUG</u>	102
<i>miR-102-1</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUU <u>CACAUGGUGGCCUAGAUUUUCCAU</u> CUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAA <u>UCAGUGUUUUAGGAG</u>	103
<i>miR-102-7.1</i> (<i>miR-102-7.2</i>)	CUUCAGGAAGCUGGUUU <u>CAUAUGGUGGUUUAGAUUUAAAUAG</u> UGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAA <u>UCAGUGUUCUUGGGGG</u>	104
<i>miR-103-2</i>	UUGUGCUUUCAGCUUCUU <u>ACAGUGCUGCCUUGUAGCAUUCA</u> GGUCAAGCAACA <u>UUGUACAGGGCUAUGAAAGAACCA</u>	105
<i>miR-103-1</i>	UACUGCCCUCGGCUUCUU <u>ACAGUGCUGCCUUGUUGCAUAUG</u> GAUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUA <u>UGAAGGCAUUG</u>	106
<i>miR-104-17</i>	AAAUGUCAGACAGCCCAUCGACUGGUGUUGCCAUGAGAUUCA ACAGUCAACAUCAGUCUGAUAAAGCUACCCGACAAGG	107
<i>miR-105-1</i>	UGUGCAUCGUGGUCAA <u>AUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU</u> CAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUACGGUGUCUA	108
<i>miR-105-2</i>	UGUGCAUCGUGGUCAA <u>AUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU</u> UAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUAUGGUGUCUA	109
<i>miR-106-a</i>	CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGCUUUUUG AGAUCUACUGCAAUGUAAGCACUUCUACA <u>UACCAUGG</u>	110
<i>miR-106-b</i>	CCUGCCGGGGCUAAAAGUGCUGACAGUGCAGAUAGUGGUCCUC UCCGUGCUACCGCACUGUGGGUACUUGCUGCUCCAGCAGG CUCUCUGCUUUCAGCUUCUU <u>ACAGUGUUGCCUUGUGGCAUG</u> GAGUUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUA <u>UCAAGCACAGA</u>	111
<i>miR-107</i>	CUCUCUGCUUUCAGCUUCUU <u>ACAGUGUUGCCUUGUGGCAUG</u> GAGUUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUA <u>UCAAGCACAGA</u>	112

ES 2 545 360 T3

<i>miR-108-1-pequeño</i>	ACACUGCAAGAACAUAAGGAUUUUUAGGGGCAUUAUGACUG AGUCAGAAAACACAGCUGCCCCUGAAAGUCCCUCAUUUUUCU UGCUGU	113
<i>miR-108-2-pequeño</i>	ACUGCAAGAGCAAUAAGGAUUUUUAGGGGCAUUAUGAUAGUG GAAUGGAAACACAUCUGCCCCAAAAGUCCCUCAUUUU	114
<i>miR-122a-1</i>	CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCUA AACUAUCAAAACGCCAUUAUCACACUAAAUAGCUACUGCUAGG C	115
<i>miR-122a-2</i>	AGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCCAAACUAUCAA ACGCCAUUAUCACACUAAAUAGCU	116
<i>miR-123</i>	ACAUUUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUCAAACUCGU ACCGUGAGUAAUAAUGCGC	117
<i>miR-124a-1</i>	AGGCCUCUCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUAAAUG UCCAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAAUGGGGCU G	118
<i>miR-124a-2</i>	AUCAAGAUUAGAGGCUCUGCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCU UGAUUAAAUGUCAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAG AGCGGAGCCUACGGCUGCACUUGAAG	119
<i>miR-124a-3</i>	UGAGGGCCCCUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUAAAUG UCUAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAGAGGGGCC UCC	120
<i>miR-124a</i>	CUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUAAAUGUCUAUACAA UUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG	121
<i>miR-124b</i>	CUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUAAAUGUCAUACAAU UAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG	122
<i>miR-125a-1</i>	UGCCAGUCUCUAGGUCCCUGAGACCCUUUAACCUGUGAGGAC AUCCAGGGUCACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGGCGUCUGG CC	123
<i>miR-125a-2</i>	GGUCCUGAGACCCUUUAACCUGUGAGGACAUCCAGGGUCAC AGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGG	124
<i>miR-125b-1</i>	UGCGCUCCUCUCAGUCCCUGAGACCCUAACUUGUGAUGUUUA CCGUUUAAAUCCACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCUGCGAGUCG UGCU	125
<i>miR-125b-2</i>	ACCAGACUUUCCUAGUCCCUGAGACCCUAACUUGUGAGGUA UUUUAGUAACAUCACAAGUCAGGCUCUUGGGACCUAGGCGGA GGGGA	126
<i>miR-126-1</i>	CGCUGGCGACGGGACAUAUUACUUUUGGUACGCGCUGUGAC ACUUCAAACUCGUACCGUGAGUAAUAAUGCGCCGUCCACGGC A	127

ES 2 545 360 T3

<i>miR-126-2</i>	ACA <u>UUAAUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUCAAACUCGU</u> ACCGUGAGUAAUAAUGCGC	128
<i>miR-127-1</i>	UGUGAUCACUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUG AUUCAGAAAGAUCAUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG AAGUCUCAUCAUC	129
<i>miR-127-2</i>	CCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAAAGAUCA UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG	130
<i>miR-128a</i>	UGAGCUGUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUU ACA <u>UUUCUCACAGUGAACCGGUCUCUUUUUCAGCUGCUUC</u>	131
<i>miR-128b</i>	GCCCGGCAGCCACUGUGCAGUGGGAAGGGGGGCCGAUACACU GUACGAGAGUGAGUAGCAGGUCUCACAGUGAACCGGUCUCUU UCCCUACUGUGUCACACUCCUAAUGG	132
<i>miR-128</i>	GUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUUACA <u>UUU</u> CUCACAGUGAACCGGUCUCUUUUUCAGC	133
<i>miR-129-1</i>	UGGAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGUCCUCUCAACAGU AGUCAGGAAGCCCUAACCCCAAAAAGUAUCUA	134
<i>miR-129-2</i>	UGCCCUUCGCGAAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGUACA <u>U</u> AACUCAAUAGCCGGAAGCCCUAACCCCAAAAAGCAUUUGCGG AGGGCG	135
<i>miR-130a</i>	UGCUGCUGGCCAGAGCUCUUUUCACAUUGUGCUACUGUCUGC ACCUGUCACUAGCAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAUUGGCCGUG UAGUG	136
<i>miR-131-1</i>	GCCAGGAGGCGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUG UAUGAGUGGUGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAA <u>CCGAAAG</u> UAAAAUAACCCCAUACACUGCGCAG	137
<i>miR-131-3</i>	CACGGCGCGGCAGCGGCACUGGCCUAAGGGAGGCCCGUUUCUC UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGCCACAGAGCCGUC <u>AUA</u> AAGCUAGAUAAACCGAAAGUAGAAAUG	138
<i>miR-131</i>	GUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGUAUUGGUCU UCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAC	139
<i>miR-132-1</i>	CCGCCCCCGCUCUCCAGGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUAC UGUGGGAACUGGAGGUAACAGUCUACAGCCAUGGUCGCCCCG CAGCACGCCACGCGC	140
<i>miR-132-2</i>	GGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUACUGUGGGAACUGGAGGU AACAGUCUACAGCCAUGGUCGCCC	141
<i>miR-133a-1</i>	ACAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAA <u>U</u> CGCCU CUUCAAUUGGAUUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGCUAUGCA UUGA	142
<i>miR-133a-2</i>	GGGAGCCAA <u>U</u> AGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAA UCGACUGUCCAUGGAUUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGC UGUGCAUUGAUGGCGCCG	143

<i>miR-133</i>	GCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAUCGCCUCUCAAUGGA UUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGC	144
<i>miR-133b</i>	CCUCAGAAGAAAGAUGCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGA ACCAAGUCCGUCUCCUGAGAGGUUUGGUCCCCUUAACCAG CUACAGCAGGGCUGGCAAUGCCCAGUCCUUGGAGA	145
<i>miR-133b-pequeño</i>	GCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUCCGUCUCC UGAGAGGUUUGGUCCCCUUAACCAGCUACAGCAGGG	146
<i>miR-134-1</i>	CAGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACUGUGUU CACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAACCCUC	147
<i>miR-134-2</i>	AGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACUGUGUUC ACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAACCCU	148
<i>miR-135a-1</i>	AGGCCUCGCUGUUCUCUAUGGCUUUUUAUCCUAUGUGAUUC UACUGCUCACUCAUAUAGGGAUUGGAGCCGUGGGCGCACGGCG GGGACA	149
<i>miR-13a-2 (miR-135-2)</i>	AGAUAAAUUCACUCUAGUGCUUUAUGGCUUUUUAUCCUAUG UGAUAGUAAUAAGUCUCAUGUAGGGAUGGAAGCCAUGAAAU ACAUUGUGAAAAUCA	150
<i>miR-135</i>	CUAUGGCUUUUUAUCCUAUGUGAUUCUACUGCUCACUCAUA UAGGGAUUGGAGCCGUGG	151
<i>miR-135b</i>	CACUCUGCUGUGGCCUAUGGCUUUUAUCCUAUGUGAUUGC UGUCCCAAACUCAUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGGCUACAGUG AGGGGCGAGCUCC	152
<i>miR-136-1</i>	UGAGCCCUCGGAGGACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGAUUCUU AUGCUCCAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCUUCAGAGGGUUCU	153
<i>miR-136-2</i>	GAGGACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGAUUCUUAUGCUCCAUC AUCGUCUCAAAUGAGUCUUC	154
<i>miR-137</i>	CUUCGGUGACGGGUAUUCUUGGGUGGAUAAUACGGAUUACGU UGUUAUUGCUUAAGAAUACGCGUAGUCGAGG	155
<i>miR-138-1</i>	CCUGGCAUGGUGUGGGGCGAGCUGGUGUUGUGAAUCAGG CCGUUGCCAAUCAGAGAACGGCUACUUCACAACACCAGGGCC ACACCACACUACAGG	156
<i>miR-138-2</i>	CGUUGCUGCAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCG CAUCCUCUUAACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGUUGCAUCA	157
<i>miR-138</i>	CAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCGCAUCCUCU UACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGUUG	158
<i>miR-139</i>	GUGUAUUCUACAGUGCACGUGUCUCCAGUGUGGCUCGGAGGC UGGAGACGCGGCCUGUUGGAGUAAC	159
<i>miR-140</i>	UGUGUCUCUCUCUGUGUCCUGCCAGUGGUUUUAACCCUAUGGU AGGUUACGUCAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGAC AGGAUACCGGGGCACC	160

<i>miR-140as</i>	UCCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUG UUCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGGA	161
<i>miR-140s</i>	CCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUGU UCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGG	162
<i>miR-141-1</i>	CGGCCGGCCUGGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGU CUAAUUGUGAAGCUCCUAAACACUGUCUGGUAAAAGAUGGCCUCC CGGGUGGGUUC	163
<i>miR-141-2</i>	GGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUCUAAUUGUGAA GCUCCUAAACACUGUCUGGUAAAAGAUGGCC	164
<i>miR-142</i>	ACCAUAAAGUAGAAAGCACUACUAAACAGCACUGGAGGGUGU AGUGUUUCCUACUUUAUGGAUG	165
<i>miR-143-1</i>	GCGCAGCGCCUGUCUCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUC UCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGG AAGAGAGAAGUUGUUCUGCAGC	166
<i>miR-143-2</i>	CCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGA GAUGAAGCACUGUAGCUCAGG	167
<i>miR-144-1</i>	UGGGGCCUGGCUGGGAUUAUCAUAUACUGUAAGUUUGCG AUGAGACACUACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUCCGGGCACCC CC	168
<i>miR-144-2</i>	GGCUGGGAUUAUCAUAUACUGUAAGUUUGCGAUGAGACAC UACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUC	169
<i>miR-145-1</i>	CACCUUGUCCUCACGGUCCAGUUUCCAGGAAUCCCUAGA UGCUAAGAUGGGGAUCCUGGAAUACUGUUCUUGAGGUCAU GGUU	170
<i>miR-145-2</i>	CUCACGGUCCAGUUUCCAGGAAUCCCUAGAUGCUAAGAU GGGGAUCCUGGAAUACUGUUCUUGAG	171
<i>miR-146-1</i>	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUUGAGAACUGAAUCCAUGGGUU GUGUCAGUGUCAGACCUCUGAAAUUCAGUUCUUCAGCUGGGA UAUCUCUGUCAUCGU	172
<i>miR-146-2</i>	AGCUUUGAGAACUGAAUCCAUGGGUUGUGUCAGUGUCAGAC CUGUGAAAUUCAGUUCUUCAGCU	173
<i>miR-147</i>	AAUCUAAAGACAACAUUUCUGCACACACCAGACUAUGGAA GCCAGUGUGUGGAAUUCUUCUGCUAGAUU	174
<i>miR-148a</i> (<i>miR-148</i>)	GAGGCAAAGUUCUGAGACACUCCGACUCUGAGUAUGAUAGAA GUCAGUGCACUACAGAACUUUGUCUC	175
<i>miR-148b</i>	CAAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUC AGGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAUCACAGAACUUUGU CUCGAAAGCUUUCUA	176
<i>miR-148b-pequeño</i>	AAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUCA GGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAU	177

<i>miR-149-1</i>	GCCGGCGCCCGAGCUCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCCGUGCUU GUCCGAGGAGGGAGGGAGGGACGGGGGCUGUGCUGGGGCAGC UGGA	178
<i>miR-149-2</i>	GCUCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCCGUGCUUGUCCGAGGAGG GAGGGAGGGAC	179
<i>miR-150-1</i>	CUCCCCAUGGCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGC UCAGACCCUGGUACAGGCCUGGGGGACAGGGACCUGGGGAC	180
<i>miR-150-2</i>	CCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGCUCAGACCCUG GUACAGGCCUGGGGGACAGGG	181
<i>miR-151</i>	UUUCCUGCCCUCGAGGAGCUCACAGUCUAGUAUGUCUCAUCC CCUACUAGACUGAAGCUCCUUGAGGACAGG	182
<i>miR-151-2</i>	CCUGUCCUCAAGGAGCUUCAGUCUAGUAGGGGAUGAGACAUA CUAGACUGUGAGCUCCUCGAGGGCAGG	183
<i>miR-152-1</i>	UGUCCCCCCCCGGCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGC UCUGGAGCAGUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCCGGAAGGA CC	184
<i>miR-152-2</i>	GGCCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGCUCUGGAGCA GUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCCGG	185
<i>miR-153-1-1</i>	CUCACAGCUGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUCUGCAGCUAGUAU UCUCACUCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGCAGG UGUGGC	186
<i>miR-153-1-2</i>	UCUCUCUCUCCUCACAGCUGCCAGUGUCAUUGUCACAAAAG UGAUCAUUGGCAGGUGUGGCUCGUGCAUG	187
<i>miR-153-2-1</i>	AGCGGUGGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAU AUGAGCCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGAAACU GUG	188
<i>miR-153-2-2</i>	CAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAUAUGAGCCCA GUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUG	189
<i>miR-154-1</i>	GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUAU UUGUGACGAAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUUCAGUACCAA GAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUAUUUGUGACGA	190
<i>miR-154-2</i>	AUCAUACACGGUUGACCUAUUUUU	191
<i>miR-155</i>	CUGUUA AUGCUAAUCGUGAUAGGGGUUUUUGCCUCCAACUGA CUCCUACAUAUAGCAUUAACAG	192
<i>miR-156</i> = <i>miR-157</i> = solapamiento con <i>miR-141</i>	CCUAACACUGUCUGGUAAAGAUGGCUCCCGGGUGGGUUCUCU CGGCAGUAACCUUCAGGGAGCCCUGAAGACCAUGGAGGAC	193
<i>miR-158- pequeño</i> = <i>miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAG CCAGUGCUCUCGUCUCCUCUGGCUGCCAAUCCAUAUGGUCA CAGGUAUGUUCGCCUCA AUGCCAGC	194

<i>miR-159-1-pequeño</i>	UCCCGCCCCUGUAACAGCAACUCCAUGUGGAAGUGCCCACUG GUUCCAGUGGGGCGUCUGUUAUCUGGGGCGAGGGCCA	195
<i>miR-161-pequeño</i>	AAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGUGACUGGUC UGGGCUACGCUAUGCUGCGGGCGCUCGGG	196
<i>miR-163-1b-pequeño</i>	CAUUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCCACC CGGGGUAAGAAAGGCCGAAUU	197
<i>miR-163-3-pequeño</i>	CCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCCACCUGGGGUAGA GGUGAAAGUUCUUUUACGGAAUUUUUU	198
<i>miR-162</i>	CAAUGUCAGCAGUGCCU <u>UAGCAGCACGU</u> AAAUUUGGCGUUA AGAUCUAAAAUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGU AAGGUUGACCAUACUCUACAGUUG	199
<i>miR-175-pequeño</i> = <i>miR-224</i>	GGGCUUUCAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUGAUUGU GCAUUGUUUCAA <u>AAUGGUGCCC</u> UAGUGACUACAAGCCC	200
<i>miR-177-pequeño</i>	ACGCAAGUGUCCUAAGGUGAGCUCAGGGAGCACAGAAACCUC CAGUGGAACAGAAGGGCAAAGCUCAUU	201
<i>miR-180-pequeño</i>	CAUGUGUCACUUUCAGGUGGAGUUUCAAGAGUCCCUUCCUGG UUCACCGUCUCCUUUGCUCUCCACAAC	202
<i>miR-181a</i>	AGAAGGGCUAUCAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCCAAGGAACA <u>UUCAACGCUGUCGGUGAGU</u> UUGGGAUUUGAAAAACCACUGA CCGUUGACUGUACCUUGGGGUCCUUA	203
<i>miR-181b-1</i>	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUAAAAGGUCACAAUCAACA <u>UUC</u> <u>AUUGCUGUCGGUGGGU</u> UGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA CAAUGAAUGCAACUGUGGCCCCCGCUU	204
<i>miR-181b-2</i>	CUGAUGGCUGCACUCAACA <u>UUCAUUGCUGUCGGUGGGU</u> UUGA GUCUGAAUCAACUCACUGAUCAAUGAAUGCAAACUGCGGACC AAACA	205
<i>miR-181c</i>	CGGAAAAUUUGCCAAGGGUUUGGGGGAACA <u>UUCAACCUGUCG</u> <u>GUGAGUUUGGGCAGCUCAGGCAAACCAUCGACCGUUGAGUGG</u> ACCCUGAGGCCUGGAAUUGCCA <u>UCCU</u>	206
<i>miR-182-as</i>	GAGCUGCUUGCCUCCCCCGUUUUUGGCAAUGGUAGA <u>ACUCA</u> <u>CACUGGUGAGGUAACAGGAUCCGGUGGUUCUAGACUUGCCAA</u> <u>CUAUGGGGCGAGGACUCAGCCGGCAC</u>	207
<i>miR-182</i>	UUUUUGGCAAUGGUAGAACUCACACUGGUGAGGUAACAGGAU CCGGUGGUUCUAGACUUGCCAACUAUGG	208
<i>miR-183</i>	CCGAGAGUGUGACUCCUGUUCUGUGUAUGGCACUGGUAGAA <u>UUCACUGUGAACAGUCUCAGUCAGUGAAUUACCGAAGGGCCA</u> UAAACAGAGCAGAGACAGAUCCACGA	209
<i>miR-184-1</i>	CCAGUCACGUCCCCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGAC UGUAAGUGUUGGACGGAGAACUGAUAAAGGGUAGGUGAUUGA	210

<i>miR-184-2</i>	CCUUAUCACUUU <u>UCCAGCCCAGCUUUGUGACUGUAAGUGUUG</u> GACGGAGAACUGAU <u>AAGGGUAGG</u>	211
<i>miR-185-1</i>	AGGGGGCGAGGG <u>AUUGGAGAGAAAGGCAGU</u> UCCUGAUGGUCC CCUCCCCAGGGGCUGGGCUU <u>UCCUCUGGUCCU</u> UCCCUCCCA	212
<i>miR-185-2</i>	AGGG <u>AUUGGAGAGAAAGGCAGU</u> UCCUGAUGGUCC <u>CCCUCCCA</u> GGGGCUGGGCUU <u>UCCUCUGGUCCU</u>	213
<i>miR-186-1</i>	UGC <u>UUGUAACUUCCA</u> AAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGG UUUUAAUUUAAGCCCAAGGUGAAUUUUUUGGGAAGUUUGA GCU	214
<i>miR-186-2</i>	ACUUCCA <u>AAAGAAUUCUCCUUU</u> UGGGCUUUCUGGUUUUAUUU UAAGCCCAAGGUGAAUUUUUUGGGAAGU	215
<i>miR-187</i>	GGUCGGGCUCACCAUGACACAGUGUGAGACUCGGGCUACAAC ACAGGACCCGGGGCGCUGCUCUGACCCU <u>CGUGUCUUGUGUU</u> GCAGCCGGAGGGACGCAGGUCCGCA	216
<i>miR-188-1</i>	UGC <u>UCCUCUCUCACA</u> UCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUU UCUGAAAACCCCUCCCAUGCAGGGUUUGCAGGAUGGCGAG CC	217
<i>miR-188-2</i>	UCUCACA <u>UCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCU</u> UUCUGAAAAC CCCUCCCAUGCAGGGUUUGCAGGA	218
<i>miR-189-1</i>	CUGUCGAUUGGACCCGCCCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAU <u>AU</u> CAGUUCUCAUUUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGG AGUCGAGCCCUUGAGCAA	219
<i>miR-189-2</i>	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAU <u>AUCAGUUCUCAUUUU</u> ACACA CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	220
<i>miR-190-1</i>	UGCAGGCCUCUGUGUGAU <u>AUGUUUGAUUAUU</u> AGGUUGUUUAAUCCA UUAAUCCAACUAUAUAUCAAAACAUAUCCUACAGUGUCUUGC C	221
<i>miR-190-2</i>	CUGUGUGAU <u>AUGUUUGAUUAUU</u> AGGUUGUUUAAUCCA ACUAUAUAUCAAAACAUAUCCUACAG	222
<i>miR-191-1</i>	CGGCUGGACAGCGGGCAACGGAAUCCCAAAGCAGCUGUUGU CUCCAGAGCAUCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCUC UCCUGCCU	223
<i>miR-191-2</i>	AGCGGGCAACGGAAUCCCAAAGCAGCUGUUGUCUCCAGAGC AUUCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCU	224
<i>miR-192-2/3</i>	CCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAGC CAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUCCAUAGGUCAC AGGUAUGUUCGCCUCAUUGCCAG	225
<i>miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAG CCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUCCAUAGGUCA CAGGUAUGUUCGCCUCAUUGCCAGC	226

ES 2 545 360 T3

<i>miR-193-1</i>	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGA GGGUGUCGGAUCAACUGGCCUACAAAGUCCCAGUUCUCGGCC CCCCG	227
<i>miR-193-2</i>	GCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCAACUGG CCUACAAAGUCCCAGU	228
<i>miR-194-1</i>	AUGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGU ACCAAUUUCCAGUGGAGAUGCUGUUACUUUUGAUGGUUACCA A	229
<i>miR-194-2</i>	GUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAAUUUCCAGU GGAGAUGCUGUUACUUUUGAU	230
<i>miR-195-1</i>	AGCUUCCCUGGCUCUAGCAGCACAGAAUAUUGGCACAGGGA AGCGAGUCUGCCAAUAUUGGCUGUGCUGCUCUCCAGGCAGGGUG GUG	231
<i>miR-195-2</i>	UAGCAGCACAGAAUAUUGGCACAGGGAAGCGAGUCUGCCAA UAUUGGCUGUGCUGCU	232
<i>miR-196-1</i>	CUAGAGCUUGAAUUGGAACUGCUGAGUGAAUUAGGUAGUUUC AUGUUGUUGGGCCUGGGUUCUGAACACAACAACAUAUAAACC ACCCGAUUCACGGCAGUUACUGCUC	233
<i>miR-196a-1</i>	GUGAAUUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUCUGAA CACAACAACAUAUAAACCACCCGAUUCAC	234
<i>miR-196a-2</i> (<i>miR-196-2</i>)	UGCUCGCUCAGCUGAUCUGUGGCUUAGGUAGUUUCAUGUUGU UGGGAUUGAGUUUGAACUCGGCAACAAGAAACUGCCUGAGU UACAUCAGUCGGUUUUCGUCGAGGGC	235
<i>miR-196</i>	GUGAAUUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUCUGAA CACAACAACAUAUAAACCACCCGAUUCAC	236
<i>miR-196b</i>	ACUGGUCGGUGAUUUAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGAUCCAC CUUUCUCUCGACAGCACGACACUGCCUUCAUUACUUCAGUUG GGCUGUGCCGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAAGAGCUCUU	237
<i>miR-197</i>	CACCCUUCACCACCUUCCACCCAGCAUGGCC	238
<i>miR-197-2</i>	GUGCAUGUGUAUGUAUGUGUGCAUGUGCAUGUGUAUGUGUA UGAGUGCAUGCGUGUGUC	239
<i>miR-198</i>	UCAUUGGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUCCUGUGAUUUUCCUU CUUCUCUAUAGAAUAAAUGA	240
<i>miR-199a-1</i>	GCCAACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAAU GUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGC	241
<i>miR-199a-2</i>	AGGAAGCUUCUGGAGAUCUGCUCGCCCCAGUGUUCAG ACUACCUGUUCAGGACAAUGCCGUUGUACAGUAGUCUGCACA UUGGUUAGACUGGGCAAGGGAGAGCA	242

<i>miR-199b</i>	<u>CCAGAGGACACCUCCACUCCGUCUACCCAGUGUUUAGACUAU</u> <u>CUGUUUCAGGACUCCCAAUUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGU</u> UAGGCUGGGCUGGGUUAGACCCUCGG	243
<i>miR-199s</i>	GCCAACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAAU GUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGC	244
<i>miR-200a</i>	GCCGUGGCCAUCUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCAGGUC UCUAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACGGC	245
<i>miR-200b</i>	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUCUACUGGGCAGCAUUGGA UGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACGGCGG AGCCCUGCACG	246
<i>miR-200c</i>	CCCUCGUCUACCCAGCAGUGUUUGGGUGCGGUUGGGAGUCU CUAAUACUGCCGGUAAUGAUGGAGG	247
<i>miR-202</i>	GUUCCUUUUUCCUAUGCAUAUACUUCUUUGAGGAUCUGGCCU AAAGAGGUUAUAGGGCAUGGGAAGAUGGAGC	248
<i>miR-203</i>	GUGUUGGGACUCGCGCGCUGGGUCCAGUGGUUCUUAACAGU UCAACAGUUCUGUAGCGCAAUUGUGAAAUGUUUAGGACCACU AGACCCGGCGGGCGCGGCAGCGA	249
<i>miR-204</i>	GGCUACAGUCUUUCUUAUGUGACUCGUGGACUUCUUUGU CAUCCUAUGCCUGAGAAUAUAUGAAGGAGGCUGGGAAGGCAA AGGGACGUCAAUUGUCAUCACUGGC	250
<i>miR-205</i>	AAAGAUCUCAGACAAUCCAUGUGCUUCUCUUGUCCUUAUU CCACCGGAGUCUGUCUCAUACCCAACCAGAUUUCAGUGGAGU GAAGUUCAGGAGGCAUGGAGCUGACA	251
<i>miR-206-1</i>	UGC U U C C C G A G G C C A C A U G C U U C U U A U A U C C C C A U A U G G A U U A C U U U G C U A U G G A A U G U A A G G A A G U G U G U G G U U U C G G C A A G U G	252
<i>miR-206-2</i>	AGGCCACAUGCUUCUUAUAUCCCCAU AUGGAUUACUUUGCU AUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUU	253
<i>miR-208</i>	UGACGGGCGAGCUUUUGGCCCGGGUUAUACCUGAUGCUCACG UAUAAGACGAGCAAAAAGCUUGUUGGUCA	254
<i>miR-210</i>	ACCCGGCAGUGCCUCCAGGCGCAGGGCAGCCCCUGCCCACCGC ACACUGCGCUGCCCCAGACCCACUGUGCGUGUGACAGCGGCU GAUCUGUGCCUGGGCAGCGGACCC	255
<i>miR-211</i>	UCACCUGGCCAUGUGACUUGUGGGGUUCUUUGUCAUCCUU CGCCUAGGGCUCUGAGCAGGGCAGGGACAGCAAAGGGGUGCU CAGUUGUCACUCCCCACAGCACGGAG	256
<i>miR-212</i>	CGGGGCACCCCGCCCGGACAGCGCGCCGGCACCUUGGCUCUAG ACUGCUUACUGCCCGGGCCGCCUCAGUAAACAGUCUCCAGUCA CGGCCACCGACGCCUGGCCCGCC	257

<i>miR-213-2</i>	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUAAAAGGUCACAAUCA <u>ACAUUC</u> AUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA CAAUGAAUGCAACUGUGGGCCCCGCUU	258
<i>miR-213</i>	GAGUUUUGAGGUUGCUUCAGUGAACAUUCAACGCUGUCGGUG AGUUUGGAAUUAAAUCAAAACCAUCGACCGUUGAUUGUACC CUAUGGCUAACCAUCAUCUACUCC	259
<i>miR-214</i>	GGCCUGGCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUCUACAC UUGCUGUGCAGAACAUCCGCUCACCUGU <u>ACAGCAGGCACAGA</u> <u>CAGGCAGUCACAUGACAACCCAGCCU</u>	260
<i>miR-215</i>	AUCAUUCAGAAAUGGUUAUCAGGAAAAUGACCUAUGAAUUGA <u>CAGACAUAUAGCUGAGUUUGUCUGUCAUUUCUUUAGGCCAA</u> UAUUCUGUAUGACUGUGCUACUCAA	261
<i>miR-216</i>	GAUGGCUGUGAGUUGGCU <u>UAAUCUCAGCUGGCAACUGUGAGA</u> UGUUCAUACAAUCCUCACAGUGGUCUCUGGGAUUAUGCUAA ACAGAGCAAUUUCCUAGCCUCACGA	262
<i>miR-217</i>	AGUAUAUUUAUUACAUAUAGUUUUUGAUGUCGCAGAU <u>ACUGCAU</u> <u>CAGGAACUGAUUGGAUAAGAAUCAGUCACCAUCAGUCCUAA</u> UGCAUUGCCUUCAGCAUCUAAACAAG	263
<i>miR-218-1</i>	GUGAUAAUGUAGCGAGAUUUUCUGU <u>UGUGCUUGAUCUAACCA</u> <u>UGUGGUUGCGAGGUAUGAGUAAAACAUGGUUCCGUCAAGCAC</u> CAUGGAACGUCACGCAGCUUUCUACA	264
<i>miR-218-2</i>	GACCAGUCGCUGCGGGGCUUCCU <u>UUGUGCUUGAUCUAACCA</u> <u>UGUGGUGGAACGAUGGAAACGGAACAUGGUUCUGUCAAGCAC</u> CGCGGAAAGCACCGUGCUCUCCUGCA	265
<i>miR-219</i>	CCGCCCCGGGCCCGCGGCUC <u>CCUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCG</u> AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAG CCGCCGCCCCCAAACCUCGAGCGGG	266
<i>miR-219-1</i>	CCGCCCCGGGCCCGCGGCUC <u>CCUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCG</u> AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAG CCGCCGCCCCCAAACCUCGAGCGGG	267
<i>miR-219-2</i>	ACUCAGGGGCUUCGCCACUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUUGU ACGAGUCUGCGGCCAACCGAGAAUUGUGGCUGGACAUCUGUG GCUGAGCUCCGGG	268
<i>miR-220</i>	GACAGUGUGGCAUUGUAGGGC <u>UCCACACCGUAUCUGACACUU</u> <u>UGGGCGAGGGCACCAUGCUGAAGGUGUUCAUGAUGCGGUCUG</u> GGAACUCCUCACGGAUUCUACUGAUG	269
<i>miR-221</i>	UGAACAUCCAGGUCUGGGGCAUGAACCGGCAUACA <u>AUGUAG</u> AUUUCUGUGUUCGUUAGGCAACAGCUACA <u>UUGUCUGCGGGU</u> <u>UUCAGGCUACCUGGAAACAUGUUCUC</u>	270

miR-222	GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCA AUGGCUCAGUAGCCAG UGUAGA UCCUGUCUUUCGUA AUCAGCAGCUACAUCUGGCUAC UGGGUCUCUGAUGGCAUCUUCUAGCU	271
miR-223	CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCUC CGUGUAUUUGACAAGCU GAGUUGGACACUCCAUGUGGUAGAGUGUCAGUUUGUCAAAUA CCCCAAGUGCGGCACAUGCUUACCAG	272
miR-224	GGGCUUUCAAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUGAUUGU GCAUUGUUUCAAAAUGGUGCCCUAGUGACUACAAAGCCC	273
miR-294-1 (chr16)	CAAUCUCCUUUAUCAUGGUAAUUGAUUUUCAGUGCUUCCCU UUUGUGUGAGAGAAGUA	274
miR-296	AGGACCCUCCAGAGGGCCCCCCCUC AAUCCUGUUGUGCCUAA UUCAGAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCCUGAAGGGCUCU	275
miR-299	AAGAAUUGGUUUACCGUCCACAUA CAUUUUGAAUAUGUAUG UGGGAUGGUAAACCGCUUCU	276
miR-301	ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUUAUUGCACUACUGUACUUU ACAGCUAGCAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAAGCAUCUGAAAGCA GG	277
miR-302a	CCACCACUAAAACGUGGAUGUACUUGCUUUGAAACUAAAAGAA GUAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGAUGG	278
miR-302b	GCUCCCUUCAACUUUAACAUGGGAAGUGCUUUCUGUGACUUUA AAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUUAAGUAGGAGU	279
miR-302c	CCUUUGCUUUAACAUGGGGGUACCUGCUGUGUGAAACAAAAG UAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGGAGG	280
miR-302d	CCUCUACUUUAACAUGGAGGCACUUGCUGUGACAUGACAAAA AUAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGUGG	281
miR-320	GCUUCGCUCUCCUCCGCCUUCUCUUC CCGGUUCUCCCGGAGU CGGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGGCGAAAAGGAUGAGGU	282
miR-321	UUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCACCCG GGGUAAGAAAGGCCGA	283
miR-323	UUGGUACUUGGAGAGAGGUGGUC CGUGGCGGUUCGCUUUAU UUUAGGCGCACAUUACACGGUCGACCUCUUUGCAGUAUCUAA UC	284
miR-324	CUGACUAUGCCUCCCCGCAUCCCCU AGGGCAUUGGUGUAAAG CUGGAGACCCACUGCCCCAGGUGCUGCUGGGGGUUGUAGUC	285
miR-325	AUACAGUGCUUGGUUCCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGUUUGU GACAUAAUUUGUUUAUUGAGGACCUCUAUCAAUCAAGCACU GUGCUAGGCUCUGG	286
miR-326	CUCAUCUGUCUGUUGGGCUGGAGGC AGGGCCUUUGUGAAGGC GGGUGGUGCUCAGAUCGCCUCUGGGCCCUUCCUCCAGCCCCGA GGCGGAUUCA	287
miR-328	UGGAGUGGGGGGGCAGGAGGGGCUC AGGGAGAAAGUGCAUAC AGCCCCUGGCCUCUCUGCCCUUCCGUCCCCUG	288

<i>miR-330</i>	CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGCUCU GCAAGAUCAACCGAGCAAAGCACACGGCCUGCAGAGAGGCAG CGCUCUGCCC	289
<i>miR-331</i>	GAGUUUGGUUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGUAUGGUCCCAGG GAUCCCAGAUCAAACCAGGCCCCUGGGCCUAUCCUAGAACCAA CCUAAGCUC	290
<i>miR-335</i>	UGUUUUGAGCGGGGGUCAAGAGCAAUAACGAAAAUGUUUGU CAUAAACCGUUUUUCAUUAUUGCUCUCCUGACCUCUCUCAUUU GCUAUAUUCA	291
<i>miR-337</i>	GUAGUCAGUAGUUGGGGGGUGGGAACGGCUUCAUACAGGAGU UGAUGCACAGUUAUCCAGCUCCUAUAUGAUGCCUUUCUUCAU CCCCUUCAA	292
<i>miR-338</i>	UCUCCAACAUAUACCUGGUGCUGAGUGAUGACUCAGGGCAGU CCAGCAUCAGUGAUUUUGUUGAAGA	293
<i>miR-339</i>	CGGGGCGGCCGCUCUCCCUGUCCUCCAGGAGCUCACGUGUGCC UGCCUGUGAGCGCCUCGACGACAGAGCCGGCGCCUGCCCCAGU GUCUGCGC	294
<i>miR-340</i>	UUGUACCUGGUGUGAUUAUAAAGCAAUGAGACUGAUUGUCAU AUGUCGUUUGUGGGAUCCGUCUCAGUUACUUUAUAGCCAUAAC CUGGUAUCUUA	295
<i>miR-342</i>	GAAACUGGGCUC AAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUUGAGGG ACAUGGUUAAUGGAAUUGUCUCACACAGAAAUCGCACCCGUC ACCUUGGCCUACUUA	296
<i>miR-345</i>	ACCAAACCCUAGGUCUGCUGACUCCUAGUCCAGGGCUCGUG AUGGCUGGUGGGCCCUGAACGAGGGGUCUGGAGGCCUGGGUU UGAAUAUCGACAGC	297
<i>miR-346</i>	GUCUGUCUGCCCCGAUGCCUGCCUCUCUGUUGCUCUGAAGGA GGCAGGGGCUGGGCCUGCAGCUGCCUGGGCAGAGCGGCUCCU GC	298
<i>miR-367</i>	CCAUUACUGUUGC UAAUAUGCAACUCUGUUGAAUAUAAAUUG GAAUUGCACUUUAGCAAUGGUGAUGG	299
<i>miR-368</i>	AAAAGGUGGAUAUCCUUCUAUGUUUAUGUUUUUAUGGUUA AACAUAGAGGAAAUCCACGUUUU	300
<i>miR-369</i>	UUGAAGGGAGAU CGACCGUGUUUAUUCGCUUUUAUUGACUUC GAAUAAUACAUGGUUGAUCUUUUCUCAG	301
<i>miR-370</i>	AGACAGAGAAGCCAGGUCACGUCUCUGCAGUUACACAGCUC A CGAGUGCCUGCUGGGGUGGAACCUGGUCUGUCU	302
<i>miR-371</i>	GUGGCACUCAAACUGUGGGGGCACUUUCUGCUCUCUGGUGAA AGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUAC	303
<i>miR-372</i>	GUGGGCCUCAA AUGUGGAGCACUAUUCUGAUGUCCAAGUGGA AAGUGCUGCGACA UUGAGCGUCAC	304

<i>miR-373</i>	GGGAUACUCAAAAUGGGGGCGCUUCCUUUUUGUCUGUACUG GGAAGUGCUUCGAUUUUGGGGUGUCCC	305
<i>miR-374</i>	UACAUCGGCCAUAUAUAACAACCUGAUAAGUGUUUAUAGCAC UUAUCAGAUUGUAUUGUAAUUGUCUGUGUA	306
<i>miR-hes1</i>	AUGGAGCUGCACCCUGUGGGCCUCAAAUGUGGAGGAACUA UUCUGAUGUCCAAGUGGAAAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCA CCGGUGACGCCCAUAUCA	307
<i>miR-hes2</i>	GCAUCCCCUCAGCCUGUGGCACUCAAAACUGUGGGGGCACUUU CUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCGCAUCUUUUGAGUGUUACCG CUUGAGAAGACUCAACC	308
<i>miR-hes3</i>	CGAGGAGCUCAUACUGGGGAUACUCAAAAUGGGGGCGCUUCC UUUUUGUCUGUUACUGGGAAAGUGCUCGUAUUUUGGGGUGUCC CUGUUUGAGUAGGGCAUC	309

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

Tabla 1b- Secuencias de microARN maduro humano.

Nombre de miARN Maduro	Secuencia de miARN Maduro (5' a 3')	SEC ID N°	microARN precursor correspondiente; véase Tabla 1a
<i>let-7a</i>	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>	ugagguaguagguuguauaguu	312	<i>let-7c</i>
<i>let-7d</i>	agagguaguagguugcauagu	313	<i>let-7d; let-7d-v1</i>
<i>let-7e</i>	ugagguagguagguuguauaguu	314	<i>let-7e</i>
<i>let-7f</i>	ugagguaguaguuuguauaguu	315	<i>let-7f-1; let-7f-2-1; let-7f-2-2</i>
<i>let-7g</i>	ugagguaguaguuugucagu	316	<i>let-7g</i>
<i>let-7i</i>	ugagguaguaguuugucgu	317	<i>let-7i</i>
<i>miR-1</i>	uggaauguaaagaaguauagua	318	<i>miR-1b; miR-1b-1; miR-1b-2</i>
<i>miR-7</i>	uggaagacuaguguuuuuuuu	319	<i>miR-7-1; miR-7-1a; miR-7-2; miR-7-3</i>
<i>miR-9</i>	ucuuugguuuauaucugcuguauga	320	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-9*</i>	uaaagcuagauaacggaagu	321	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-10a</i>	uaccuguagauccgaauuugug	322	<i>miR-10a</i>
<i>miR-10b</i>	uaccuguagaaccgaauuugu	323	<i>miR-10b</i>
<i>miR-15a</i>	uagcagcacauaagguuuugug	324	<i>miR-15a; miR-15a-2</i>
<i>miR-15b</i>	uagcagcacaucaugguuuaca	325	<i>miR-15b</i>
<i>miR-16</i>	uagcagcagguaaauuuggcg	326	<i>miR-16-1; miR-16-2; miR-16-13</i>
<i>miR-17-5p</i>	caaagugcuuacagugcagguagu	327	<i>miR-17</i>
<i>miR-17-3p</i>	acugcagugaaggcacuugu	328	<i>miR-17</i>
<i>miR-18</i>	uaaggugcaucuagugcagaua	329	<i>miR-18; miR-18-13</i>
<i>miR-19a</i>	ugugcaaaucuaugcaaaacuga	330	<i>miR-19a; miR-19a-13</i>
<i>miR-19b</i>	ugugcaaaucuaugcaaaacuga	331	<i>miR-19b-1; miR-19b-2</i>
<i>miR-20</i>	uaaagugcuuauagugcaggua	332	<i>miR-20 (miR-20a)</i>
<i>miR-21</i>	uagcuuauacagacugauguuga	333	<i>miR-21; miR-21-17</i>
<i>miR-22</i>	aagcugccaguugaagaacugu	334	<i>miR-22</i>
<i>miR-23a</i>	aucacauugccagggaauucc	335	<i>miR-23a</i>
<i>miR-23b</i>	aucacauugccagggaauaccac	336	<i>miR-23b</i>
<i>miR-24</i>	uggcucaguuacagcaggaacag	337	<i>miR-24-1; miR-24-2; miR-24-19; miR-24-9</i>
<i>miR-25</i>	cauugcacuugucugcggucuga	338	<i>miR-25</i>
<i>miR-26a</i>	uucaaguaauccaggauaggu	339	<i>miR-26a; miR-26a-1; miR-26a-2</i>
<i>miR-26b</i>	uucaaguaauccaggauaggu	340	<i>miR-26b</i>
<i>miR-27a</i>	uucacaguggcuaguuuccgcc	341	<i>miR-27a</i>
<i>miR-27b</i>	uucacaguggcuaguuuccg	342	<i>miR-27b-1; miR-27b-2</i>

ES 2 545 360 T3

<i>miR-28</i>	aaggagcucacagucuaugag	343	<i>miR-28</i>
<i>miR-29a</i>	cuagcaccuucgaaucgguu	344	<i>miR-29a-2; miR-29a</i>
<i>miR-29b</i>	uagcaccuuugaaaucagu	345	<i>miR-29b-1; miR-29b-2</i>
<i>miR-29c</i>	uagcaccuuugaaaucgguua	346	<i>miR-29c</i>
<i>miR-30a-5p</i>	uguaaacauccucgacuggaagc	347	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30a-3p</i>	cuuucagucggauuuugcagc	348	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30b</i>	uguaaacauccuacacucagc	349	<i>miR-30b-1; miR-30b-2</i>
<i>miR-30c</i>	uguaaacauccuacacucagc	350	<i>miR-30c</i>
<i>miR-30d</i>	uguaaacaucccgacuggaag	351	<i>miR-30d</i>
<i>miR-30e</i>	uguaaacauccuugacugga	352	<i>miR-30e</i>
<i>miR-31</i>	ggcaagaugcuggcauagcug	353	<i>miR-31</i>
<i>miR-32</i>	uauugcacauuacuaaguugc	354	<i>miR-32</i>
<i>miR-33</i>	gugcauuguaguugcauug	355	<i>miR-33; miR-33b</i>
<i>miR-34a</i>	uggcagugucuuagcugguugu	356	<i>miR-34a</i>
<i>miR-34b</i>	aggcagugucuuagcugauug	357	<i>miR-34b</i>
<i>miR-34c</i>	aggcaguguguuagcugauug	358	<i>miR-34c</i>
<i>miR-92</i>	uauugcacuuguccggccugu	359	<i>miR-92-2; miR-92-1</i>
<i>miR-93</i>	aaagugcuguucgugcagguag	360	<i>miR-93-1; miR-93-2</i>
<i>miR-95</i>	uucaacggguauuuauugagca	361	<i>miR-95</i>
<i>miR-96</i>	uuuggcacuagcacauuuuugc	362	<i>miR-96</i>
<i>miR-98</i>	ugagguaguaaguuguauuguu	363	<i>miR-98</i>
<i>miR-99a</i>	aacccguagauccgaucuugug	364	<i>miR-99a</i>
<i>miR-99b</i>	caccguagaaccgaccuugcg	365	<i>miR-99b</i>
<i>miR-100</i>	uacaguacuguguaaacugaag	366	<i>miR-100</i>
<i>miR-101</i>	uacaguacuguguaaacugaag	367	<i>miR-101-1; miR-101-2</i>
<i>miR-103</i>	agcagcauuguacagggcuanga	368	<i>miR-103-1</i>
<i>miR-105</i>	ucaaaugcucagacuccugu	369	<i>miR-105</i>
<i>miR-106-a</i>	aaaagugcuuacagugcagguagc	370	<i>miR-106-a</i>
<i>miR-106-b</i>	uaaagugcugacagugcagau	371	<i>miR-106-b</i>
<i>miR-107</i>	agcagcauuguacagggcuauca	372	<i>miR-107</i>
<i>miR-122a</i>	uggagugugacaauugguguuugu	373	<i>miR-122a-1; miR-122a-2</i>
<i>miR-124a</i>	uuaggcacgcgguagaugcca	374	<i>miR-124a-1; miR-124a-2; miR-124a-3</i>
<i>miR-125a</i>	ucccugagaccuuuaaccugug	375	<i>miR-125a-1; miR-125a-2</i>
<i>miR-125b</i>	ucccugagaccuuaacuuguga	376	<i>miR-125b-1; miR-125b-2</i>
<i>miR-126*</i>	cauuuuacuuiuugguacgcg	377	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-126</i>	ucguaccgugaguuauaauagc	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>	ucacagugaaccggucucuuuu	381	<i>miR-128b</i>
<i>miR-129</i>	cuuuuuugcgucugggcuugc	382	<i>miR-129-1; miR-129-2</i>
<i>miR-130a</i>	cagugcaauguuuuuuagggc	383	<i>miR-130a</i>
<i>miR-130b</i>	cagugcaaugauuaaaaggcau	384	<i>miR-130b</i>
<i>miR-132</i>	uaacagucucacgccaugugcg	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-134</i>	ugugacugguugaccagagg	388	<i>miR-134-1; miR-134-2</i>
<i>miR-135a</i>	uauuggcuuuuuauuccuauugga	389	<i>miR-135a; miR-135a-2 (miR-135-2)</i>
<i>miR-135b</i>	uauuggcuuuucauuccuauug	390	<i>miR-135b</i>
<i>miR-136</i>	acuccauuuguuuugaugaugga	391	<i>miR-136-1; miR-136-2</i>
<i>miR-137</i>	uauugcuuaagaauacgcguag	392	<i>miR-137</i>
<i>miR-138</i>	agcugguguuugugauc	393	<i>miR-138-1; miR-138-2</i>
<i>miR-139</i>	ucucagugcagcuguc	394	<i>miR-139</i>
<i>miR-140</i>	agugguuuuaccuauugguag	395	<i>miR-140; miR-140as; miR-140s</i>
<i>miR-141</i>	aacacugucugguuaaagaugg	396	<i>miR-141-1; miR-141-2</i>
<i>miR-142-3p</i>	uguaguguuuccuacuuuauugga	397	<i>miR-142</i>
<i>miR-142-5p</i>	cauaaaguagaagcacuac	398	<i>miR-142</i>
<i>miR-143</i>	ugagaugaagcacuguagcuca	399	<i>miR-143-1</i>
<i>miR-144</i>	uacaguauagaugaugacuag	400	<i>miR-144-1; miR-144-2</i>
<i>miR-145</i>	guccaguuuuuccaggaauccuu	401	<i>miR-145-1; miR-145-2</i>
<i>miR-146</i>	ugagaacugaauuccauugguu	402	<i>miR-146-1; miR-146-2</i>
<i>miR-147</i>	gugugugaaaugcuucugc	403	<i>miR-147</i>

ES 2 545 360 T3

<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>	ucucccaaccuuguaccagug	407	<i>miR-150-1; miR-150-2</i>
<i>miR-151</i>	acuagacugaagcuccuugagg	408	<i>miR-151</i>
<i>miR-152</i>	ucagugcaugacagaacuugg	409	<i>miR-152-1; miR-152-2</i>
<i>miR-153</i>	uugcauagucacaaaaguga	410	<i>miR-153-1-1; miR-153-1-2; miR-153-2-1; miR-153-2-2</i>
<i>miR-154</i>	uagguuauccguguugccuucg	411	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-154*</i>	aaucacacacggugaccuauu	412	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-155</i>	uuaaugcuaaucgugauagggg	413	<i>miR-155</i>
<i>miR-181a</i>	aacauucaacgcugucggugagu	414	<i>miR-181a</i>
<i>miR-181b</i>	aacauucauugcugucgguguu	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>	ugguucugacuugccaacua	418	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-183</i>	uauggcacugguagaauucacug	419	<i>miR-183</i>
<i>miR-184</i>	uggacggagaacugauaagggg	420	<i>miR-184-1; miR-184-2</i>
<i>miR-185</i>	uggagagaaaggcaguuc	421	<i>miR-185-1; miR-185-2</i>
<i>miR-186</i>	caaagaauucuccuuugggcuu	422	<i>miR-186-1; miR-186-2</i>
<i>miR-187</i>	ucgugucuuguguugcagccg	423	<i>miR-187</i>
<i>miR-188</i>	cauccuugcauggggagggu	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>	caacggaaucaccaaaagcagcu	427	<i>miR-191-1; miR-191-2</i>
<i>miR-192</i>	cugaccuauugaauugacagcc	428	<i>miR-192</i>
<i>miR-193</i>	aacuggccuacaaaguccag	429	<i>miR-193-1; miR-193-2</i>
<i>miR-194</i>	uguaacagcaacuccaugugga	430	<i>miR-194-1; miR-194-2</i>
<i>miR-195</i>	uagcagcacagaaauuuggc	431	<i>miR-195-1; miR-195-2</i>
<i>miR-196a</i>	uagguaguuucauguuguugg	432	<i>miR-196a; miR-196a-2 (miR196-2)</i>
<i>miR-196b</i>	uagguaguuuuccguugg	433	<i>miR-196b</i>
<i>miR-197</i>	uucaccaccuucuccaccagc	434	<i>miR-197</i>
<i>miR-198</i>	gguccagaggggagauagg	435	<i>miR-198</i>
<i>miR-199a</i>	cccaguguucagacuaccguuc	436	<i>miR-199a-1; miR-199a-2</i>
<i>miR-199a*</i>	uacaguagucugcacaauugguu	437	<i>miR-199a-1; miR-199a-2; miR-199s; miR-199b</i>
<i>miR-199b</i>	cccaguguuuagacuauucguuc	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>	aaucacugccgguaauaugga	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>	uuccuuugucauccuugccu	444	<i>miR-204</i>
<i>miR-205</i>	uccuucuuuccaccggagucug	445	<i>miR-205</i>
<i>miR-206</i>	uggaauguaaggaaguguggg	446	<i>miR-206-1; miR-206-2</i>
<i>miR-208</i>	auaagacgagcaaaaagcuugu	447	<i>miR-208</i>
<i>miR-210</i>	cugugcgugugacagcggcug	448	<i>miR-210</i>
<i>miR-211</i>	uuccuuugucauccuucgccu	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>	acagcagcacagacaggcag	452	<i>miR-214</i>
<i>miR-215</i>	augaccuauugaauugacagac	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>	uugugcuugaucuaccaugu	456	<i>miR-218-1; miR-218-2</i>
<i>miR-219</i>	ugauuguccaaacgcauuucu	457	<i>miR-219; miR-219-1; miR-219-2</i>
<i>miR-220</i>	ccacaccguaucugacacuuu	458	<i>miR-220</i>
<i>miR-221</i>	agcuacaauugucugcuggguuc	459	<i>miR-221</i>
<i>miR-222</i>	agcuacaucuggcuacugggucuc	460	<i>miR-222</i>
<i>miR-223</i>	ugucaguuuugucaaaacccc	461	<i>miR-223</i>
<i>miR-224</i>	caagucacuagugguuccguuuu	462	<i>miR-224</i>

<i>miR-296</i>	agggccccccucauuccugu	463	<i>miR-296</i>
<i>miR-299</i>	ugguuuaccguccacauacau	464	<i>miR-299</i>
<i>miR-301</i>	cagugcaauaguauugucaagc	465	<i>miR-301</i>
<i>miR-302a</i>	uaagugcuuccauguuugguga	466	<i>miR-302a</i>
<i>miR-302b*</i>	acuuuaacauggaagugcuuucu	467	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302b</i>	uaagugcuuccauguuuaguag	468	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302c*</i>	uuuaacauggggguaccugcug	469	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302c</i>	uaagugcuuccauguuucagugg	470	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302d</i>	uaagugcuuccauguuugagugu	471	<i>miR-302d</i>
<i>miR-320</i>	aaaagcuggguugagggcgaa	472	<i>miR-320</i>
<i>miR-321</i>	uaagccagggauuguggguuc	473	<i>miR-321</i>
<i>miR-323</i>	gcacauuacacggucgaccucu	474	<i>miR-323</i>
<i>miR-324-5p</i>	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>	ccucugggccccuucccag	478	<i>miR-326</i>
<i>miR-328</i>	cuggccucucugcccuuccgu	479	<i>miR-328</i>
<i>miR-330</i>	gcaaagcacacggcugcagaga	480	<i>miR-330</i>
<i>miR-331</i>	gccccugggcuauccuagaa	481	<i>miR-331</i>
<i>miR-335</i>	ucaagagcaauaacgaaaaugu	482	<i>miR-335</i>
<i>miR-337</i>	uccagucuuauaugaugccuuu	483	<i>miR-337</i>
<i>miR-338</i>	uccagcaucagugauuuuguuga	484	<i>miR-338</i>
<i>miR-339</i>	uccuguccuccaggagcuca	485	<i>miR-339</i>
<i>miR-340</i>	uccgucucaguuacuuuauagcc	486	<i>miR-340</i>
<i>miR-342</i>	ucucacacagaaaucgcaccguc	487	<i>miR-342</i>
<i>miR-345</i>	ugcugacuccuaguccagggc	488	<i>miR-345</i>
<i>miR-346</i>	ugucugcccgcAugccucucu	489	<i>miR-346</i>
<i>miR-367</i>	aaaugcacuuuagcauugguga	490	<i>miR-367</i>
<i>miR-368</i>	acauagaggaaauuccacguuu	491	<i>miR-368</i>
<i>miR-369</i>	aaauaacauggguugaucuuu	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>	aaagugcugcgacauuugagcgu	495	<i>miR-372</i>
<i>miR-373*</i>	acucaaauggggcgcuucc	496	<i>miR-373</i>
<i>miR-373</i>	gaagugcuucgauuuuggggugu	497	<i>miR-373</i>
<i>miR-374</i>	uuauaauacaaccugauaagug	498	<i>miR-374</i>

La presente invención abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer sólido, que comprenden medir el nivel de al menos un primer producto génico de miR-24-2 en una muestra de ensayo del sujeto y comparar el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo con el nivel del producto génico de miR correspondiente en una muestra de control. Como se usa en la presente memoria un “sujeto” puede ser cualquier mamífero que tenga, o se sospeche que tiene, un cáncer sólido. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido.

También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR es miR-21, miR-191 o miR-17-5p. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR 159-1 o miR-192. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-15a, miR-16-1, miR-182, miR-181, miR-30, miR-15a, miR-16-1, miR-15b, miR-16-2, miR-195, miR-34, miR-153, miR-21, miR-217, miR-205, miR-204, miR-211, miR-143, miR-96, miR-103, miR-107, miR-129, miR-9, miR-137, miR-217, miR-186.

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

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

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

También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-125b-1, miR-125b-2, miR-145, miR-21 y combinaciones de los mismos. Como alternativa, el cáncer sólido es cáncer de
 25 mama y el al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo se puede seleccionar del grupo que consiste en miR-21, miR-29b-2, miR-146, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-10b, miR-145, miR-181a, miR-140, miR-213, miR-29a prec, miR-181b-1, miR-199b, miR-29b-1, miR-130a, miR-155, let-7a-2, miR-205, miR-29c, miR-224, miR-100, miR-31, miR-30c, miR-17-5p, miR-210, miR-122a, miR-16-2 y combinaciones de los mismos. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el al menos un producto génico de
 30 miR puede no ser miR-145, miR-21, miR-155, miR-10b, miR-125b-1, miR-125b-2, let7a-2, let7a-3, let-7d, miR-122a, miR-191, miR-206, miR-210, let-7i, miR-009-1 (miR131-1), miR-34 (miR-170), miR-102 (miR-29b), miR-123 (miR-126), miR-140-as, miR-125a, miR-194, miR-204, miR-213, let-7f-2, miR-101, miR-128b, miR-136, miR-143, miR-149, miR-191, miR-196-1, miR-196-2, miR-202, miR-103-1, o miR-30c. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser
 35 cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-125b-1, let-7a-2, let-7i, miR-100, let-7g, miR-31, miR-32a-1, miR-33b, miR-34a-2, miR-101-1, miR-135-1, miR-142as, miR-142s, miR-144, miR-301, miR-29c, miR-30c, miR-106a, o miR-29b-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el
 40 producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de mama y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

En una realización de la presente invención, el miR-24-2 y al menos un producto génico de miR adicional
 50 seleccionado del grupo que consiste en miR-24-1, miR-29b-2, miR-20a, miR-32, miR-10a, miR-203, miR-106a, miR-17-5p, miR-30c, miR-223, miR-126*, miR-128b, miR-21, miR-99b prec, miR-155, miR-213, miR-150, miR-107, miR-191, miR-221, miR-9-3 y combinaciones de los mismos se usan para diagnosticar cáncer de colon.

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

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

También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-126, miR-30a-5p, miR-140, miR-214, miR-218-2, miR-145, miR-106a, miR-192, miR-203, miR-150, miR-220, miR-192, miR-224, miR-24-2, miR-212, miR-9, miR-17, miR-124a-1, miR-95, miR-198, miR-216, miR-219-1, miR-197, miR-125a, miR-26a-1, miR-146, miR-199b, let7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125b-1 o let7f-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el al menos un producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-182, miR-181, miR-30, miR-15a, miR-143, miR-205, miR-96, miR-103, miR-107, miR-129, miR-137, miR-186, miR-15b, miR-16-2, miR-195, miR-34, miR-153, miR-217, miR-204, miR-211, miR-9, miR-217, let-7a-2 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser let-7c, let-7g, miR-7-3, miR-210, miR-31, miR-34a-1, miR-a-2, miR-99a, miR-100, miR-125b-2, miR-132, miR-135-1, miR-195, miR-34, miR-123, miR-203. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR 159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

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

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

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

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

- También se desvela un método en el que el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR 159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.
- 15 En una realización adicional de la presente invención, el miR-24-2 y al menos un producto génico de miR adicional seleccionado del grupo que consiste en miR-223, miR-21, miR-218-2, miR-103-2, miR-92-2, miR-25, miR-136, miR-191, miR-221, miR-125b-2, miR-103-1, miR-214, miR-222, miR-212 prec, miR-125b-1, miR-100, miR-107, miR-92-1, miR-96, miR-192, miR-23a, miR-215, miR-7-2, miR-138-2, miR-24-1, miR-99b, miR-33b y combinaciones de los mismos se usa para diagnosticar cáncer de estómago.
- 20 También se desvela un método en el que el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR 159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215, o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de estómago y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.
- 25 El nivel de al menos un producto génico de miR puede medirse en una muestra biológica (por ejemplo, células, tejidos) obtenida del sujeto. Por ejemplo, puede retirarse una muestra tisular (por ejemplo, de un tumor) de un sujeto que se sospecha que tiene un cáncer sólido por técnicas de biopsia convencionales. Como alternativa, puede retirarse una muestra sanguínea del sujeto, y pueden aislarse células sanguíneas (por ejemplo, glóbulos blancos) para extracción de ADN por técnicas convencionales. La muestra de sangre o tejido se obtiene preferentemente del sujeto antes del inicio de la radioterapia, quimioterapia u otro tratamiento terapéutico. Puede obtenerse una muestra de tejido o sangre de control correspondiente de tejidos no afectados del sujeto, de un individuo humano normal o población de individuos normales, o de células cultivadas correspondientes a la mayoría de las células en la muestra del sujeto. La muestra de tejido o sangre de control se procesa después junto con la muestra del sujeto, de modo que los niveles de producto génico de miR producido a partir de un gen de miR dado en células de la muestra del sujeto puede compararse con los niveles de producto génico de miR correspondientes de células de la muestra de control. Puede usarse también un patrón de expresión de miR de referencia para la muestra biológica como un control.
- 35 Una alteración (por ejemplo, un aumento o reducción) del nivel de un producto génico de miR en la muestra obtenida del sujeto, en relación con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de la presencia de un cáncer sólido en el sujeto. El nivel del al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser mayor que el nivel del producto génico de miR correspondiente en la muestra de control (es decir, la expresión del producto génico de miR está "regulada positivamente"). Como se usa en la presente memoria, la expresión de un producto génico de miR está "regulada positivamente" cuando la cantidad de producto génico de miR en una muestra celular o tisular de un sujeto es mayor que la cantidad del mismo producto génico en una muestra celular o tisular de control. El nivel del al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser menor que el nivel del producto génico de miR correspondiente en la muestra de control (es decir, la expresión del producto génico de miR está "regulada negativamente"). Como se usa en la presente memoria, la expresión de un gen de miR está "regulada negativamente" cuando la cantidad de producto génico de miR producida de ese gen en una muestra celular o tisular de un sujeto es menor que la cantidad producida del mismo gen en una muestra celular o tisular de control. La expresión génica de miR relativa en las muestras de control y normales puede determinarse con respecto a uno o más patrones de expresión de ARN. Los patrones pueden comprender, por ejemplo, un nivel de expresión génica de miR cero, el nivel de expresión génica de miR en una línea celular convencional, el nivel de expresión génica de miR en tejidos no afectados del sujeto, o el nivel medio de expresión génica de miR previamente obtenido para una población de controles humanos normales.
- 65

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

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

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

Las sondas pueden marcarse a alta actividad específica por el método de traslación de muesca de Rigby *et al.* (1977), *J. Mol. Biol.* 113: 237-251 o por el método de cebadores aleatorios de Fienberg *et al.* (1983), *Anal. Biochem.* 132: 6-13. Este último es el método elegido para sintetizar sondas marcadas con ³²P de alta actividad específica a partir de ADN monocatenario o de moldes de ARN. Por ejemplo, reemplazando nucleótidos preexistentes con nucleótidos altamente radiactivos de acuerdo con el método de traslación de muescas, es posible preparar sondas de ácido nucleico marcadas con ³²P con una actividad específica bastante mayor de 10⁸ cpm/microgramo. Después puede realizarse detección autorradiográfica de la hibridación exponiendo los filtros hibridados a película fotográfica. La exploración densitométrica de las películas fotográficas expuestas a los filtros hibridados proporciona una medición precisa de los niveles de transcrito génico de miR. Usando otro enfoque, los niveles de transcrito génico de miR pueden cuantificarse por sistemas de formación de imágenes computerizada, tales como el Phosphorimager Molecular Dynamics 400-B 2D disponible de Amersham Biosciences, Piscataway, NJ.

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

Además de Northern y otras técnicas de hibridación de ARN, la determinación de los niveles de transcritos de ARN puede conseguirse usando la técnica de hibridación *in situ*. Esta técnica requiere menos células que la técnica de transferencia de Northern, e implica depositar células completas en un cubreobjetos de microscopio y explorar el contenido de ácido nucleico de la célula con una solución que contenga sondas de ácido nucleico radiactivas o marcadas de otro modo (por ejemplo, ADNc o ARN). Esta técnica es particularmente adecuada para analizar muestras de biopsia tisular de sujetos. La práctica de la técnica de hibridación *in situ* se describe en más detalle en la Patente de Estados Unidos Nº 5.427.916. Pueden producirse sondas adecuadas para hibridación *in situ* de un producto génico de miR dado a partir de las secuencias de ácido nucleico proporcionadas en la Tabla 1a y Tabla 1b, e incluyen, pero sin limitación, sondas que tienen complementariedad de al menos aproximadamente 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o completa con un producto génico de miR de interés, como se ha descrito anteriormente.

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

En algunos casos, puede ser deseable determinar simultáneamente el nivel de expresión de una pluralidad de productos génicos de miR diferentes en una muestra. En otros casos, puede ser deseable determinar el nivel de

expresión de los transcritos de todos los genes de miR conocidos correlacionados con cáncer. La evaluación de los niveles de expresión específicos de cáncer para cientos de genes o productos génicos de miR consume tiempo y requiere una gran cantidad de ARN total (por ejemplo, al menos 20 µg para cada transferencia de Northern) y técnicas autorradiográficas que requieren isótopos radiactivos.

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

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

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

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

60 La micromatriz puede fabricarse usando técnicas conocidas en este campo. Por ejemplo, los oligonucleótidos sonda de una longitud apropiada, por ejemplo, 40 nucleótidos, se modifican con amina 5' en la posición C6 y se imprimen usando sistemas de micromatrices disponibles en el mercado, por ejemplo, el Microarrayer GeneMachine OmniGrid™ 100 y portaobjetos activados Amersham CodeLink™. El oligómero de ADNc marcado correspondiente a los ARN diana se prepara por transcripción inversa del ARN diana con cebador marcado. Después de la síntesis de primera cadena, los híbridos de ARN/ADN se desnaturalizan para degradar los moldes de ARN. Los ADNc diana marcados preparados de este modo se hibridan después con la microplaca de micromatriz en condiciones de hibridación, por ejemplo, SSPE 6X/formamida 30 % a 25 °C durante 18 horas, seguido de lavado en TNT 0,75X (Tris

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

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

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

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

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

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

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

En consecuencia, la presente divulgación abarca métodos para inhibir la tumorigénesis en un sujeto que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado positivamente, regulado negativamente) en las células cancerosas del sujeto. Cuando el al menos un

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

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

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

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

Los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento", como se usan en la presente memoria, se refieren a aliviar síntomas asociados con una enfermedad o afección, por ejemplo, un cáncer sólido, incluyendo prevenir o retardar la aparición de los síntomas de la enfermedad, y/o reducir la gravedad o frecuencia de los síntomas de la enfermedad o afección. Se define que los términos "sujeto", "paciente" e "individuo" en la presente memoria incluyen animales, tales como mamíferos, incluyendo, pero sin limitación, primates, vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, cobayas, ratas, ratones u otras especies bovinas, ovinas, equinas, caninas, felinas, roedoras o murinas. Preferentemente el animal es un ser humano.

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

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

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

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

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

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

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

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

65 Los productos génicos de miR pueden expresarse a partir de un plásmido recombinante separado, o pueden expresarse a partir del mismo plásmido recombinante. Los productos génicos de miR pueden expresarse como

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Una o ambas cadenas del ARNip también puede comprender un saliente 3'. Como se usa en la presente memoria, un “saliente 3'” se refiere a al menos un nucleótido no emparejado que se extiende desde el extremo 3' de una cadena de ARN bicatenaria. Por lo tanto, el ARNip puede comprender al menos un saliente 3' de 1 a aproximadamente 6 nucleótidos (que incluye ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos) de longitud, de 1 a

aproximadamente 5 nucleótidos de longitud, de 1 a aproximadamente 4 nucleótidos de longitud, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 nucleótidos de longitud. El saliente 3' puede estar presente en ambas cadenas del ARNip, y es de 2 nucleótidos de longitud. Por ejemplo, cada cadena del ARNip puede comprender salientes 3' de ácido ditimidílico ("TT") o ácido diuridílico ("uu").

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

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

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

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

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

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

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

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

65 El tamaño de una masa tumoral puede determinarse por observación visual directa, o por métodos de formación de imágenes de diagnóstico, tales como rayos X, formación de imágenes por resonancia magnética, ultrasonidos y escintigrafía. Pueden emplearse métodos de formación de imágenes de diagnóstico usados para determinar el

tamaño de la masa tumoral con o sin agentes de contraste, como se conoce en la técnica. El tamaño de una masa tumoral también puede determinarse por medios físicos, tales como palpación de la masa tisular o medición de la masa tisular con un instrumento de medición, tal como un calibrador.

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

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

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

También puede administrarse un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR a un sujeto por cualquier vía de administración entérica o parenteral adecuada. Las vías de administración entéricas adecuadas para los presentes métodos incluyen, por ejemplo, suministro oral, rectal o intranasal. Las vías de administración parenterales adecuadas incluyen, por ejemplo, administración intravascular (por ejemplo, inyección de embolada intravenosa, infusión intravenosa, inyección de embolada intraarterial, infusión intraarterial e instilación por catéter en la vasculatura); inyección peri e intratistular (por ejemplo, inyección peritumoral e intratumoral, inyección intrarretinal o inyección subretinal); inyección o deposición subcutánea, incluyendo infusión subcutánea (tal como por bombas osmóticas); aplicación directa al tejido de interés, por ejemplo por un catéter y otro dispositivo de colocación (por ejemplo, un gránulo retinal o un supositorio o un implante que comprenda un material poroso, no poroso o gelatinoso); e inhalación. Son vías de administración particularmente adecuadas inyección, infusión e inyección directa en el tumor.
25
30
35

En los presentes métodos, puede administrarse un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión de producto génico de miR al sujeto como ARN desnudo, en combinación con un reactivo de suministro, o como un ácido nucleico (por ejemplo, un plásmido recombinante o vector viral) que comprende secuencias que expresan el producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión del producto génico de miR. Los reactivos de suministro adecuados incluyen, por ejemplo, el reactivo lipófilo Mirus Transit TKO; lipofectina; lipofectamina; celfectina; policationes (por ejemplo, polilisina) y liposomas.
40

Se analizan en la presente memoria y/o se conocen bien en la técnica plásmidos recombinantes y vectores virales que comprenden secuencias que expresan los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR, y técnicas para suministrar dichos plásmidos y vectores a células cancerosas.
45

Se usan liposomas para suministrar un producto génico de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR (o ácidos nucleicos que comprenden secuencias que los codifican) a un sujeto. Los liposomas también pueden aumentar la semivida en sangre de los productos génicos o ácidos nucleicos. Pueden formarse liposomas adecuados a partir de lípidos formadores de vesículas convencionales, que generalmente incluyen fosfolípidos neutros o cargados negativamente y un esteroles, tal como colesterol. La selección de lípidos generalmente se guía por la consideración de factores, tales como el tamaño de liposoma deseado y la semivida de los liposomas en el torrente sanguíneo. Se conocen diversos métodos para preparar liposomas, por ejemplo, como se describe en Szoka *et al.* (1980), Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9: 467; y Patentes de Estados Unidos N^o 4.235.871, 4.501.728, 4.837.028 y 5.019.369.
50
55

Los liposomas para su uso en los presentes métodos pueden comprender una molécula ligando que dirige el liposoma a células cancerosas. Se prefieren ligandos que se unan a receptores prevalentes en células cancerosas, tales como anticuerpos monoclonales que se unen a antígenos celulares tumorales.
60

Los liposomas para su uso en los presentes métodos también pueden modificarse para evitar la eliminación por el sistema de macrófagos mononucleares ("MMS") y el sistema reticuloendotelial ("RES"). Dichos liposomas modificados tienen restos de inhibición de la opsonización en la superficie o incorporados en la estructura del liposoma. Un liposoma puede comprender tanto un resto de inhibición de la opsonización como un ligando.
65

Los restos inhibidores de la opsonización para su uso en la preparación de los liposomas son normalmente

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

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

El resto inhibidor de la opsonización puede estar unido a la membrana del liposoma por una cualquiera de numerosas técnicas bien conocidas. Por ejemplo, un éster de N-hidroxisuccinimida de PEG puede estar unido a un anclaje soluble en lípidos de fosfatidiletanolamina, y después unido a una membrana. De forma similar, un polímero de dextrano puede derivatizarse con un anclaje soluble en lípidos de estearilamina mediante aminación reductora usando Na(CN)BH₃ y una mezcla de disolvente, tal como tetrahidrofurano y agua en una relación 30:12 a 60 °C.

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

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

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

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

Las presentes composiciones farmacéuticas comprenden al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR (o al menos un ácido nucleico que comprende secuencias que los

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

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

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

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

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

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

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

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

Como alternativa, el método puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al

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

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

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

20 Ejemplificación

Los siguientes Materiales y Métodos se usaron en los Ejemplos:

25 Muestras

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

35 Micromatrices de microARN

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

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

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

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

50

Análisis computacional

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

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

Estadística

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

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

Resultados

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

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

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

miR	ID	Media de Cáncer	Media Normal	Estadística de ensayo	p sin procesar	p Aj
miR-21	Nº 17	11,538663	9,648338	7,861136	2,00E-06	2,00E-06
miR-141	Nº 137	9,024091	7,905398	6,238014	2,00E-06	2,00E-06

ES 2 545 360 T3

miR	ID	Media de Cáncer	Media Normal	Estadística de ensayo	p sin procesar	p Aj
miR-212	Nº 208	13,540651	14,33617	-6,57942	2,00E-06	2,00E-06
miR-128a	Nº 113	12,32588	13,522675	-6,76388	2,00E-06	2,00E-06
prec						
miR-138-2	Nº 133	11,739557	13,144746	-7,01204	2,00E-06	2,00E-06
miR-218-2	Nº 221	11,279787	12,539366	-7,40557	2,00E-06	2,00E-06
miR-23b	Nº 51	14,169748	15,949736	-8,37744	2,00E-06	2,00E-06
miR-195	Nº 184	10,343991	9,172985	5,763262	2,00E-06	1,00E-05
miR-213 prec	Nº 209	12,686966	13,661763	-5,83132	4,00E-06	1,00E-05
miR-29b-2	Nº 95	11,27556	9,940731	5,660854	2,00E-06	1,40E-05
miR-199a-1	Nº 191	10,032008	8,920183	5,528849	2,00E-06	3,00E-05
miR-9-3	Nº 28	11,461922	12,570412	-5,43006	2,00E-06	4,60E-05
miR-128a	Nº 114	13,024235	13,856624	-5,35102	6,00E-06	7,20E-05
let-7a-1	Nº 1	12,616569	13,455246	-5,35346	2,00E-06	7,20E-05
let-7b	Nº 5	13,42636	14,068521	-5,17701	1,00E-05	0,000146
miR-16-2	Nº 39	10,460707	9,305895	5,048375	4,00E-06	0,000224
miR-199a-2	Nº 192	9,714225	8,759237	4,862553	1,00E-05	0,000494
miR-152 prec	Nº 151	11,388676	12,357529	-4,83716	2,00E-06	0,00053
miR-16-1	Nº 38	10,443169	9,338182	4,755258	1,00E-05	0,00071
miR-30d	Nº 72	13,982017	14,775206	-4,5707	1,20E-05	0,001476
miR-34n	Nº 78	10,675566	9,63769	4,467301	2,60E-05	0,00217
miR-17-5p	Nº 41	11,567244	10,281468	4,341834	3,80E-05	0,0034
miR-128b	Nº 115	10,930395	9,947746	4,304764	3,80E-05	0,003912
miR-20a	Nº 46	11,409852	10,19284	4,304678	3,20E-05	0,003912
miR-181b-1	Nº 211	9,577504	8,804394	4,285968	4,80E-05	0,004126
prec						
miR-132	Nº 131	9,599947	8,775966	4,284737	5,60E-05	0,004126
miR-200b	Nº 195	9,475221	8,527243	4,221511	4,00E-05	0,0052
let-7a-3	Nº 4	10,436089	9,511546	4,08952	0,000104	0,008242
miR-138-1	Nº 132	8,299613	9,200253	-4,05204	5,60E-05	0,00931
miR-29c	Nº 65	11,291005	10,326912	4,019385	0,000144	0,010312
miR-29a	Nº 62	11,381359	10,461075	4,013697	0,00015	0,010398
miR-96	Nº 86	11,37218	12,136636	-3,94825	0,000138	0,012962
miR-191	Nº 177	13,498207	12,729872	3,817228	0,000158	0,02015
miR-37a	Nº 59	10,399338	9,548582	3,715048	0,000344	0,038096
let-7g	Nº 15	10,819688	10,01157	3,653239	0,000426	0,033874
miR-9-1	Nº 24	10,102819	9,213988	3,651886	0,000388	0,033874
miR-125a	Nº 107	10,960998	10,005312	3,651356	0,000452	0,033874
miR-95	Nº 84	9,435733	8,751331	3,59406	0,000478	0,039594
miR-155	Nº 157	12,505359	13,231221	-3,58369	0,000614	0,040394
miR-199b	Nº 194	9,755066	9,082751	3,55934	0,000588	0,04314
miR-24-2	Nº 54	12,611696	11,612557	3,518774	0,00087	0,048278
let-7e	Nº 11	12,497795	13,055093	-3,51589	0,00054	0,048354
miR-92-1	Nº 81	16,081074	16,592426	-3,50446	0,000928	0,49828

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

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

miR	ID	Valor d.	devtip	Valor p	Valor q	Factor de R
miR-21	Nº 47	3,156	0,24	0	0	2,593
miR-23b	Nº 51	-3,117	0,212	0	0	0,443
miR-138-2	Nº 133	-2,514	0,2	0	0	0,402
miR-218-2	Nº 221	-2,383	0,17	0	0	0,384
miR-29b-2	Nº 95	2,246	0,236	0	0	1,868

ES 2 545 360 T3

miR-128a prec	Nº 113	-2,235	0,177	0	0	0,368
miR-195	Nº 184	2,095	0,203	0	0	1,695
miR-141	Nº 137	2,08	0,179	0	0	2,459
miR-199a-1	Nº 191	1,987	0,201	0	0	1,945
miR-9-3	Nº 28	-1,97	0,204	0	0	0,433
miR-16-2	Nº 39	1,966	0,229	0	0	1,788
miR-17-Sp	Nº 41	1,964	0,296	0	0	0,725
miR-10a	Nº 46	1,898	0,283	0	0	0,969
miR-16-1	Nº 38	1,87	0,232	0	0	1,447
miR-212	Nº 209	-1,854	0,167	0	0	0,509
prec						
miR-34a	Nº 78	1,756	0,232	0	0	1,219
miR-152	Nº 151	-1,734	0,2	0	0	0,46
prec						
miR-199a-2	Nº 192	1,721	0,196	0	0	1,838
miR-128b	Nº 115	1,674	0,238	0	0	1,266
miR-212	Nº 208	1,659	0,121	0	0	0,627
let-7a-1	Nº 1	-1,628	0,157	0	0	0,461
miR-200b	Nº 195	1,626	0,225	0	0	1,432
miR-128a	Nº 114	-1,619	0,156	0	0	0,511
miR-29e	Nº 65	1,611	0,24	0	0	1,225
let-7a-3	Nº 4	1,581	0,226	0	0	1,109
miR-29a	Nº 62	1,565	0,229	0	0	1,706
miR-24-2	Nº 54	1,555	0,284	0	0	0,831
miR-138-1	Nº 132	1,551	0,222	0	0	0,432
miR-125a	Nº 107	1,541	0,262	0	0	1,164
miR-106a	Nº 99	1,514	0,275	0	0	0,952
miR-132	Nº 121	1,496	0,192	0	0	2,158
miR-30d	Nº 72	-1,491	0,174	0	0	0,424
miR-9-1	Nº 24	1,478	0,244	0	0	0,763
miR-27a	Nº 59	1,448	0,229	0	0	1,174
miR-181b-1	Nº 211	1,435	0,18	0	0	1,525
prec						
let-7g	Nº 15	1,394	0,221	0	0	1,072
miR-96	Nº 86	-1,384	0,194	0	0	0,519
miR-191	Nº 177	1,372	0,201	0	0	1,165
miR-93-1	Nº 83	1,363	0,266	0	0	0,775
miR-136	Nº 130	-1,355	0,267	0	0	0,364
miR-205	Nº 201	1,343	0,309	0	0	1,281
miR-185	Nº 170	1,287	0,222	0,001	0,001	0,609
miR-125b-1	Nº 109	1,262	0,283	0,001	0,001	1,215
miR-10a	Nº 30	1,252	0,327	0,001	0,001	1,643
miR-95	Nº 84	1,247	0,19	0,001	0,001	1,509
miR-199b	Nº 194	1,228	0,189	0,001	0,001	1,246
miR-10b	Nº 32	1,219	0,232	0,002	0,001	1,342
let-7i	Nº 10	1,216	0,203	0,002	0,001	1,026
miR-210	Nº 205	1,213	0,237	0,002	0,001	1,088

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

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

miR	ID	Puntuación de cáncer sólido	Puntuación de tejidos normales
miR-21	Nº 47	0,0801	-0,2643
miR-138-2	Nº 133	-0,055	0,1815
miR-218-2	Nº 221	-0,0535	0,1765
miR-23b	Nº 51	-0,0516	0,17
miR-128a prec	Nº 113	-0,0498	0,1642
miR-29b-2	Nº 95	0,0457	-0,1508
miR-195	Nº 184	0,0404	-0,1333

ES 2 545 360 T3

miR-17-5p	Nº 41	0,0383	-0,1263
miR-9-3	Nº 28	-0,0357	0,1176
miR-212 prec	Nº 209	-0,0342	0,1129
miR-20a	Nº 46	0,0322	-0,1061
miR-141	Nº 137	0,0322	-0,1061
miR-199a-1	Nº 191	0,0319	-0,1053
miR-16-2	Nº 39	0,0315	-0,1037
miR-152 prec	Nº 151	-0,0283	0,0933
miR-16-1	Nº 38	0,0277	-0,0913
miR-34a	Nº 78	0,0269	-0,0886
miR-212	Nº 208	-0,0265	0,0875
let-7a-1	Nº 1	-0,0264	0,0872
miR-128a	Nº 114	-0,0259	0,0855
miR-128b	Nº 115	0,0254	-0,0839
miR-24-2	Nº 54	0,0244	-0,0803
miR-29e	Nº 65	0,0224	-0,0738
miR-199a-2	Nº 192	0,0223	-0,0736
let-7a-3	Nº 4	0,0221	-0,073
miR-191	Nº 177	0,0188	-0,062
miR-125a	Nº 107	0,0186	-0,0613
miR-30d	Nº 72	-0,0185	0,061
miR-29a	Nº 62	0,0184	-0,0608
miR-106a	Nº 99	0,0177	-0,0384
miR-93-1	Nº 83	0,0163	-0,0537
miR-200b	Nº 195	0,0159	-0,0524
let-7g	Nº 15	0,0158	-0,0521
miR-27a	Nº 59	0,0157	-0,0518
miR-96	Nº 86	-0,0156	0,0514
let-7b	Nº 5	-0,0152	0,0501
miR-138-1	Nº 132	-0,0151	0,0499
miR-9-1	Nº 24	0,0136	-0,0448
miR-181b-1 prec	Nº 211	0,0134	-0,0442
miR-155	Nº 157	-0,0128	0,0423
miR-132	Nº 121	0,0127	-0,0418
miR-136	Nº 130	-0,0112	0,037
let-7i	Nº 10	0,0103	-0,034
miR-210	Nº 205	0,0074	-0,0245
miR-205	Nº 201	0,0073	-0,024
*. miR-185	Nº 170	0,0071	-0,0234
miR-24-1	Nº 52	0,007	-0,023
miR-199b	Nº 194	0,0064	-0,021
miR-125b-1	Nº 109	0,006	-0,0199
miR-206 prec	Nº 203	-0,005	0,0166
miR-10a	Nº 30	0,0045	-0,015
miR-95	Nº 84	0,0045	-0,0149
let-7c	Nº 11	-0,0039	0,013
miR-124a-3	Nº 106	-0,0028	0,0091
miR-10b	Nº 32	0,002	-0,0066
miR-185 prec.	Nº 171	-0,0014	0,0047
miR-92-1	Nº 81	-2,00E-04	5,00E-04

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

puntuaciones de cáncer negativas.

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

5 **Resultados**

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

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

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

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

20

Tabla 7. microARN desregulados en cánceres comunes sólidos*.

Cáncer	Regulados positivamente por PAM	Regulados positivamente por SAM	Regulados negativamente por PAM	Regulados negativamente por SAM
Mama	15	3 (FDR=0,33)	12	47
Colon	21	42 (FDR<=0,06)	1	5
Pulmón	35	38 (FDR<=0,01)	3	3
Páncreas	55	50 (FDR<=0,01)	2	8
Estómago	22	22 (FDR=0,06)	6	4
Próstata	39	49 (FDR=0,06)	6	3

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-21 (Nº 47)	0,0331	-0,4364
miR-29b-2 (Nº 95)	0,0263	-0,3467
miR-146 (Nº 144)	0,0182	-0,2391
miR-125b-2 (Nº 111)	-0,0174	0,2286
miR-125b-1 (Nº 109)	-0,0169	0,222
miR-10b (Nº 32)	-0,0164	0,2166
miR-145 (Nº 143)	-0,0158	0,2076
miR-181a (Nº 158)	0,0153	-0,201
miR-140 (Nº 136)	-0,0122	0,1613
miR-213 (Nº 160)	0,0116	-0,1527
miR-29a prec (Nº 63)	0,0109	-0,1441

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-181b-1 (Nº 210)	0,0098	-0,1284
miR-199b (Nº 194)	0,0089	-0,1172
miR-29b-1 (Nº 64)	0,0084	-0,1111
miR-130a (Nº 120)	-0,0076	0,1001
miR-155 (Nº 157)	0,0072	-0,0951
let-7a-2 (Nº 3)	-0,0042	0,0554
miR-205 (Nº 201)	-0,004	0,0533
miR-29c (Nº 65)	0,0032	-0,0423
miR-224 (Nº 228)	-0,003	0,0399
miR-100 (Nº 91)	-0,0021	0,0283
miR-31 (Nº 73)	0,0017	-0,022
miR-30c (Nº 70)	-7,00E-04	0,009
miR-17-5p (Nº 41)	7,00E-04	-0,0089
miR-210 (Nº 205)	4,00E-04	-0,0057
miR-122a (Nº 101)	4,00E-04	-0,005
miR-16-2 (Nº 39)	-1,00E-04	0,0013

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-24-1 (Nº 52)	0,0972	-0,5589
miR-29b-2 (Nº 95)	0,0669	-0,3845
miR-20a (Nº 46)	0,0596	-0,3424
miR-10a (Nº 30)	0,0511	-0,2938
miR-32 (Nº 75)	0,0401	-0,2306
miR-203 (Nº 197)	0,0391	-0,2251
miR-106a (Nº 99)	0,0364	-0,2094
miR-17-5p (Nº 41)	0,0349	-0,2005
miR-30c (Nº 70)	0,0328	-0,1888
miR-223 (Nº 227)	0,0302	-0,1736
miR-126* (Nº 102)	0,0199	-0,1144
miR-128b (Nº 115)	0,0177	-0,102
miR-21 (Nº 47)	0,0162	-0,0929
miR-24-2 (Nº 54)	0,0145	-0,0835
miR-99b prec (Nº 88)	0,0125	-0,0721
miR-155 (Nº 157)	0,0092	-0,0528
miR-213 (Nº 160)	0,0091	-0,0522
miR-150 (Nº 148)	0,0042	-0,0243
miR-107 (Nº 100)	0,003	-0,0173
miR-191 (Nº 177)	0,0028	-0,0159
miR-221 (Nº 224)	0,002	-0,0116
miR-9-3 (Nº 28)	-0,0014	0,0083

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-21 (Nº 47)	0,175	-0,175

miR-205 (Nº 201)	0,1317	-0,1317
miR-200b (Nº 195)	0,1127	-0,1127
miR-9-1 (Nº 24)	0,1014	-0,1014
miR-210 (Nº 205)	0,0994	-0,0994
miR-148 (Nº 146)	0,0737	-0,0737
miR-141 (Nº 137)	0,0631	-0,0631
miR-132 (Nº 121)	0,0586	-0,0586
miR-128b (Nº 115)	0,0559	-0,0559
let-7g (Nº 15)	0,0557	-0,0557
miR-16-2 (Nº 39)	0,0547	-0,0547
miR-129-1/2 prec (Nº 118)	0,0515	-0,0515
miR-126* (Nº 102)	-0,0406	0,0406
miR-142-as (Nº 139)	0,0366	-0,0366
miR-30d (Nº 72)	-0,0313	0,0313
miR-30a-5p (Nº 66)	-0,0297	0,0297
miR-7-2 (Nº 21)	0,0273	-0,0273
miR-199a-1 (Nº 191)	0,0256	-0,0256
miR-127 (Nº 112)	0,0254	-0,0254
miR-34a prec (Nº 79)	0,0214	-0,0214
miR-34a (Nº 78)	0,0188	-0,0188
miR-136 (Nº 130)	0,0174	-0,0174
miR-202 (Nº 196)	0,0165	-0,0165
miR-196-2 (Nº 188)	0,0134	-0,0134
miR-199a-2 (Nº 192)	0,0126	-0,0126
let-7a-2 (Nº 3)	0,0109	-0,0109
miR-124a-1 (Nº 104)	0,0081	-0,0081
miR-149 (Nº 147)	0,0079	-0,0079
miR-17-5p (Nº 41)	0,0061	-0,0061
miR-196-1 prec (Nº 186)	0,0053	-0,0053
miR-10a (Nº 30)	0,0049	-0,0049
miR-99b prec (Nº 88)	0,0045	-0,0045
miR-196-1 (Nº 185)	0,0044	-0,0044
miR-199b (Nº 194)	0,0039	-0,0039
miR-191 (Nº 177)	0,0032	-0,0032
miR-195 (Nº 184)	7,00E-04	-7,00E-04
miR-155 (Nº 157)	7,00E-04	-7,00E-04

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-103-2 (Nº 96)	0,4746	-1,582
miR-103-1 (Nº 97)	0,4089	-1,3631
miR-24-2 (Nº 54)	0,4059	-1,3529
miR-107 (Nº 100)	0,3701	-1,2336
miR-100 (Nº 91)	0,3546	-1,182
miR-125b-2 (Nº 111)	0,3147	-1,0489
miR-125b-1 (Nº 109)	0,3071	-1,0237
miR-24-1 (Nº 52)	0,2846	-0,9488
miR-191 (Nº 177)	0,2661	-0,887
miR-23a (Nº 50)	0,2586	-0,8619
miR-26a-1 (Nº 56)	0,2081	-0,6937

ES 2 545 360 T3

miR-125a (Nº 107)	0,1932	-0,644
miR-130a (Nº 120)	0,1891	-0,6303
miR-26b (Nº 58)	0,1861	-0,6203
miR-145 (Nº 143)	0,1847	-0,6158
miR-221 (Nº 224)	0,177	-0,59
miR-126* (Nº 102)	0,1732	-0,5772
miR-16-2 (Nº 39)	0,1698	-0,5659
miR-146 (Nº 144)	0,1656	-0,552
miR-214 (Nº 212)	0,1642	-0,5472
miR-99b (Nº 89)	0,1636	-0,5454
miR-128b (Nº 115)	0,1536	-0,512
miR-155 (Nº 157)	-0,1529	0,5098
miR-29b-2 (Nº 95)	0,1487	-0,4956
miR-29a (Nº 62)	0,1454	-0,4848
miR-25 (Nº 55)	0,1432	-0,4775
miR-16-1 (Nº 38)	0,1424	-0,4746
miR-99a (Nº 90)	0,1374	-0,4581
miR-224 (Nº 228)	0,165	-0,4549
miR-30d (Nº 72)	0,1301	-0,4336
miR-92-2 (Nº 82)	0,116	-0,3865
miR-199a-1 (Nº 191)	0,1158	-0,3861
miR-223 (Nº 227)	0,1141	-0,3803
miR-29c (Nº 65)	0,113	-0,3768
miR-30b (Nº 68)	0,1008	-0,3361
miR-129-1/2 (Nº 117)	0,1001	-0,3337
miR-197 (Nº 189)	0,0975	-0,325
miR-17-5p (Nº 41)	0,0955	-0,3185
miR-30c (Nº 70)	0,0948	-0,316
miR-7-1 (Nº 19)	0,0933	-0,311
miRs-93-1 (Nº 83)	0,0918	-0,3061
miR-140 (Nº 136)	0,0904	-0,3015
miR-30a-5p (Nº 66)	0,077	-0,2568
miRs-132 (Nº 121)	0,0654	-0,2179
miR-181b-1 (Nº 210)	0,0576	-0,1918
miR-152 prec (Nº 151)	-0,0477	0,1591
miR-23b (Nº 51)	0,0469	-0,1562
miR-20a (Nº 46)	0,0452	-0,1507
miRs-222 (Nº 225)	0,0416	-0,1385
miR-21a (Nº 59)	0,0405	-0,1351
miRs-92-1 (Nº 81)	0,0332	-0,1106
miRs-21 (Nº 47)	0,0288	-0,0959
miR-129-112 prec (Nº 118)	0,0282	-0,0939
miR-150 (Nº 148)	0,0173	-0,0578
miR-32 (Nº 75)	0,0167	-0,0558
miR-106a (Nº 99)	0,0142	-0,0473
miR-29b-1 (Nº 64)	0,0084	-0,028

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
let-7d (Nº 8)	0,0528	-0,4227
miR-128a prec (Nº 113)	-0,0412	0,3298
miR-195 (Nº 184)	0,04	-0,3199
miR-203 (Nº 197)	0,0356	-0,2851
let-7a-2 prec (Nº 2)	-0,0313	0,2504
miR-34a (Nº 78)	0,0303	-0,2428
miR-20a (Nº 46)	0,029	-0,2319
miR-218-2 (Nº 221)	-0,0252	0,2018
miR-29a (Nº 62)	0,0247	-0,1978
miR-25 (Nº 55)	0,0233	-0,1861
miR-95 (Nº 84)	0,0233	-0,1861
miR-197 (Nº 189)	0,0198	-0,1587
miR-135-2 (Nº 128)	0,0198	-0,1582
miR-187 (Nº 173)	0,0192	-0,1535
miR-196-1 (Nº 185)	0,0176	-0,1411
miR-148 (Nº 146)	0,0175	-0,1401
miR-191 (Nº 177)	0,017	-0,136
miR-21 (Nº 47)	0,0169	-0,1351
let-7i (Nº 10)	0,0163	-0,1303
miR-198 (Nº 190)	0,0145	-0,1161
miR-199a-2 (Nº 192)	0,0136	-0,1088
miR-30c (Nº 70)	0,0133	-0,1062
miR-11-5p (Nº 41)	0,0132	-0,1053
miR-92-2 (Nº 82)	0,012	-0,0961
miR-146 (Nº 144)	0,0113	-0,0908
miR-181b-1 prec (Nº 211)	0,011	-0,0878
miR-32 (Nº 75)	0,0109	-0,0873
miR-206 (Nº 202)	0,0104	-0,083
miR-184 prec (Nº 169)	0,0096	-0,0764
miR-29a prec (Nº 63)	-0,0095	0,076
miR-29b-2 (Nº 95)	0,0092	-0,0739
miR-149 (Nº 147)	-0,0084	0,0676
miR-181b-1 (Nº 210)	0,0049	-0,0392
miR-196-1 prec (Nº 186)	0,0042	-0,0335
miR-93-1 (Nº 83)	0,0039	-0,0312
miR-223 (Nº 227)	0,0038	-0,0308
miR-16-1 (Nº 38)	0,0028	-0,0226
miR-101-1 prec (Nº 92)	0,0015	-0,0123
miR-124a-1 (Nº 104)	0,0015	-0,0119
miR-26a-1 (Nº 56)	0,0015	-0,0119
miR-214 (Nº 212)	0,0013	-0,0105
miR-27a (Nº 59)	0,0011	-0,0091
miR-24-1 (Nº 53)	-8,00E-04	0,0067
miR-106a (Nº 99)	7,00E-04	-0,0057
miR-199a-1 (Nº 191)	4,00E-04	-0,0029

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-223 (Nº 227)	0,1896	-0,1806
miR-21 (Nº 47)	0,1872	-0,1783
miR-218-2 (Nº 221)	-0,1552	0,1478
miR-103-2 (Nº 96)	0,1206	-0,1148
miR-92-2 (Nº 82)	0,1142	-0,1088
miR-25 (Nº 55)	0,1097	-0,1045
miR-136 (Nº 130)	-0,1097	0,1045
miR-191 (Nº 177)	0,0946	-0,0901
miR-221 (Nº 224)	0,0919	-0,0876
miR-125b-2 (Nº 111)	0,0913	-0,0869
miR-103-1 (Nº 97)	0,0837	-0,0797
miR-214 (Nº 212)	0,0749	-0,0713
miR-222 (Nº 225)	0,0749	-0,0713
miR-212 prec (Nº 209)	-0,054	0,0514
miR-125b-1 (Nº 109)	0,0528	-0,0503
miR-100 (Nº 91)	0,0526	-0,0501
miR-107 (Nº 100)	0,0388	-0,0369
miR-92-1 (Nº 81)	0,0369	-0,0351
miR-96 (Nº 86)	-0,0306	0,0291
miR-192 (Nº 178)	0,0236	-0,0224
miR-23a (Nº 50)	0,022	-0,021
miR-215 (Nº 213)	0,0204	-0,0194
miR-7-2 (Nº 21)	0,0189	-0,018
miR-138-2 (Nº 133)	-0,0185	0,0176
miR-24-1 (Nº 52)	0,0151	-0,0144
miR-99b (Nº 89)	0,0098	-0,0093
miR-33b (Nº 76)	-0,0049	0,0046
miR-24-2 (Nº 54)	0,0041	-0,0039

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

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

miR	N	Tipo de Tumor
miR-21	6	Mama Colon Pulmón Páncreas Próstata Estómago
miR-17-5p	5	Mama Colon Pulmón Páncreas Próstata
miR-191	5	Colon Pulmón Páncreas Próstata Estómago
miR-29b-2	4	Mama Colon Páncreas Próstata
miR-223	4	Colon Páncreas Próstata Estómago
miR-128b	3	Colon Pulmón Páncreas
miR-199a-1	3	Pulmón Páncreas Próstata
miR-24-1	3	Colon Páncreas Estómago
miR-24-2	3	Colon Páncreas Estómago
miR-146	3	Mama Páncreas Próstata
miR-155	3	Mama Colon Pulmón

miR-181b-1	3	Mama Páncreas Próstata
miR-20a	3	Colon Páncreas Próstata
miR-107	3	Colon Páncreas Estómago
miR-32	3	Colon Páncreas Próstata
miR-92-2	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-214	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-30c	3	Colon Páncreas Próstata
miR-25	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-221	3	Colon Páncreas Estómago
miR-106a	3	Colon Páncreas Próstata
* - La lista incluye 21 microARN regulados positivamente habitualmente en 3 o más (N) tipos de cánceres sólidos (p valor = $2,5 \times 10^{-3}$).		

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

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

Sorprendentemente, miR-21, miR-191 y miR-17-5p están significativamente sobreexpresados en todos, o en 5 de 6, de los tipos tumorales que se consideraron. Se indicó que miR-21 estaba sobreexpresado en glioblastoma y que tenía propiedades antiapoptóticas (Chan, J. A., *et al.*, Cancer Res. 65: 6029-6033 (2005)). El cáncer de pulmón
 15 comparte una parte de su distintivo con el cáncer de mama y una parte con los otros tumores sólidos, incluyendo miR-17/20/92, los tres de los cuales son miembros del grupo de microARN que coopera activamente con c-Myc para acelerar la linfomagénesis (He, L., *et al.*, Nature 435: 828-833 (2005)). La identificación de estos microARN como sobreexpresados es una excelente confirmación del enfoque de los inventores. Un segundo grupo de miARN que
 20 está activado incluye miR-210 y miR-213, junto con miR-155, que ya se había indicado que estaba amplificado en linfomas de células grandes (Eis, P. S., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 3627-3632 (2005)), niños con linfoma de Burkitt (Metzler, M., *et al.*, Genes Chromosomes Cancer 39: 117-169 (2004)) y diversos linfomas de linfocitos B (Kluiver, J., *et al.*, J. Pathol., publicado digitalmente en línea, 22 de julio de 2005). Estos microARN son los únicos regulados positivamente en cáncer de mama y pulmón. miR-218-2 está uniformemente regulado negativamente en cánceres de colon, estómago, próstata y páncreas, pero no en carcinomas de pulmón y mama.

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

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

Materiales y métodos:

40 *Predicciones de diana de oncogén y supresor de tumores*

Se usaron las predicciones de TargetScan más recientes (Abril de 2005) para identificar dianas de microARN potenciales. Estas incluyen esencialmente las dianas de UTR 3' indicadas por Lewis *et al.* (Lewis, B. P., *et al.*, Cell
 45 120: 15-20 (2005)), con algunos cambios que surgen de las definiciones de límite génico actualizadas del mapeo del Buscador de Genoma de UCSC de Abril de 2005 de los ARNm RefSeq para el ensamblaje de genoma humano

hg17. Entre las dianas potenciales, se especificaron genes de cáncer conocidos (supresores de tumores y oncogenes) de acuerdo con su identificación en el Censo Génico del Cáncer, al que puede accederse en el sitio de Internet www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/, o como se indica por OMIM en www.ncbi.nlm.nih.gov.

5 *Ensayos in vitro de diana*

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

20 *Transferencia de Western para RB1*

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

25 *Resultados*

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

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

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

Estas pruebas experimentales refuerzan la hipótesis de que genes clave del cáncer están regulados por expresión

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

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

Gen de miARN	Nombre del gen	Descripción del gen
miR-26a, miR-146	ABL2	homólogo de oncogén viral de leucemia murina de Abelson v-abl 2 (arg, gen relacionado con Abelson)
miR-107	AF5q31	gen fusionado con ALL1 de 5q31
miR-20, miR-125b	AKT3	homólogo de oncogén viral de timoma murino v-akt 3
miR-26a, miR-155 miR-125b	APC	poliposis adenomatosa de colon
miR-26a, miR-218	ARHGEF12	factor de intercambio de nucleótidos de guanina de RHO (GEF) 12 (LARG)
miR-107, miR-221	ARNT	translocador nuclear de receptores de hidrocarburos de arilo
miR-192	ATF1	factor de transcripción activador 1
miR-26a	ATM	ataxia telangiectasia mutada (incluye grupos de complementación A, C y D)
miR-24	AXL	tirosina quinasa receptora de AXL
miR-26a, miR-107, miR-146, miR-155 miR-138, miR-92	BCL11A	CLL de linfocitos B/linfoma 11A
miR-20	BCL11B	CLL de linfocitos B/linfoma 11B (CTIP2)
miR-21	BCL2	CLL de linfocitos B/linfoma 2
miR-26a, miR-26a miR-20,	BCL6	CLL de linfocitos B/linfoma 6 (proteína de dedo de cinc 51)
miR-92	BCL9	CLL de linfocitos B/linfoma 9
miR-26a, miR-223 miR-221, miR-125b	CBFB	subunidad beta del factor de unión al núcleo
miR-218	CCDC6	Dominio superenrollado que contiene 6 ciclinas D1 (PRAD1:adenomatosis paratiroidea 1)
miR-20	CCND1	
miR-26a, miR-20	CCND2	ciclina D2
miR-26a, miR-107, miR-92	CDK6	quinasa dependiente de ciclina 6
miR-20	CDKN1A	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A (p21, Cip1)
miR-221, miR-92	CDKN1C	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1C (p57, Kip2)
miR-24	CDX2	factor de transcripción de caja homeótica de tipo caudal 2
miR-92	CEBPA	CCAAT/proteína de unión potenciadora (C/EBP), alfa
miR-26a	CLTC	clatrina, polipéptido pesado (He)
miR-218	COL1A1	colágeno, tipo I, alfa 1
miR-26a	CREBBP	proteína de unión a CREB (CBP)
miR-20	CRK	homólogo del oncogén CT10 del virus del sarcoma aviar v-crk
miR-20	CSF1	factor estimulante de colonias 1 (macrófagos)
miR-221, miR-192	DDX6	polipéptido 6 de la caja DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) (helicasa de ARN, 54 kD)
miR-138	DEK	unión)
miR-20	E2F1	factor de transcripción 1
miR-20	ELK3	ELK3, proteína de dominio ETS (proteína accesoria de SRF 2)
miR-24	ELL	gen de ELL (gen de leucemia rica en lisina 11-19)
miR-26a, miR-138	ERBB4	tipo homólogo de oncogén viral de leucemia eritroblástica aviar v-erb-a 4
miR-221, miR-155, miR-125b	ETS1	homólogo 1 del oncogén E26 de virus de eritroblastosis aviar v-ets
miR-20	ETV1	gen variante 1
miR-125b	ETV6	gen variante de ets 6 (oncogén TEL)
miR-223	FAT	homólogo de supresor de tumores FAT (<i>Drosophila</i>)
miR-223, miR-125b, miR-218	FGFR2	receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 2
miR-92	FLI1	integración de virus de leucemia de Friend 1

miR-24, miR-20	FLT1	tirosina quinasa 1 relacionada con fins (factor de crecimiento endotelial vascular/receptor de factor de permeabilidad vascular)
miR-221	FOS	homólogo del oncogén viral de osteosarcoma murino v-fos
miR-92	FOXP1	G1B de caja forkhead
miR-223	FOXP3A	O3A de caja forkhead box
miR-125b	GOLGA5	autoantígeno de golgi, subfamilia a de golgina, 5 (PTC5)
miR-138	GPHN	gefirina (GPH)
miR-107, miR-223, miR-20, miR-218	HLF	factor de leucemia hepática
miR-26a, miR-107	HMGA1	gancho AT de grupo de alta movilidad 1
miR-20	HOXA13	A13 de caja homeótica
miR-92	HOXA9	A9 de caja homeótica
miR-125b	IRF4	factor regulador de interferón 4
miR-146, miR-20, miR-138	JAZF1	yuxtapuesto con otro gen de dedo de cinc 1
miR-92	JUN	homólogo del oncogén 17 del virus de sarcoma aviar v-jun
miR-155	KRAS	homólogo del oncogén viral de sarcoma de rata de Kirsten 2 v-Ki-ras 2
miR-218	LASP1	proteína LIM y SH3 1
miR-218	LHFP	compañero de fusión de HMGIC de lipoma
miR-125b, miR-218	LIFR	receptor de factor inhibidor de leucemia
miR-223	LMO2	dominio de LIM solamente 2 (tipo rombotina 1) (RBTN2)
miR-223, miR-155, miR-125b, miR-92	MAF	homólogo del oncogén de fibrosarcoma musculoesquelético (aviar) v-maf
miR-92	MAP2K4	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 4
miR-146, miR-20	MAP3K8	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 8
miR-125b	MAX	proteína MAX
miR-218	MCC	mutada en cánceres colorrectales
miR-24	MEN1	neoplasia endocrina múltiple I
miR-138	MLLT6	leucemia mieloide/linfocítica o de linaje mixto (homólogo de trithorax, <i>Drosophila</i>) translocado a 6 (AF17)
miR-192	MSN	moesina
miR-24	MYB	homólogo del oncogén viral de mieloblastosis aviar v-myb
miR-107, miR-223, miR-146, miR-221, miR-155, miR-218	MYBL1	tipo homólogo de oncogén viral de mieloblastosis aviar v-myb 1
miR-107, miR-20	MYCN	derivado de neuroblastoma de oncogén relacionado con virus de mielocistomatosis aviar v-myc
miR-107, miR-92	MYH9	miosina, polipéptido pesado 9, no muscular
miR-24	MYST4	histona acetiltransferasa MYST (leucemia monocítica) 4 (MORF)
miR-20	NBL1	neuroblastoma, supresión de tumorigenicidad 1
miR-125b	NIN	nineína (proteína que interacciona con GSK3B)
miR-26a, miR-107	NKTR	secuencia de reconocimiento de tumor de citolítica natural
miR-92	NOTCH1	homólogo de Notch 1, asociado a translocación (<i>Drosophila</i>) (TAN1)
miR-24	NTRK3	tirosina quinasa neurotrófica, receptor, tipo 3
miR-125b	PCSK7	subtilisina de proproteína convertasa/quexina tipo 7
miR-24, miR-146	PER1	homólogo de periodo 1 (<i>Drosophila</i>)
miR-146, miR-125b, miR-138,	PHOX2B	homeocaja de tipo emparejado 2b
miR-155	PICALM	proteína de ensamblaje de clatrina de unión a fosfatidilinositol (CALM)
miR-24, miR-26a	PIM1	oncogén pim-1
miR-24, miR-26a, miR-21, miR-107, miR-20, miR-155	PLAG1	gen de adenoma pleiomórfico 1
miR-218	RAB8A	RAB8A, miembro de la familia de oncogén RAS
miR-24, miR-221	RALA	homólogo A del oncogén viral de leucemia de simio v-ral

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

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

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

5

LISTADO DE SECUENCIAS

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

10

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

15

<130> 1-28349

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

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

5 <150> 60/756.585 <151> 05-01-2006
 <160> 498
 <170> PatentIn versión 3.5

10 <210> 1
 <211> 90
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 1

cacuguggga ugagguagua gguuguauag uuuuaggguc acaccacca cugggagaua 60
acuauacaau cuacugucuu uccuaacgug 90

20 <210> 2
 <211> 72
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 2
 agguugaggu aguagguugu auaguuuaga auuacaucuaa gggagauaac uguacagccu 60
 ccuagcuuuc cu 72

30 <210> 3
 <211> 74
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 3
gggugaggua guagguugua uaguuuuggg cucugcccug cuaugggaua acuauacaau 60
cuacugucuu uccu 74

40 <210> 4
 <211> 107
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 4
gugacugcau gcucccaggu ugagguagua gguuguauag uuuagaauua cacaagggag 60

45 **auaacuguaac agccuccuag cuuuccuugg gucuugcacu aaacaac 107**

50 <210> 5
 <211> 85
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 5

	ggcgggguga gguaguaggu uguuguguuu cagggcagug auguugcccc ucggaagaua	60
	acuauacaac cuacugccuu cccug	85
5	<210> 6 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 6	
	gcauccgggu ugagguagua gguuguaugg uuuagaguua caccucggga guuaacugua	60
10	caaccuucua gcuuuccuug gagc	84
15	<210> 7 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 7	
	ccuaggaaga gguaguaggu ugcauaguuu uagggcaggg auuuugccca caaggaggua	60
20	acuauacgac cugcugccuu ucuuagg	87
25	<210> 8 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 8	
	cuaggaagag guaguaguuu gcauaguuuu agggcaaga uuuugccac aaguaguag	60
30	cuauacgacc ugcagccuuu uguag	85
35	<210> 9 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 9	
	cuggcugagg uaguaguuuu ugcuguuugu cggguuguga cauugcccg ucuggagaua	60
40	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
45	<210> 10 <211> 79 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 10	
	cccgggcuga gguaggaggu uguauaguug aggaggacac ccaaggagau cacuauacgg	60
	ccuccuagcu uccccagg	79
	<210> 11 <211> 87	

ES 2 545 360 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 11		
	ucagagugag guaguagauu guauaguugu gggguaguga uuuuacccug uucaggagau	60	
	aacuaaaca ucuauugccu ucccuga	87	
10	<210> 12 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 12		
	cugugggaur agguaguaga uuguauaguu guggguagu gauuuaccc uguucaggag	60	
15	auaacuaac aaucuaugc cucccuga	89	
20	<210> 13 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 13		
	cugugggaur agguaguaga uuguauaguu uuagggucau acccaucuu ggagauaacu	60	
25	auacagucua cugucuucc cacgg	85	
30	<210> 14 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 14		
	uugccugauu ccaggcugag guaguaguu guacaguuug agggucuaug auaccacccg	60	
	guacaggaga uacuguaa gccacugcc uugccaggaa cagcgcgc	108	
35	<210> 15 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 15		
	cuggcugagg uaguaguug ugcuguuggu cggguuguga cauugcccgc uguggagaua	60	
	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85	
45	<210> 16 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 16		

ES 2 545 360 T3

	accuacucag aguacauacu ucuuuuugua ccgauaugaa cauacaaugc uauggaaugu	60
	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85
5	<210> 17 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 17	
	cagcuaacaa cuuaguaaua ccuacucaga guacauacuu cuuuuanguac ccgauugaac	60
10	auacaauagcu auggaaugua aagaaguau uauuuuuggu aggcaua	108
15	<210> 18 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 18	
	gccugcuugg gaaacauacu ucuuuauaug ccgauugga ccugcuaagc uauggaaugu	60
20	aaagaaguau guaucucagg ccggg	85
25	<210> 19 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 19	
	ugggaaacau acuucuuuau augcccauau ggaccugcua agcuauggaa uguaaaagaag	60
30	uanguaucuc a	71
35	<210> 20 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 20	
	accuacucag aguacauacu ucuuuuugua ccgauaugaa cauacaaugc uauggaaugu	60
	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85
40	<210> 21 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 21	
	uggauguugg ccuaguucug uguggaagac uagugauuuu guuguuuuuu gauaacuaaa	60
	ucgacaacaa aucacagucu gccauuggc acaggccaug ccucuaca	108
50	<210> 22 <211> 110 <212> ARN	

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 22		
	uuggauguug gccuaguucu guguggaaga cuagugauuu uguuguuuuu agauaacuaa	60	
5	aucgacaaca aaucacaguc ugccauaugg cacaggccau gccucuacag	110	
	<210> 23		
	<211> 110		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 23		
	cuggauacag aguggaccgg cuggccccau cuggaagacu agugauuuug uguugucuu	60	
15	acugcgcuca acaacaaauc ccagucuacc uaauggugcc agccaucgca	110	
	<210> 24		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 24		
	agauuagagu ggcugugguc uagugcugug uggaagacua gugauuuugu uguucugaug	60	
	uacuacgaca acaagucaca gccggccuca uagcgcagac ucccuucgac	110	
25	<210> 25		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 25		
	cgggguuggu uguuauuuuu gguuaucuag cuguauagagu gguguggagu cuucaaaaag	60	
	cuagauaacc gaaaguaaa auaaccca	89	
35	<210> 26		
	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 26		
	ggaagcgagu uguuauuuuu gguuaucuag cuguauagagu guauuggucu ucauaaaagcu	60	
	agauaaccga aaguaaaaac uccuua	87	
45	<210> 27		
	<211> 90		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 27		
	ggaggcccggu uucucucuuu gguuaucuag cuguauagagu gccacagagc cgucauaaaag	60	
	cuagauaacc gaaaguagaa augauucuca	90	

ES 2 545 360 T3

5	<210> 28 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 28		
		gaucugucug ucuucugua auaccugua gauccgaauu uguguaagga auuuuguggu	60
10		cacaaaucg uaucuagggg aauauguagu ugacauaaac acuccgcucu	110
	<210> 29 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 29		
		ccagagguug uaacguuguc uauauauacc cuguagaacc gaauuugugu gguauccgua	60
		uagucacaga uucgauucua ggggaauua uggucgaugc aaaaauca	110
20	<210> 30 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 30		
		gcgcgaauqu guguuuaaa aaaaauaac cuuggaguaa aguagcagca cauaaugguu	60
		uguggauuuu gaaaaggugc aggccauuuu gugcugccuc aaaaauac	108
30	<210> 31 <211> 83 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 31		
		ccuuggagua aaguagcagc acauaauggu uuguggauuu ugaaaaggug caggccauau	60
		ugugcugccu caaaaauaca agg	83
40	<210> 32 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 32		
		cuguagcagc acaucauggu uuacaugcua cagucaagau gcgaaucuu auuugcugcu	60
45		cuag	64
50	<210> 33 <211> 98 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 33		

ES 2 545 360 T3

	uugaggccuu aaaguacugu agcagcacau caugguuuac augcuacagu caagaugcga	60
	aucauuauuu gcugcucuag aaauuuagg aaauucau	98
5	<210> 34 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 34	
	gucagcagug ccuuagcagc acguaaaau uggcguaag auucuaaaa uaucuccagu	60
10	auuaacugug cugcugaagu aagguugac	89
15	<210> 35 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 35	
	guuccacucu agcagcacgu aaauuuagg guagugaaau auauuuaaa caccauuuu	60
20	acugugcugc uuuaguguga c	81
25	<210> 36 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 36	
	gcagugccuu agcagcacgu aaauuuagg guuaagauuc uaaaauuuc uccaguauua	60
30	acugugcugc ugaaguaagg u	81
35	<210> 37 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 37	
	gucagaauaa ugucaaagug cuuacagugc agguagugau augugcaucu acugcaguga	60
40	aggcacuugu agcauuagg ugac	84
45	<210> 38 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 38	
	uguucuaagg ugcaucuagu gcagauagug aaguagauua gcaucuacug ccuaagugc	60
50	uccuucuggc a	71
	<210> 39 <211> 81 <212> ARN	

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 39		
	uuuuuguucu aaggugcauc uagugcagau agugaaguag auuagcaucu acugccuaa	60	
5	gugcuccuuc uggcauaaga a	81	
	<210> 40		
	<211> 82		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 40		
	gcaguccucu guuaguuug cauaguugca cuacaagaag aauguaguug ugcaaaucua	60	
15	ugcaaaacug augguggccu gc	82	
	<210> 41		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 41		
	caguccucug uuaguuuugc auaguugcac uacaagaaga auguaguugu gcaaaucua	60	
	gcaaaacuga ugguggccug	80	
25	<210> 42		
	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 42		
	cacuguucua ugguuaguuu ugcagguuug cauccagcug ugugauauuc ugcugugcaa	60	
	auccaugcaa aacugacugu gguagug	87	
35	<210> 43		
	<211> 96		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 43		
	acaauugcuac uuacaauuag uuugcaggu uugcauuuca gcguauauau guauaugugg	60	
	cugugcaaa uccaugcaaaa cugauuguga uaaugu	96	
	<210> 44		
	<211> 80		
	<212> ARN		
45	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 44		
	uucuaugguu aguuuugcag guuugcaucc agcuguguga uauucugcug ugcaaaucua	60	
50	ugcaaaacug acugugguag	80	

ES 2 545 360 T3

	<210> 45		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 45		
	uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcguauauau guauaugugg cugugcaaa	60	
	ccaugcaaaa cugauuguga u	81	
10	<210> 46		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 46		
	guagcacuaa agugcuuaua gugcagguag uguuuaguua ucuacugcau uaugagcacu	60	
	uaaaguacug c	71	
20	<210> 47		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 47		
	ugucggguag cuuaucaaac ugauguugac uguugaauuu cauggcaaca ccagucgaug	60	
	ggcugucuga ca	72	
30	<210> 48		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 48		
	accuugucgg guagcuuauc agacugaugu ugacuguuga aucucauggc aacaccaguc	60	
35	gaugggcugu cugacauuuu g	81	
40	<210> 49		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 49		
	ggcugagccg caguaguucu ucaguggcaa gcuuuauugc cugacccagc uaaagcugcc	60	
45	aguugaagaa cuguugcccu cugcc	85	
50	<210> 50		
	<211> 73		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 50		

ES 2 545 360 T3

	ggccggcugg gguuccuggg gaugggauuu gcuuccuguc acaaaucaca uugccaggga	60
	uuuccaaccg acc	73
5	<210> 51 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 51	
	cucaggugcu cuggcugcuu gguuccugg caugcugauu ugugacuuaa gauuzaaauc	60
10	acauugccag ggauuaccac gcaaccacga ccuuggc	97
15	<210> 52 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 52	
	ccacggccgg cugggguucc ugagggauggg auuugcuucc ugucacaaau cacauugcca	60
20	gggauuucca accgaccug a	81
25	<210> 53 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 53	
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg	60
30	aacaggag	68
35	<210> 54 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 54	
	cucugccucc cgugccuacu gagcugaaac acaguugguu uguguacacu ggcucaguuc	60
	agcaggaaca ggg	73
40	<210> 55 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 55	
	ccugggguc ugccucccg gcuacugag cugaaacaca guugguuugu guacacuggc	60
	ucaguucagc aggaacaggg g	81
50	<210> 56 <211> 71 <212> ARN	

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 56		
	cccuccggug ccuacugagc ugauaucagu ucucauuua cacacuggcu caguucagca	60	
5	ggaacagcau c	71	
	<210> 57		
	<211> 84		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 57		
	ggccaguguu gagaggcga gacuuggga auugcuggac gcugcccugg gcauugcacu	60	
	ugucucgguc ugacagugcc ggcc	84	
15	<210> 58		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 58		
	aggccguggc cucguucaag uauuccagga uaggcugugc aggucccau ggccuaucuu	60	
	gguuacuugc acggggacgc gggccu	86	
25	<210> 59		
	<211> 77		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 59		
	guggccucgu ucaaguaauc caggauaggc ugugcagguc ccaaugggcc uauucuuggu	60	
	uacuugcacg gggacgc	77	
35	<210> 60		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 60		
	ggcugugggcu ggauucaagu aauccaggau aggcuguuuc caucugugag gccuauucu	60	
	gauuacuugu uucuggaggc agcu	84	
45	<210> 61		
	<211> 77		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 61		
	ccgggaccca guucaaguaa uucaggauag guugugugcu guccagccug uucuccauua	60	
50	cuuggcucgg ggaccgg	77	

ES 2 545 360 T3

	<210> 62		
	<211> 78		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 62		
	cugaggagca gggcuuagcu gcuugugagc aggguccaca ccaagucgug uucacagugg	60	
	cuaaguuccg cccccag	78	
10	<210> 63		
	<211> 73		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 63		
	aggugcagag cuuagcugau uggugaacag ugauugguuu ccgcuuuguu cacaguggcu	60	
	aaguucugca ccu	73	
20	<210> 64		
	<211> 97		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 64		
	accucucuaa caaggugcag agcuuagcug auuggugaac agugauuggu uuccgcuuug	60	
	uucacagugg cuaaguucug caccugaaga gaaggug	97	
30	<210> 65		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 65		
	ccugaggagc agggcuuagc ugcuuugugag caggguccac accaagucgu guucacagug	60	
	gcuaaguucc gccccccagg	80	
40	<210> 66		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 66		
	gguccuugcc cucaaggagc ucacagucua uugaguuacc uuucugacuu ucccacuaga	60	
45	uugugagcuc cuggagggca ggcacu	86	
	<210> 67		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 67		

	ccuucuguga ccccuuagag gaugacugau uucuuuuggu guucagaguc aaauaaauu	60
	ucuagcacca ucugaaaucg guuauaauga uuggggaaga gcaccaug	108
5	<210> 68 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 68	
	augacugauu uucuuuuggug uucagaguca auauaaauuu cuagcaccau cugaaaucgg	60
10	uuau	64
15	<210> 69 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 69	
	cuucaggaag cugguuucau auggugguuu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccau	60
20	ugaaaucagu guucuugggg g	81
25	<210> 70 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 70	
	cuucuggaag cugguuucac auggugguuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaccau	60
30	uugaaaucag uguuuuagga g	81
35	<210> 71 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 71	
	accacuggcc caucucuuc acaggcugac cgauuuucucc ugguguucag agucuguuuu	60
40	ugucuagcac cauuugaaau cgguuuugau guagggggaa aagcagcagc	110
	<210> 72 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 72	
45	gagacuguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gaugggcuuu cagucggaug	60
	uuugcagcug c	71
50	<210> 73 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 545 360 T3

	<400> 73 auguaaaca ccaacacuca gcuguaauac auggauuggc ugggaggugg auguuuacgu	60
5	<210> 74 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 74 accaaguuuc aguucaugua aacauccuac acucagcugu aauacaugga uggcuggga	60
	gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88
15	<210> 75 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 75 agauacugua aacauccuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug	60
	uuuacucuuu cu	72
25	<210> 76 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 76 guuguuguaa acaucccca cuggaagcug uaagacacag cuaagcuuuc agucagaugu	60
30	uugcugcuac	70
35	<210> 77 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 77 cuguaaaca ccuugacugg aagcuguaag guguucagag gagcuuucag ucggauguuu	60
40	acag	64
45	<210> 78 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 78 ggagaggagg caagaucug gcuaugcugu ugaacuggga accugcuauug ccaacauuuu	60
	gccaucuuuc c	71
50	<210> 79 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 545 360 T3

	<400> 79		
		ggagauauug cacauuacua aguugcaugu ugucacggcc ucaaugcaau uuagugugug	60
		ugauuuuuuc	70
5			
	<210> 80		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 80		
		ggggggccgag agaggggggc ggccccggcg ugcauugcug uugcauugca cgugugugag	60
		gcgggugcag ugccucggca gugcagccc gagccggccc cuggcaccac	110
15			
	<210> 81		
	<211> 88		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20			
	<400> 81		
		accaaguuuu aguucaugua aacauccuac acucagcugu aaucaugga uuggcuggga	60
		gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88
25			
	<210> 82		
	<211> 69		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 82		
		cguggugca uuguaguugc auugcauguu cuggugguac ccaugcaaug uuuccacagu	60
		gcaucacag	69
35			
	<210> 83		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40			
	<400> 83		
		ggccagcugu gaguguuucu uuggcagugu cuuagcuggu uguugugagc aauguaag	60
		aagcaaucag caaguauacu gcccuagaag ugcugcacgu uguggggccc	110
45			
	<210> 84		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50			
	<400> 84		
		gugcucgguu uguaggcagu gucauuagcu gauuguacug uggugguuac aaucacuaac	60
		uccacugcca ucaaaacaag gcac	84

ES 2 545 360 T3

	<210> 85		
	<211> 77		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 85		
	agucuaguuu cuaggcagug uaguuagcug auugcuauu guaccaauca cuaaccacac		60
	ggccagguaa aaagauu		77
10	<210> 86		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 86		
	ucagaauuu gucaaagugc uuacagugca gguagugaua ugugcaucua cugcagugaa		60
	ggcacuugua gcauuuggu ga		82
20	<210> 87		
	<211> 78		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 87		
	cuuucuaacac agguugggau cgguugcaau gcuguguuuc uguaugguau ugcacuuguc		60
	ccggccuguu gaguuugg		78
30	<210> 88		
	<211> 75		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 88		
	ucauuccugg guggggauuu guugcauuac uuguguucua uauaaaguu ugcacuuguc		60
	ccggccugug gaaga		75
40	<210> 89		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 89		
	cugggggcuc caaagugcug uucgugcagg uagugugauu acccaaccua cugcugagcu		60
45	agcacuuccc gagccccgg		80
50	<210> 90		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		

ES 2 545 360 T3

	<400> 90		
		aacacagugg gcacucaaua aaugucuguu gaaugaaa gcguuacauu caacggguau	60
		uuauugagca cccacucugu g	81
5	<210> 91 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 91		
		uggccgauuu uggcacuagc acauuuuugc uugugucucu ccgcucugag caaucaugug	60
		cagugccaau augggaaa	78
15	<210> 92 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 92		
		gugagcgacu guaaacaucc ucgacuggaa gcugugaagc cacagauggg cuuucagucg	60
		gauguuugca gcugccuacu	80
25	<210> 93 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 93		
		gugagguagu aaguuguaau guuguggggu agggauauua ggccccauu agaagauaac	60
		uauacaacuu acuacuuucc	80
35	<210> 94 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 94		
		ggcaccacc cguagaaccg accuugcggg gccuucgccg cacacaagcu cgugucugug	60
		gguccguguc	70
45	<210> 95 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 95		
		cccauuggca uaaaccgua gauccgaucu uguggugaag uggaccgcac aagcucgcuu	60
		cuaugggucu gugucagugu g	81
50	<210> 96		

ES 2 545 360 T3

	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 96		
	aagagagaag auauugaggc cuguugccac aaacccguag auccgaacuu gugguauuag	60	
	uccgcacaag cuuguaucua uagguaugug ucuguuaggc aaucucac	108	
10	<210> 97		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 97		
	ccuguugcca caaacccgua gauccgaacu ugugguauua guccgcacaa gcuuguaucu	60	
	auagguaugu gucuguuagg	80	
20	<210> 98		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 98		
	aggcugcccu ggcucaguua ucacagugcu gaugcugucu auucuaaagg uacaguacug	60	
25	ugauaacuga aggauggcag ccaucuuacc uuccaucaga ggagccucac	110	
30	<210> 99		
	<211> 57		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 99		
	ucaguuauc cagugcugau gcuguccauu cuaaagguac aguacuguga uacuga	57	
35	<210> 100		
	<211> 75		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 100		
	ugcccuggcu caguuaucac agugcugaug cugucuauc uaaagguaca guacugugau	60	
	aacugaagga uggca	75	
45	<210> 101		
	<211> 79		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 101		
	acuguccuuu uucgguauc augguaccga ugcuguauau cugaaaggua caguacugug	60	
	auaacugaag aaugguggu	79	
	<210> 102		

ES 2 545 360 T3

	<211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 102		
	uguccuuuuu cgguauc<u>au</u> gguaccg<u>aug</u> cuguau<u>aucu</u> gaaaggu<u>aca</u> guacug<u>ugau</u>	60	
	aacugaagaa uggug	75	
10	<210> 103 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 103		
	cuucuggaag cugguu<u>cac</u> auggugg<u>cuu</u> agauuuu<u>ucc</u> aucu<u>ugua</u> cuagc<u>acc<u>au</u></u>	60	
	uugaaaucag uguuuuagga g	81	
20	<210> 104 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 104		
	cuucaggaag cugguu<u>cau</u> auggugg<u>uuu</u> agauuu<u>aaa</u> agugau<u>uguc</u> uagc<u>acc<u>au</u></u>	60	
25	ugaaaucagu guuc<u>u</u>ggg g	81	
30	<210> 105 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 105		
	uugug<u>cuu</u>uc agcu<u>cu</u>ua cagugc<u>ugcc</u> uuguag<u>cau</u> cagg<u>ca</u>agc aacau<u>gu</u>ac	60	
35	agggcu<u>aug</u>a aaga<u>acca</u>	78	
40	<210> 106 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 106		
	uacug<u>ccc</u>uc ggc<u>u</u>cuua cagugc<u>ugcc</u> uuguug<u>cau</u> uggau<u>ca</u>agc agcau<u>gu</u>ac	60	
	agggcu<u>aug</u>a aggc<u>au</u>g	78	
45	<210> 107 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 107		

ES 2 545 360 T3

	aaaugucaga cagcccaucg acugguguug ccaugagauu caacagucaa caucagucug	60
	auaagcuacc cgacaagg	78
5	<210> 108 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 108	
	ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cucaugcacc acggauguuu	60
10	gagcaugugc uacggugucu a	81
15	<210> 109 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 109	
	ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cuuauugcacc acggauguuu	60
20	gagcaugugc uauggugucu a	81
25	<210> 110 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 110	
	ccuuggccau guaaaagugc uuacagugca gguagcuuuu ugagaucuac ugcaauguaa	60
30	gcacuucuua cauuaccaug g	81
35	<210> 111 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 111	
	ccugccgggg cuaaagugcu gacagugcag auaguggucc ucuccgugcu accgcacugu	60
40	ggguacuugc ugcuccagca gg	82
45	<210> 112 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 112	
	cucucugcuu ucagcuucu uacaguguug ccuugggca uggaguucua gcagcauugu	60
50	acagggcuau caaagcacag a	81
	<210> 113 <211> 90 <212> ARN	

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 113		
	acacugcaag aacaauaagg auuuuuaggg gcauuaugac ugagucagaa aacacagcug	60	
5	ccccugaaaag ucccucuuuu uucuuugcugu	90	
	<210> 114		
	<211> 80		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 114		
	acugcaagag caauaaggau uuuuaggggc auuaugauag uggaauggaa acacaucugc	60	
	ccccaaaagu cccucuuuuu	80	
15			
	<210> 115		
	<211> 85		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 115		
	ccuuagcaga gcuguggagu gugacaaugg uguuuguguc uaaacuauca aacgccauua	60	
	ucacacuaaa uagcuacugc uaggc	85	
25			
	<210> 116		
	<211> 66		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 116		
	agcuguggag ugugacaauug guguuugugu ccaaacuauc aaacgccauu aucacacuaa	60	
	auagcu	66	
35			
	<210> 117		
	<211> 61		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 117		
40			
	acauuuuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uauaaugcg	60	
	c	61	
45			
	<210> 118		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 118		
	aggccucucu cuccguguuc acagcggacc uugauuuaaa uguccauaca auuaaggcac	60	
50	gcggugaauug ccaagaauug ggcug	85	

ES 2 545 360 T3

	<210> 119		
	<211> 110		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 119		
	aucaagauua gaggcucugc ucuccguguu cacagcggac cuugauuuaa ugucauacaa	60	
	uuaaggcacg cggugaaugc caagagcggga gccuacggcu gcacuugaag	110	
10	<210> 120		
	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 120		
	ugagggcccc ucugcguguu cacagcggac cuugauuuaa ugucuauaca auuaaggcac	60	
	gcgguugaaug ccaagagagg cgccucc	87	
20	<210> 121		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 121		
	cucugcgugu ucacagcggga ccuugauuua augucuauac auuaaggcac cgcgguugaau	60	
	gccaaagag	68	
30	<210> 122		
	<211> 67		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 122		
	cucuccgugu ucacagcggga ccuugauuua augucuauaca auuaaggcac gcggugaaug	60	
	ccaagag	67	
40	<210> 123		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 123		
	ugccagucuc uaggucccug agaccuuua accugugagg acauccaggg ucacagguga	60	
	gguucuuagg agccuggcgu cuggcc	86	
50	<210> 124		
	<211> 65		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 124		

	ggucccugag acccuuaac cugugaggac auccaggguc acaggugagg uucuugggag	60
	ccugg	65
5	<210> 125 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 125	
	ugcgcuccuc ucagucccug agaccuaac uugugauguu uaccguuaa auccacgggu	60
10	uaggcucuug ggagcugcga gucgugcu	88
15	<210> 126 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 126	
	accagacuuu uccuagucc ucagaccua acuugugagg uauuuuagua acaucacaag	60
20	ucaggcucuu gggaccuagg cggagggga	89
25	<210> 127 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 127	
	cgcgggcgac gggacauuau uacuuuuggu acgcgcugug acacucaaa cucguaccgu	60
30	gaguaauaau ggcgccucca cggca	85
35	<210> 128 <211> 61 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 128	
	acauuauuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uauuauugcg	60
	c	61
40	<210> 129 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 129	
	ugugaucacu gucuccagcc ugcugaagcu cagagggcuc ugauucagaa agaucaucgg	60
45	auccgucuga gcuuggcugg ucggaagucu caucauc	97
50	<210> 130 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 545 360 T3

	<400> 130		
		ccagccugcu gaagcucaga gggcucugau ucagaaagau caucggaucc gucugagcuu	60
		ggcuggucgg	70
5			
	<210> 131		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 131		
		ugagcuguug gauucggggc cguagcacug ucugagaggu uuacauuucu cacagugaac	60
		cggucucuuu uucagcugcu uc	82
15			
	<210> 132		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20			
	<400> 132		
		gccccgcagc cacugugcag ugggaagggg gggcgauaca cuguacgaga gugaguagca	60
		ggucucacag ugaaccgguc ucuuucccua cugugucaca cuccuaaugg	110
25			
	<210> 133		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 133		
		guuggauucg gggccguagc acugucugag agguuuacau uucucacagu gaaccggucu	60
		cuuuucagc	70
35			
	<210> 134		
	<211> 74		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40			
	<400> 134		
		uggaucuuuu ugccggucugg gcuugcuguu ccucucaaca guagucagga agcccuuacc	60
		ccaaaaagua ucua	74
45			
	<210> 135		
	<211> 90		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50			
	<400> 135		
		ugcccuucgc gaauuuuuu ggggucuggg cuugcuguac auaacucaau agccggaagc	60
		ccuuacccca aaaagcauuu gcgagggcg	90

ES 2 545 360 T3

	<210> 136		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 136		
	ugcugcuggc cagagcucuu uucacauugu gcuacugucu gcaccuguca cuagcagugc	60	
	aauguuaaaa gggcauuggc cguguagug	89	
10	<210> 137		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 137		
	gccaggaggc gggguugguu guuaucuuug guuaucuaagc uguaugagug guguggaguc	60	
	uucauaaagc uagauaaccg aaaguaaaa uaaccccaaua cacugcgcag	110	
20	<210> 138		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 138		
	cacggcgcgg cagcggcacu ggcuaaggga ggcccguuuc ucucuuggu uaucuagcug	60	
	uauagagugcc acagagccgu cauaaagcua gauaaccgaa aguagaaaug	110	
30	<210> 139		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 139		
	guuguuaucu uugguuaucu agcuguauga guguauggu cuucauaaag cuagauaacc	60	
	gaaaguaaaa ac	72	
40	<210> 140		
	<211> 101		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 140		
	ccgccccgc gucuccaggg caaccguggc uuucgauugu uacuguggga acuggaggua	60	
	acagucuaca gccauggucg ccccgagca cggccacgcg c	101	
50	<210> 141		
	<211> 66		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
55	<400> 141		

ES 2 545 360 T3

	gggcaaccgu ggcuuucgau uguuacugug ggaacuggag guaacagucu acagccaugg	60
	ucgccc	66
5	<210> 142 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 142	
	acaaugcuuu gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuucaaug gauuuggucc	60
10	ccuucaccca gcuguagcua ugcauuga	88
15	<210> 143 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 143	
	gggagccaaa ugcuuugcua gagcugguaa aauggaacca aaucgacugu ccaauggauu	60
20	ugguucccuu caaccagcug uagcugugca uugauggcgc cg	102
25	<210> 144 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 144	
	gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuucaaug gauuuggucc ccuucaccca	60
30	gcuguagc	68
35	<210> 145 <211> 119 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 145	
	ccucagaaga aagaugcccc cugcucuggc uggucaaacg gaaccaaguc cgucuuccug	60
40	agagguuugg ucccuucaa ccagcuacag cagggcuggc aaugcccagu ccuuggaga	119
45	<210> 146 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 146	
	gccccugcu cuggcugguc aaacggaacc aaguccgucu uccugagagg uuugguuccc	60
	uucaaccagc uacagcaggg	80
	<210> 147 <211> 73 <212> ARN	

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 147		
	caggguugugu gacugguuga ccagaggggc augcacugug uucaccugu gggccaccua	60	
5	gucaccaacc cuc	73	
	<210> 148		
	<211> 71		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 148		
	aggguugug acugguugac cagaggggca ugcacugugu ucaccugu gggccaccuag	60	
15	ucaccaaccc u	71	
	<210> 149		
	<211> 90		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 149		
	aggccucgcu guucucuag gcuuuuuuu ccuauugau ucuacuguc acucauauag	60	
	ggauuggagc cguggcgcac ggcggggaca	90	
25	<210> 150		
	<211> 100		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 150		
	agauaaauuc acucuagugc uuuauggcuu uuuaauucca ugugauagua auaaagucuc	60	
	auguagggau ggaagccaug aaauacaug ugaazaauca	100	
35	<210> 151		
	<211> 60		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 151		
	cuauggcuu uuauuccuau gugauucua ugcucacuca uauagggau ggagccgugg	60	
	<210> 152		
	<211> 97		
	<212> ARN		
45	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 152		
	cacucugcug uggccuauug cuuuucauuc cuauugauu gcuguccca acucauguag	60	
	ggcuaaaagc caugggcuac agugaggggc gagcucc	97	
50	<210> 153		

ES 2 545 360 T3

	<211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 153		
	ugagcccucg gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc	60	
	aaaugagucu ucagaggguu cu	82	
10	<210> 154 <211> 62 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 154		
	gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc aaaugagucu	60	
	uc	62	
20	<210> 155 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 155		
	cuucggugac ggguaauucu ggguggauaa uacggauuac guuguuuug cuuaagaa	60	
25	cgcgugucg agg	73	
30	<210> 156 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 156		
	cccuggcaug gugugguggg gcagcuggug uugugaauca ggccguugcc aaucagagaa	60	
35	cgguacuuc acaacaccag ggccacacca cacuacagg	99	
40	<210> 157 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 157		
	cguugcugca gcugguguug ugaauccaggc cgacgagcag cgcauccucu uaccggcua	60	
	uuucacgaca ccaggguugc auca	84	
45	<210> 158 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 158		

	cagcuggugu ugugaaucag gccgacgagc agcgcauccu cuuacccggc uauuucacga	60
	caccaggguu g	71
5	<210> 159 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 159	
	guguauucua cagugcacgu gucuccagug uggcucggag gcuggagacg cggcccuguu	60
10	ggaguaac	68
15	<210> 160 <211> 100 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 160	
	ugugucucuc ucuguguccu gccagugguu uuacccuaug guagguuacg ucaugcuguu	60
20	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
	<210> 162 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 162	
	ccugccagug guuuuacccu augguagguu acgucaugcu guucuaccac aggguagaac	60
35	cacggacagg	70
40	<210> 163 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 163	
	cggcccggccc uggguccauc uuccaguaca guguuggaug gucuauugu gaagcuccua	60
45	acacugucug guaaagaugg cucccgggug gguuc	95
	<210> 164 <211> 72	

ES 2 545 360 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 164		
5		ggguccaucu uccaguacag uguuggaugg ucuaauugug aagcuccuaa cacugucugg	60
		uaaagauggc cc	72
	<210> 165		
	<211> 64		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 165		
		acccauaaag uagaaagcac uacuaacagc acuggagggu guaguguuuc cuacuuuug	60
15		gaug	64
	<210> 166		
	<211> 106		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 166		
		gcgcagcgcc cugucucca gccugaggug cagugcugca ucucugguca guugggaguc	60
		ugagaugaag cacuguagcu caggaagaga gaaguuguuc ugcagc	106
25			
	<210> 167		
	<211> 63		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<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		
50		ggcuggggaug ucaucauaua cuguaaguuu gcgaugagac acuacaguau agaugaugua	60
		cuaguc	66

ES 2 545 360 T3

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

ES 2 545 360 T3

	<400> 175		
		gaggcaaaqu ucugagacac uccgacucug aguau gauag aagucagugc acuacagaac	60
		uuugucuc	68
5	<210> 176 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 176		
		caagcacgau uagcauuuga ggugaaguuc uguuauacac ucaggcugug gcucucugaa	60
		agucagugca ucacagaacu uugucucgaa agcuuucua	99
15	<210> 177 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 177		
		aagcacgauu agcauuugag gugaaguucu guuauacacu caggcugugg cucucugaaa	60
		gucagugcau	70
25	<210> 178 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 178		
		gcggggccc gagcucuggc uccgugucuu cacucccgug cuuguccgag gaggagggga	60
30		gggacggggg cugugcuggg gcagcugga	89
35	<210> 179 <211> 53 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 179		
		gcucuggcuc cgugucuuca cucccgugcu uguccgagga gggagggagg gac	53
40	<210> 180 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 180		
		cucuccaugg ccucugucucc caaccuuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg	60
		ccugggggac agggaccugg ggac	84
50	<210> 181 <211> 64 <212> ARN		

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 181		
	cccugucucc caacccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg ccugggggac	60	
5	aggg	64	
	<210> 182		
	<211> 72		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 182		
	uuuccugccc ucgaggagcu cacagucuaug uaugucucau ccccuacuag acugaagcuc	60	
15	cuugaggaca gg	72	
	<210> 183		
	<211> 69		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 183		
	ccuguccuca aggagcucca gucuauguagg ggaugagaca uacuagacug ugagcuccuc	60	
	gagggcagg	69	
25	<210> 184		
	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 184		
	ugucuuuuuu ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucagugc	60	
	augacagaac uugggcccgg aaggacc	87	
35	<210> 185		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 185		
	ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucagugc augacagaac	60	
	uugggccccg g	71	
45	<210> 186		
	<211> 90		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 186		

ES 2 545 360 T3

	cucacagcug ccagugucau uuuugugauc ugcagcuagu auucucacuc caguugcaua	60
	gucacaaaag ugaucuuugg cagguguggc	90
5	<210> 187 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 187	
	ucucucucuc ccucacagcu gccaguguca uugucacaaa agugaucauu ggcaggugug	60
10	gcugcugcau g	71
15	<210> 188 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 188	
	agcgguggcc agugucuuu uugugauguu gcagcuagua auaugagccc aguugcauag	60
20	ucacaaaagu gaucauugga aacugug	87
25	<210> 189 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 189	
	cagugucuuu uuugugaugu ugcagcuagu auaugagccc caguugcaua gucacaaaag	60
30	ugaucuuug	69
35	<210> 190 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 190	
	gugguacuug aagauagguu auccguguug ccuucgcuuu auuugugacg aucauacac	60
40	gguugaccua uuuucagua ccaa	84
45	<210> 191 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 191	
	gaagauaggu uauccguguu gccuucgcuu uuuuugugac gaucuuaca cgguugaccu	60
	auuuuu	66
	<210> 192	

ES 2 545 360 T3

	<211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 192	cuguuaaUGC uaaucgugau agggguuuuu gccuccaacu gacuccuaca uauuagcauu	60
		aacag	65
10	<210> 193 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 193	ccuaacacug ucugguaaag auggcucccg ggugggguucu cucggcagua accuucaggg	60
		agcccuGaag accauggagG ac	82
20	<210> 194 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 194	gccgagaccg agugcacagG gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucuccc	60
25		cucuggcugc caauuccaua ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110
30	<210> 195 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 195	ucccgcccc uGuaacagca acuccaugug gaagugccca cugguuccag uggggcugcu	60
35		guuauCuggg gcgagggcca	80
40	<210> 196 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 196	aaagcugggu ugagagggcg aaaaaggauG aggugacugg ucugggcuac gcuaugcugc	60
45		ggcgcuCggg	70
50	<210> 197 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 197		

ES 2 545 360 T3

	cauuggccuc cuaagccagg gauugugggu ucgaguccca cccgggguaa agaaaggccg	60
	aaau	64
5	<210> 198 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 198	
	ccuaagccag ggauuguggg uucgaguccc accuggggua gaggugaaag uuccuuuuac	60
10	ggaaauuuuuu	70
15	<210> 199 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 199	
	caaugucagc agugccuuag cagcacguaa auauuggcgu uaagauucua aaauuauuc	60
20	caguauuac ugugcugcug aaguaagguu gaccuauuc uacaguug	108
25	<210> 200 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 200	
	gggcuucaa gucacuagug guuccguua guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
30	gccuaguga cuacaaagcc c	81
35	<210> 201 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 201	
	acgcaagugu ccuaagguga gcucagggag cacagaaacc uccaguggaa cagaaggga	60
40	aaagcucauu	70
45	<210> 202 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 202	
	caugugucac uuucaggugg aguuucaaga gucccuuccu gguucaccgu cuccuuugcu	60
50	cuuccacaac	70
	<210> 203 <211> 110 <212> ARN	

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 203		
	agaagggcua ucagggccagc cuucagagga cuccaaggaa cauucaacgc ugucggugag	60	
5	uuugggauuu gaaaaaacca cugaccguug acuguaccuu gggguccua	110	
	<210> 204		
	<211> 110		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 204		
	ccugugcaga gauuuuuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug	60	
15	aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu	110	
	<210> 205		
	<211> 89		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 205		
	cugauggcug cacucaacau ucauugcugu cgguggguuu gagucugaau caacucacug	60	
	aucaaugaa gcaaacugcg gaccaaca	89	
25	<210> 206		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 206		
	cggaaaauu gccaaagguu ugggggaaca uucaaccugu cggugaguuu gggcagcuca	60	
	ggcaaaccu cgaccguuga guggaccug aggccuggaa uugccauccu	110	
35	<210> 207		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 207		
	gagcugcuug ccucccccg uuuuuggcaa ugguaagaacu cacacuggug agguaacagg	60	
	auccgguggu ucuagacuug ccaacuaugg ggcgaggacu cagccggcac	110	
45	<210> 208		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 208		

ES 2 545 360 T3

	uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg auccgguggu ucuagacuug	60
	ccaacuauagg	70
5	<210> 209 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 209	
	ccgcagagug ugacuccugu ucuguguaug gcacugguag aauucacugu gascagucuc	60
10	agucagugaa uuaccgaagg gccauaaaca gagcagagac agauccacga	110
15	<210> 210 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 210	
	ccagucacgu ccccuuauca cuuuuccagc ccagcuuugu gacuguaagu guuggacgga	60
20	gaacugauaa ggguaagguga uuga	84
25	<210> 211 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 211	
	ccuuaucacu uuuccagccc agcuuuguga cuguaagugu uggacggaga acugauaagg	60
30	guagg	65
35	<210> 212 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 212	
	agggggcgag ggaauaggaga gaaaggcagu uccugauggu ccccuccccca ggggcuggcu	60
40	uuccucuggu ccuuccucc ca	82
45	<210> 213 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 213	
	agggauugga gagaaggca guuccugaug guccccucc caggggcugg cuuuccucug	60
50	guccuu	66
	<210> 214 <211> 86 <212> ARN	

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 214		
	ugcuuguaac uuuccaaaga auucucuuu ugggcuuucu gguuuuuuu uaagcccaaa	60	
5	ggugaauuuu uugggaagu ugagcu	86	
	<210> 215		
	<211> 71		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 215		
	acuuuccaaa gaauucuccu uuugggcuuu cugguuuuau uuuaagccca aaggugaauu	60	
	uuuugggaag u	71	
15			
	<210> 216		
	<211> 109		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 216		
	ggucggguc accaugacac agugugagac ucgggcuaca acacaggacc cggggcgug	60	
	cucugacccc ucgugucuug uguugcagcc ggagggacgc agguccgca	109	
25			
	<210> 217		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 217		
	ugcuccucu cucacauccc uugcauggug gagggugagc uuucugaaa cccucccac	60	
	augcaggguu ugcaggaug cgagcc	86	
	<210> 218		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 218		
	ucucacaucc cuugcauggu ggagggugag cuuucugaaa accccuccca caugcagggu	60	
40	uugcagga	68	
	<210> 219		
	<211> 102		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 219		
	cugucgauug gaccggcccu cgggugccua cugagcugau aucaguucuc auuuuacaca	60	
	cuggcucagu ucagcagga caggagucga gcccuugagc aa	102	
50			

ES 2 545 360 T3

	<210> 220		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 220		
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg	60	
	aacaggag	68	
10	<210> 221		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 221		
	ugcaggccuc ugugugauau guuugauaua uuagguuguu auuuaucca acuauauauc	60	
	aaacauauuc cuacaguguc uugcc	85	
20	<210> 222		
	<211> 67		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 222		
	cugugugaua uguuugauau auuagguugu uauuuauucc aacuauauau caaacauauu	60	
	ccuacag	67	
30	<210> 223		
	<211> 92		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 223		
	cggcuggaca gcgggcaacg gaaucccaa agcagcuguu gucuccagag cauuccagcu	60	
35	gcgcuuggau uucguccccc gcucuccugc cu	92	
40	<210> 224		
	<211> 74		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 224		
	agcgggcaac ggaaucccaa aagcagcugu ugucuccaga gcauuccagc ugcgcuugga	60	
	uuucgucccc ugcu	74	
45	<210> 225		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 225		

ES 2 545 360 T3

	ccgagaccga gugcacaggg cucugaccua ugaauugacà gccagugcuc ucgucucucc	60
	ucuggcugcc aauuccauag gucacaggua uguucgccuc aaugccag	108
5	<210> 226 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 226	
	gccgagaccg agugcacaggg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucucucc	60
10	cucuggcugc caauuccaua ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110
15	<210> 227 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 227	
	cgaggauagg agcugagggc ugggucuuug cgggcgagau gagggugucg gaucaacugg	60
20	ccuacaaagu cccaguucuc ggcccccg	88
25	<210> 228 <211> 58 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 228 gcugggucuu ugcgggcgag augagggugu cggaucaacu ggccuacaaa gucccagu 58	
30	<210> 229 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 229 auggguuau caaguguaac agcaacucca uguggacugu guaccaauuu ccaguggaga	60
35	ugcuguuacu uuugaugguu accaa	85
40	<210> 230 <211> 63 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 230	
	guguaacagc aacuccaugu ggacugugua ccaauuucca guggagaugc uguuacuuuu	60
	gau	63
45	<210> 231 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 231	

ES 2 545 360 T3

	agcuucccug gcucuagcag cacagaaaua uuggcacagg gaagcgaguc ugccaauuu	60
	ggcugugcug cuccaggcag gguggug	87
5	<210> 232 <211> 58 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 232 uagcagcaca gaaauauugg cacaggaag cgagucugcc aauauuggcu gucgugcu 58	
15	<210> 233 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 233	
	cuagagcuug aauuggaacu gcugagugaa uuagguaguu ucauguuguu gggccugggu	60
	uucugaacac aacaacauua aaccacccga uucacggcag uuacugcucc	110
20	<210> 234 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 234	
	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc ugguuuucug aacacaacaa cauuaaacca	60
	cccgauucac	70
30	<210> 235 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 235	
	ugcucgcuca gcugaucugu ggcuuaggua guuucauguu guugggauug aguuuuagaac	60
	ucggcaacaa gaacugccu gaguuacauc agucgguuuu cgucgagggc	110
40	<210> 236 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 236	
	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc ugguuuucug aacacaacaa cauuaaacca	60
45	cccgauucac	70
50	<210> 237 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 237	

ES 2 545 360 T3

	acuggucggu gauuuaggua guuuccuguu guugggaucc accuuucucu cgacagcacg	60
	açacugccuu cauuacuua guug	84
5	<210> 238 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 238 ggcugugccg gguagagagg gcagugggag gaaagagcuc uucacccuuc accaccuuc	60
	ccacccagca uggcc	75
15	<210> 239 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 239 gugcaugugu auguaugugu gcaugugcau guguaugugu augagugcau gcguguguc	60
25	<210> 240 <211> 62 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 240 ucauuggucc agaggggaga uagguuccug ugauuuuucc uucuucucua uagaauaaau	60
	ga	62
30	<210> 241 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 241 gccaaacccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac	60
	auugguuagg c	71
40	<210> 242 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 242 aggaagcuuc uggagaucuu gcuccgucgc cccaguguuc agacuaccug uucaggacaa	60
	ugccguugua caguagucug cacauugguu agacugggca agggagagca	110
45	<210> 243 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 243	

ES 2 545 360 T3

	ccagaggaca ccuccacucc gucuaccag uguuuagacu aucuguucag gacucccaaa	60
	uuguacagua gucugcaca ugguuaggcu gggcuggguu agaccucgg	110
5	<210> 244 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 244	
	gccaaaccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac	60
10	auugguuagg c	71
15	<210> 245 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 245	
	gccguggcca ucuuacuggg cagcauugga uggagucagg ucucuaauac ugccugguaa	60
20	ugaugacggc	70
25	<210> 246 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 246	
	ccagcucggg cagccguggc caucuucug ggcagcauug gauggaguca ggucucuaau	60
30	acugccuggu aaugaugacg gggagcccu gcacg	95
35	<210> 247 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 247	
	cccucgucuu acccagcagu guuugggugc gguugggagu cucuaauacu gccggguaau	60
40	gauggagg	68
45	<210> 248 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 248	
	guuccuuuuu ccuaugcaua uacuucuuug aggaucuggc cuaaagaggu auagggcaug	60
50	ggaagaugga gc	72
	<210> 249 <211> 110 <212> ARN	

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 249		
	guguuaggga cucgcgcgc cu ggguccagug guucuuuaca guucaacagu ucuguagcgc	60	
5	aaauugugaaa uguuuaggac cacuagaccc ggcgggfcg gcgacagcga	110	
	<210> 250		
	<211> 110		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 250		
	ggcuacaguc uuucuucaug ugacucgugg acuuccuuu gucauccuau gccugagaau	60	
15	auauagaagga ggcuggggag gcaaaggac guucaauugu caucacuggc	110	
	<210> 251		
	<211> 110		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 251		
	aaagaucuc agacaaucca ugugcuucuc uuguccuua uuccaccgga gucugucuca	60	
	uacccaacca gauuucagug gagugaaguu caggaggcau ggagcugaca	110	
25	<210> 252		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 252		
	ugcuucccga ggccacaugc uuucuuuauau ccccauugg auuacuuugc uauggaaugu	60	
	aaggaagugu gugguuucgg caagug	86	
	<210> 253		
	<211> 69		
35	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 253		
	aggccacaug cuucuuuaua ucccacauug gauuacuuug cuauggaaug uaaggaagug	60	
40	ugugguuuu	69	
	<210> 254		
	<211> 71		
	<212> ARN		
45	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 254		
	ugacgggcga gcuuuuggcc cggguuauac cugaugcuca cguauaagac gagcaaaaag	60	
	cuuguuguc a	71	

ES 2 545 360 T3

<210> 255
 <211> 110
 <212> ARN
 5 <213> *Homo sapiens*

 <400> 255

accgggcagu gccuccagge gcagggcage cccugcccac cgcacacugc gcugccccag 60
accacugug cgugugacag cggcugaucu gugccugggc agcgcgaccc 110
 10
 <210> 256
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 256

ucaccuggcc augugacuug ugggcuuccc uuugucaucc uucgccuagg gcucugagca 60
gggcagggac agcaaagggg ugcucaguug ucacuuccca cagcacggag 110
 20
 <210> 257
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <400> 257

cggggcacc cgcgggaca gcgcgccggc accuuggcuc uagacugcuu acugcccggg 60
ccgcccucag uaacagucuc cagucacggc caccgacgcc uggccccgcc 110
 30
 <210> 258
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 258

ccugugcaga gauuuuuuu uaaaagguca caaucaacu ucauugcugu cgguggguug 60
aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu 110
 40
 <210> 259
 <211> 108
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 259

gaguuuugag guugcuucag ugaacauuca acgcugucgg ugaguuugga auuuuuuauca 60
aaaccaucga ccguugauug uaccuauugg cuaaccauca ucuacucc 108
 45
 <210> 260
 <211> 110
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*
 <400> 260

	ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc	60
	gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu	110
5	<210> 261 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 261	
	aucuuçcaga aaugguauac aggsaaauga ccuaugaauu gacagacaau auagcugagu	60
	uugucuguca uuucuuuagg ccaauauucu guaugacugu gcuaucucaa	110
15	<210> 262 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 262	
	gauggcugug aguuggcuua aucucagcug gcaacuguga gauguucaua caaucccuca	60
	caguggucuc ugggaaauag cuaaacagag caauuuccua gccucacga	110
25	<210> 263 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 263	
	aguauaaaua uuacauagu uugaugucg cagauacugc aucaggaacu gauuggauaa	60
	gaucaguca ccaucaguuc cuaaugcauu gccuucagca ucuaaacaag	110
35	<210> 264 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 264	
	gugauaaugu agcgagauuu ucuguuguc uugaucuaac caugugguug cgagguauga	60
	guaaaacaug guuccgucaa gcaccaugga acgucacgca gcuuucuaca	110
45	<210> 265 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 265	
	gaccagucgc ugcggggcuu uccuuuguc uugaucuaac cauguggugg aacgauggaa	60
	acggaacaug guucugucua gcaccgcgga aagcaccgug cucuccugca	110
	<210> 266	

ES 2 545 360 T3

<211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

5 <400> 266

ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuaa ggcuccggcc 60
gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gcccccaaac cucgagcggg 110

<210> 267
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10

15 <400> 267

ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuaa ggcuccggcc 60
gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gcccccaaac cucgagcggg 110

<210> 268
 <211> 97
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 268

acucaggggc uucgccacug auuguccaaa cgcaauucuu guacgagucu gcggccaaac 60
gagaauugug gcuggacauc uguggcugag cuccggg 97

25

<210> 269
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 269

gacagugugg cauuguaggg cuccacaccg uaucugacac uuugggcgag ggcaccaugc 60
ugaagguguu caugaugcgg ucugggaacu ccucacggau cuuacugaug 110

35

<210> 270
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 270

ugaacaucca ggucuggggc augaaccugg cauacaaugu agauuucugu guucguuagg 60
caacagcuac auugucugcu ggguuucagg cuaccuggaa acauguucuc 110

45

<210> 271
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 271

ES 2 545 360 T3

	gcugcuggaa gguguaggua cccucaaugg cucaguagcc aguguagauc cugucuuucg	60
	uaaucagcag cuacaucugg cuacuggguc ucugauggca ucuucuagcu	110
5	<210> 272 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 272	
	ccuggccucc ugcagugcca cgcuccgugu auuugacaag cugaguugga cacuccaugu	60
	gguagagugu caguuuugca aauaccccaa gugcggcaca ugcuuaccag	110
15	<210> 273 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 273	
	gggcuuucaa gucacuagug guuccguuua guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
20	gcccuauguga cuacaaagcc c	81
25	<210> 274 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 274 caaucuuccu uuaucauggu auugauuuuu cagugcuucc cuuuugugug agagaagaua	60
30	<210> 275 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 275	
	aggaccuuc cagagggccc cccucaauc cuguugugcc uaauucagag gguugggugg	60
	aggcucuccu gaagggcucu	80
40	<210> 276 <211> 63 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 276	
	aagaaauggu uuaccguccc acauacauuu ugaauaugua uguggggaugg uaaaccgcuu	60
45	cuu	63
50	<210> 277 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 277	

	acugcuaacg aaugcucuga cuuuauugca cuacuguacu uuacagcuag cagugcaaua	60
	guauugucaa agcaucugaa agcagg	86
5	<210> 278 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 278	
	ccaccacuua aacguggaug uacuugcuuu gaaacuaaag aaguaagugc uuccauguuu	60
10	uggugaugg	69
15	<210> 279 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 279	
	gcucccuuca acuuuaacau ggaagugcuu ucugugacuu uaaaaguaag ugcuuccaug	60
20	uuuuaguagg agu	73
25	<210> 280 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 280	
	ccuuugcuuu aacauggggg uaccugcugu gugaaacaaa aaguaagugc uuccauguuu	60
30	aguggagg	68
35	<210> 281 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 281	
	ccucuacuuu aacauggagg cacuugcugu gacaugacaa aaauaagugc uuccauguuu	60
40	gagugugg	68
45	<210> 282 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 282	
	gcuucgcucc ccuccgccuu cucuucccgg uucuuucccg agucgggaaa agcuggguug	60
50	agagggcgaa aaaggauag gu	82
	<210> 283 <211> 59 <212> ARN	

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 283		
5	uuggccuccu aagccagggga uuguggguuc gagucccacc cgggguaaag aaaggccga 59		
	<210> 284		
	<211> 86		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 284		
	uugguacuug gagagaggug guccguggcg cguucgcuu auuuauggcg cacauuacac	60	
	ggucgaccuc uuugcaguau cuaauc	86	
15	<210> 285		
	<211> 83		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 285		
	cugacuauugc cuccccgc au ccccuagggc auugguguaa agcuggagac ccaucgcccc	60	
	aggugcugcu ggggguuugua guc	83	
25	<210> 286		
	<211> 98		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 286		
	auacagugcu ugguuccuag uaggugucca guaaguguuu gugacauaau uuguuuauug	60	
	aggaccuccu aucaaucaag cacugugcua ggcucugg	98	
35	<210> 287		
	<211> 95		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 287		
	cucaucuguc uguugggucg gaggcagggc cuuugugaag ggggguggug cucagaucgc	60	
	cucugggccc uuucccagc cccgagggcg auuca	95	
45	<210> 288		
	<211> 75		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 288		
	uggagugggg gggcaggagg ggcucagggg gaaagugcau acagccccug gccucucug	60	
	cccuuccguc ccucug	75	
	<210> 289		
	<211> 94		

ES 2 545 360 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 289	uuuuggcgau cacugccucu cugggccugu gucuuaggcu cugcaagauc aaccgagcaa	60
		agcacacggc cugcagagag gcagcgcucu gccc	94
10	<210> 290 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 290	gaguuuugguu uuguuuugggu uuguucuagg uaugguccca gggauccag aucaaaccag	60
15		gccccugggc cuauccuaga accaaccuaa gcuc	94
20	<210> 291 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 291	uguuuugagc gggggucaag agcauaacg aaaaauguuu gucauaaacc guuuuucuu	60
25		auugcuccug accuccucuc auuugcuaua uuca	94
30	<210> 292 <211> 93 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 292	guagucagua guugggggggu gggaaacggcu ucauacagga guugaugcac aguuauccag	60
		cuccuauaug augccuuucu ucaucccuu caa	93
35	<210> 293 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 293	ucuccaaca uauccuggug cugagugaug acucaggcga succagcauc agugauuuug	60
		uuqaaga	67
45	<210> 294 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 294		

ES 2 545 360 T3

	cggggcgggcc gcucuccug uccuccagga gcucacgugu gccugccugu gagcgccug	60
	acgacagagc cggcgccugc cccagugucu gcgc	94
5	<210> 295 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 295	
	uuguaccugg ugugauuaa aagcaaugag acugauuguc auaugucguu ugugggaucc	60
10	gucucaguua cuuuauagcc auaccuggua ucuua	95
15	<210> 296 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 296	
	gaaacugggc ucaaggugag gggugcuauc ugugauugag ggacaugguu aauggaaug	60
20	ucucãcãcag aaauccacc 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 ugcucugaaç gaggcagggg cugggccugc	60
40	agcugccugg gcagagcggc uccugc	86
45	<210> 299 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 299	
	ccauuacugu ugcuaauaug caacucuguu gaauauaaa uggaaugca cuuagcaau	60
50	ggugaugg	68
	<210> 300 <211> 66 <212> ARN	

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 300		
	aaaaggugga uauccuucu auguuuugu uuuuuuggu uaaacauaga ggaaaucca	60	
5	cguuuu	66	
	<210> 301		
	<211> 70		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 301		
	uugaagggag aucgaccgug uuauuuucgc uuuuuugacu 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 aaagugccc caucuuuuga	60	
	guguuac	67	
35			
	<210> 304		
	<211> 67		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 304		
	gugggccuca aauguggagc acuuuucuga uguccaagug gaaagugcug cgacuuuga	60	
	gcgucac	67	
45			
	<210> 305		
	<211> 69		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 305		

ES 2 545 360 T3

	gggauacuca aaaugggggc gcuuuccuuu uuugucuguac ugggaagugc uucgauuuug	60
	gggugucce	69
5	<210> 306 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 306	
	uacaucggcc auuauaauc aaccugauaa guguuauagc acuuaucaga uuquauugua	60
10	auugucugug ua	72
15	<210> 307 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 307	
	auggagcugc ucacccugug ggccucaaau guggaggaac uauucugaug uccaagugga	60
20	aagugcugcg acuuugagc gucacccgug acgcccuuu ca	102
25	<210> 308 <211> 101 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 308	
	gcaucccuc agccuguggc acucaaaucg ugggggcacu uucugcucuc uggugaaagu	60
30	gcccacauu uuugaguguu accgcuugag aagacucaac c	101
35	<210> 309 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 309	
	cgaggagcuc auacugggau acucaaaaug gggggcguu cccuuuuguc uguuacuggg	60
40	aagugcuucg auuuuggggu gucccuguuu gaguagggca uc	102
45	<210> 310 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 310 ugagguagua gguuguauag uu 22	
50	<210> 311 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 311	

	ugagguagua gguugugugg uu	22
5	<210> 312 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 312 ugagguagua gguuguaugg uu	22
15	<210> 313 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 313 agagguagua gguugcauag u	21
25	<210> 314 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 314 ugagguagga gguuguauag u	21
35	<210> 315 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 315 ugagguagua gauuguauag uu	22
45	<210> 316 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 316 ugagguagua guuuguacag u	21
55	<210> 317 <211> 19 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 317 ugagguagua guuugugcu	19
65	<210> 318 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
70	<400> 318 uggaauaгаа agaaguaugu a	21
75	<210> 319 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
80	<400> 319 uggaagacia gugauuuugu u	21

<210> 320
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 320
 ucuuuugguuu ucuagcugua uga 23
 10
 <210> 321
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 321
 uaaagcuaga uaaccgaaag u 21
 20
 <210> 322
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 322
 uaccuguag auccgaauuu gug 23
 25
 <210> 323
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30
 <400> 323
 uaccuguag aaccgaauuu gu 22
 35
 <210> 324
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 324
 uagcagcaca uaaugguuug ug 22
 40
 <210> 325
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 325
 uagcagcaca ucaugguuuu ca 22
 50
 <210> 326
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 55
 <400> 326
 uagcagcacg uaaaauuugg cg 22
 60
 <210> 327
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 327
 caaagugcuu acagugcagg uagu 24
 65
 <210> 328
 <211> 20

ES 2 545 360 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 328 acugcaguga aggcacuugu	20
10	<210> 329 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 329 uaaggugcau cuagucaga ua	22
20	<210> 330 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 330 ugugcaaauc uaugcaaac uga	23
30	<210> 331 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 331 ugugcaaauc caugcaaac uga	23
40	<210> 332 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 332 uaagugcuu auagucagg ua	22
50	<210> 333 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 333 uagcuuauca gacugauguu ga	22
60	<210> 334 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 334 aagcugccag uugaagaacu gu	22
	<210> 335 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 335 aucacauugc cagggauuuc c	21
	<210> 336 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 545 360 T3

	<400> 336 aucacauugc cagggauuac cac	23
5	<210> 337 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 337 uggcucaguu cagcaggaac ag	22
15	<210> 338 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 338 cauugcacuu gucucggucu ga	22
25	<210> 339 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 339 uucaaguaau ccaggauagg cu	22
35	<210> 340 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 340 uucaaguaau ucaggauagg u	21
45	<210> 341 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 341 uucacagugg cuaaguuccg cc	22
55	<210> 342 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 342 uucacagugg cuaaguucug	20
65	<210> 343 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
70	<400> 343 aaggagcuca cagucuauug ag	22
75	<210> 344 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
80	<400> 344 cuagcaccu cugaaucgg uu	22

ES 2 545 360 T3

<210> 345
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 345
 uagcaccauu ugaaucagu 20
 <210> 346
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 10
 <400> 346
 uagcaccauu ugaaucggu ua 22
 <210> 347
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 20
 <400> 347
 uguaaacauc cucgacugga agc 23
 <210> 348
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <400> 348
 cuuucagucg 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
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 350
 uguaaacauc cuacacucuc agc 23
 <210> 351
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40
 <400> 351
 uguaaacauc cccgacugga ag 22
 <210> 352
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 352
 uguaaacauc cuugacugga 20
 <210> 353
 <211> 21

ES 2 545 360 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 353 ggcaagaugc uggcauagcu g	21
10	<210> 354 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 354 uauugcacau uacuaaguug c	21
20	<210> 355 <211> 19 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 355 gugcauugua guugcauug	19
30	<210> 356 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 356 uggcaguguc uuagcugguu gu	22
40	<210> 357 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 357 aggcaguguc auuagcugau ug	22
50	<210> 358 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 358 aggcagugua guuagcugau ug	22
60	<210> 359 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 359 uauugcacuu gucccggccu gu	22
	<210> 360 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 360 aaagugcugu ucgugcaggu ag	22
	<210> 361 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 545 360 T3

	<400> 361 uucaacgggu auuuauugag ca	22
5	<210> 362 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 362 uuuggcacua gcacauuuuu gc	22
15	<210> 363 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 363 ugagguagua aguuguauug uu	22
25	<210> 364 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 364 aaccguaga uccgaucuug ug	22
35	<210> 365 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 365 caccguaga accgaccuug cg	22
45	<210> 366 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 366 uacaguacug ugauaacuga ag	22
55	<210> 367 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 367 uacaguacug ugauaacuga ag	22
65	<210> 368 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 368 agcagcauug uacagggcua uga	23
70	<210> 369 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
75	<400> 369 ucaaauugcuc agacuccugu	20

ES 2 545 360 T3

<210> 370
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 370
 aaaagugcuu acagugcagg uagc 24
 10
 <210> 371
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 371
 uaaagugcug acagucaga u 21
 20
 <210> 372
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 372
 agcagcauug uacagggcua uca 23
 25
 <210> 373
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30
 <400> 373
 uggaguguga caaugguguu ugu 23
 35
 <210> 374
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 374
 uuaaggcacg cggugaaugc ca 22
 40
 <210> 375
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 375
 ucccugagac ccuuuaaccu gug 23
 50
 <210> 376
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 55
 <400> 376
 ucccugagac ccuaacuugu ga 22
 60
 <210> 377
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 377
 cauuaauacu uuugguacgc g 21
 65
 <210> 378
 <211> 21

ES 2 545 360 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 378 ucguaccgug aguaauaaug c	21
10	<210> 379 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 379 ucggauccgu cugagcuugg cu	22
20	<210> 380 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 380 ucacagugaa ccggucucuu uu	22
30	<210> 381 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 381 ucacagugaa ccggucucuu uc	22
40	<210> 382 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 382 cuuuuugcgg ucugggcuug c	21
50	<210> 383 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 383 cagugcaaug uuaaaagggc	20
60	<210> 384 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 384 cagugcaaug augaaagggc au	22
	<210> 385 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 385 uaacagucua cagccauggu cg	22
	<210> 386 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 545 360 T3

<400> 386
 uugguccccu ucaaccagcu gu 22

5 <210> 387
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 387
 uugguccccu ucaaccagcu a 21

15 <210> 388
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 388
 ugugacuggu ugaccagagg g 21

25 <210> 389
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 389
 uauggcuuuu uauuccuaug uga 23

35 <210> 390
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 390
 uauggcuuuu cauuccuaug ug 22

45 <210> 391
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 391
 acuccauuug uuuugaugau gga 23

55 <210> 392
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 392
 uauugcuuaa gaauacgcgu ag 22

65 <210> 393
 <211> 17
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

70 <400> 393
 agcugguguu gugaauc 17

75 <210> 394
 <211> 18
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

80 <400> 394
 ucuacagugc acgugucu 18

ES 2 545 360 T3

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

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 403 guguguggaa augcuucugc	20
	<210> 404 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 404 ucagugcacu acagaacuuu gu	22
15	<210> 405 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 405 ucagugcauc acagaacuuu gu	22
25	<210> 406 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 406 ucuggcuccg ugucuucacu cc	22
35	<210> 407 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 407 ucucccaacc cuuguaccag ug	22
45	<210> 408 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 408 acuagacuga agcuccuuga gg	22
55	<210> 409 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 409 ucagugcaug acagaacuug g	21
65	<210> 410 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 410 uugcauaguc acaaaguga	20
	<210> 411 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 545 360 T3

	<400> 411 uagguuaucc guguugccuu cg	22
5	<210> 412 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 412 aaucauacac gguugaccua uu	22
15	<210> 413 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 413 uuaaugcuaa ucgugauagg gg	22
25	<210> 414 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 414 aacauucaac gcugucggug agu	23
35	<210> 415 <211> 24 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 415 aacauucauu gcugucggug gguu	24
45	<210> 416 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 416 aacauucaac cugucgguga gu	22
55	<210> 417 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 417 uuuggcaaug guagaacuca ca	22
65	<210> 418 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
70	<400> 418 ugguucuaga cuugccaacu a	21
75	<210> 419 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
80	<400> 419 uauggcacug guagaauuca cug	23

ES 2 545 360 T3

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

ES 2 545 360 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 428 cugaccuaug aauugacagc c	21
	<210> 429 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 429 aacuggccua caaaguccca g	21
15	<210> 430 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 430 uguaacagca acuccaugug ga	22
25	<210> 431 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 431 uagcagcaca gaaauauugg c	21
	<210> 432 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 432 uagguaguuu cauguuguug g	21
40	<210> 433 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 433 uagguaguuu ccuguuguug g	21
	<210> 434 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 434 uucaccaccu ucuccacca gc	22
55	<210> 435 <211> 19 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 435 gguccagagg ggagauagg	19
	<210> 436 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65		

	<400> 436 cccaguguuc agacuaccug uuc	23
5	<210> 437 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 437 uacaguaguc ugcacauugg uu	22
15	<210> 438 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 438 cccaguguuu agacuaucug uuc	23
25	<210> 439 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 439 uaacacuguc ugguaacgau gu	22
35	<210> 440 <211> 24 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 440 cucuaauacu gccugguaau gaug	24
45	<210> 441 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 441 aauacugccg gguaaugaug ga	22
55	<210> 442 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 442 agagguauag ggcaugggaa ga	22
65	<210> 443 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
70	<400> 443 gugaaauguu uaggaccacu ag	22
75	<210> 444 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
80	<400> 444 uucccuugu cauccaugc cu	22

ES 2 545 360 T3

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

ES 2 545 360 T3

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 5 <400> 453
 augaccuaug aauugacaga c 21

 10 <210> 454
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 15 <400> 454
 uaaucucagc uggcaacugu g 21

 20 <210> 455
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 25 <400> 455
 uacugcauca ggaacugauu ggau 24

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

 30 <400> 456
 uugugcuuga ucuaaccaug u 21

 35 <210> 457
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 40 <400> 457
 ugauugucca aacgcaauuc u 21
 <210> 458
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 45 <400> 458
 ccacaccgua ucugacacuu u 21

 50 <210> 459
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 459
 agcuacauug ucugcugggu uuc 23

 55 <210> 460
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 60 <400> 460
 agcuacaucu ggcuaucuggg ucuc 24

 65 <210> 461
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

	<400> 461 ugucaguuug ucaaaauaccc c	21
5	<210> 462 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 462 caagucacua gugguuccgu uua	23
15	<210> 463 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 463 agggccccc cucauuccug u	21
25	<210> 464 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 464 ugguuuaccg ucccacauac au	22
35	<210> 465 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 465 cagugcaaua guauugucaa agc	23
45	<210> 466 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 466 uaagugcuuc cauguuuugg uga	23
55	<210> 467 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 467 acuuuaacau ggaagugcuu ucu	23
65	<210> 468 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 468 uaagugcuuc cauguuuuag uag	23
	<210> 469 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 469 uuuaacaugg gguaccugc ug	22

ES 2 545 360 T3

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

ES 2 545 360 T3

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

ES 2 545 360 T3

<400> 486
 uccgucucag uuacuuuaua gcc 23

5 <210> 487
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 487
 ucucacacag aaaucgcacc cguc 24

15 <210> 488
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 488
 ugcugacucc uaguccaggg e 21

25 <210> 489
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 489
 ugucugcccg caugccugcc ucu 23

35 <210> 490
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 490
 aauugcacuu uagcaauggu ga 22

45 <210> 491
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 491
 acauagagga aauccacgu uu 22

55 <210> 492
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 492
 aaauaacau gguugaucuu u 21

65 <210> 493
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 493
 gccugcuggg guggaaccug g 21

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

<400> 494

ES 2 545 360 T3

gugccgccau cuuuugagug u 21
 <210> 495
 <211> 23
 5 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 495
 aaagugcugc gacauuugag cgu 23
 10 <210> 496
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 496
 acucaaaaug ggggcgcuu cc 22
 <210> 497
 20 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 497
 25 gaagugcuuc gauuuugggg ugu 23
 <210> 498
 <211> 22
 <212> ARN
 30 <213> *Homo sapiens*
 <400> 498
 uuauaaauaca accugauaag ug 22
 35

REIVINDICACIONES

1. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer de colon, de páncreas o de estómago, que comprende:

5 medir el nivel de al menos un primer producto génico de miR-24-2 en una muestra de tejido de colon, de páncreas o de estómago del sujeto, en el que una alteración en el nivel del primer producto génico de miR-24-2 en la muestra, en relación con el nivel del primer producto génico de miR-24-2 en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene cáncer de colon, de páncreas o de próstata.

10 2. El método de la reivindicación 1, en el que un aumento en el nivel del primer producto génico de miR-24-2 se usa para diagnosticar cáncer de colon.

15 3. El método de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el primer producto génico de miR y al menos un producto génico de miR adicional se usan para diagnosticar cáncer de colon, seleccionándose el al menos un producto génico de miR adicional del grupo que consiste en:

20 miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-24-1, miR-155, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-30c, miR-221, miR-106a, miR-10a, miR-203, miR-126*, miR-24-2, miR-99b prec, miR-213, miR-150, miR-9-3 y combinaciones de los mismos.

4. El método de la reivindicación 1, en el que un aumento en el nivel del primer producto génico de miR-24-2 se usa para diagnosticar cáncer pancreático.

25 5. El método de las reivindicaciones 1 o 4, en el que el primer producto génico de miR y al menos un producto génico de miR adicional se usan para diagnosticar cáncer pancreático, seleccionándose el al menos un producto génico de miR adicional del grupo que consiste en:

30 miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-146, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a, miR-103-2, miR-103-1, miR-100, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-23a, miR-26a-1, miR-125a, miR-130a, miR-26b, miR-145, miR-126*, miR-16-2, miR-99b, miR-155, miR-29a, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-29c, miR-30b, miR-129-1/2, miR-197, miR-7-1, miR-93-1, miR-140, miR-30a-5p, miR-132, miR-152 prec, miR-23b, miR-222, miR-27a, miR-92-1, miR-129-1/2 prec, miR-150, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos.

35 6. El método de la reivindicación 1, en el que un aumento en el nivel del primer producto génico de miR-24-2 se usa para diagnosticar cáncer de estómago.

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

45 miR-21, miR-191, miR-223, miR-24-1, miR-107, miR-92-2, miR-214, miR-25 and miR-221, miR-218-2, miR-103-2, miR-136, miR-125b-2, miR-103-1, miR-222, miR-212 prec, miR-125b-1, miR-100, miR-92-1, miR-96, miR-192, miR-23a, miR-215, miR-7-2, miR-138-2, miR-99b, miR-33b y combinaciones de los mismos.

8. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer de colon, de páncreas o de estómago de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la medición del nivel del al menos un producto génico de miR-24-2 comprende:

50 (1) transcribir de forma inversa:

al menos ARN de miR-24-2 de la muestra obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de miR-24-2; y

55 (2) hibridar:

el al menos un oligodesoxinucleótido diana de ARN de miR-24-2 con una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN que incluyen al menos un oligonucleótido sonda específico de ARN de miR-24-2 para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra;

60 y en el que la determinación de si hay una alteración en el nivel del primer producto génico de miR-24-2 en la muestra, en relación con el nivel del primer producto génico de miR-24-2 en una muestra de control comprende:

(3) comparar:

65 el perfil de hibridación de la muestra con un perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control,

en donde una alteración en la señal de miR-24-2 es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer de colon, de páncreas o de estómago.

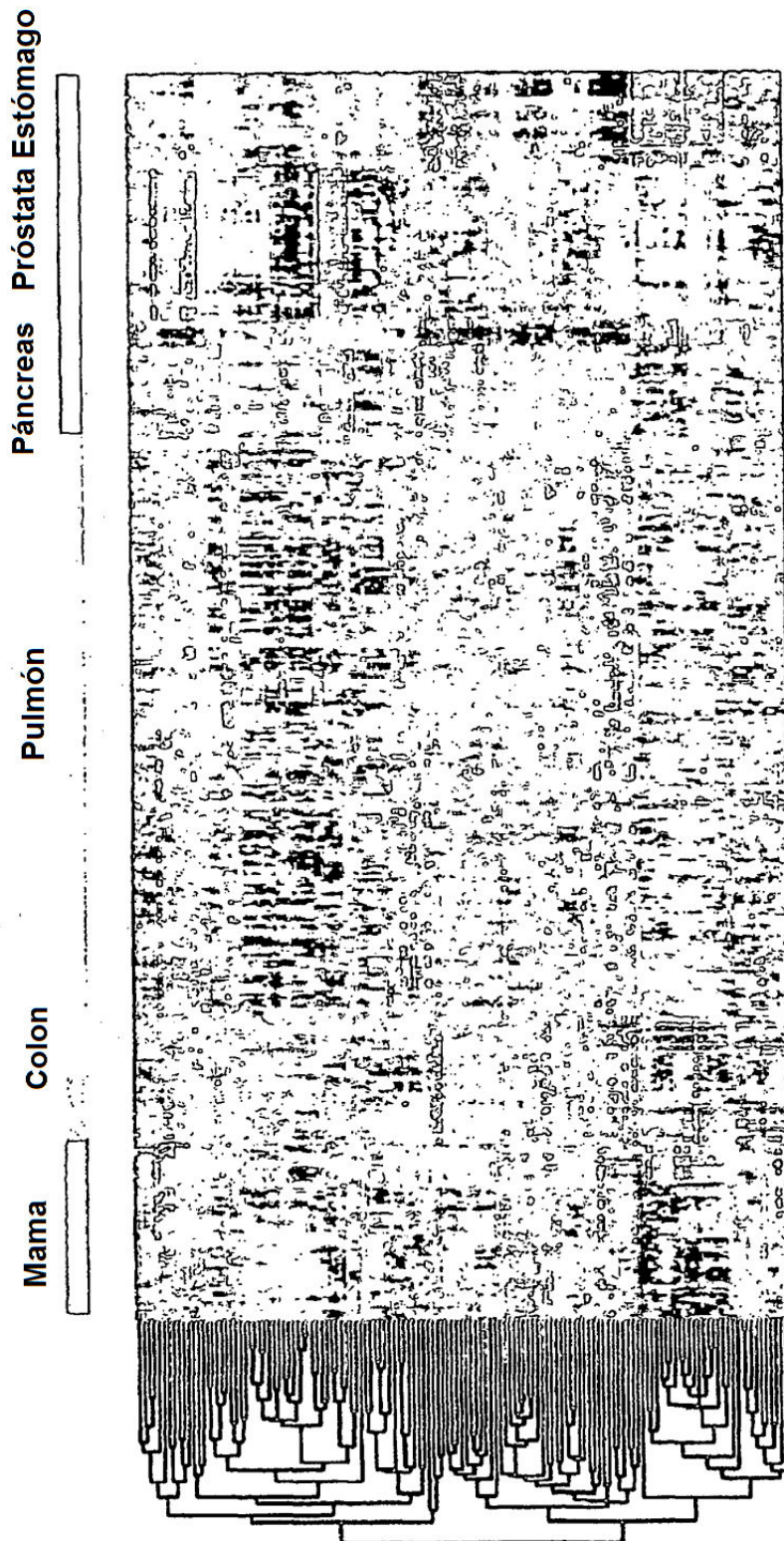


FIG. 1

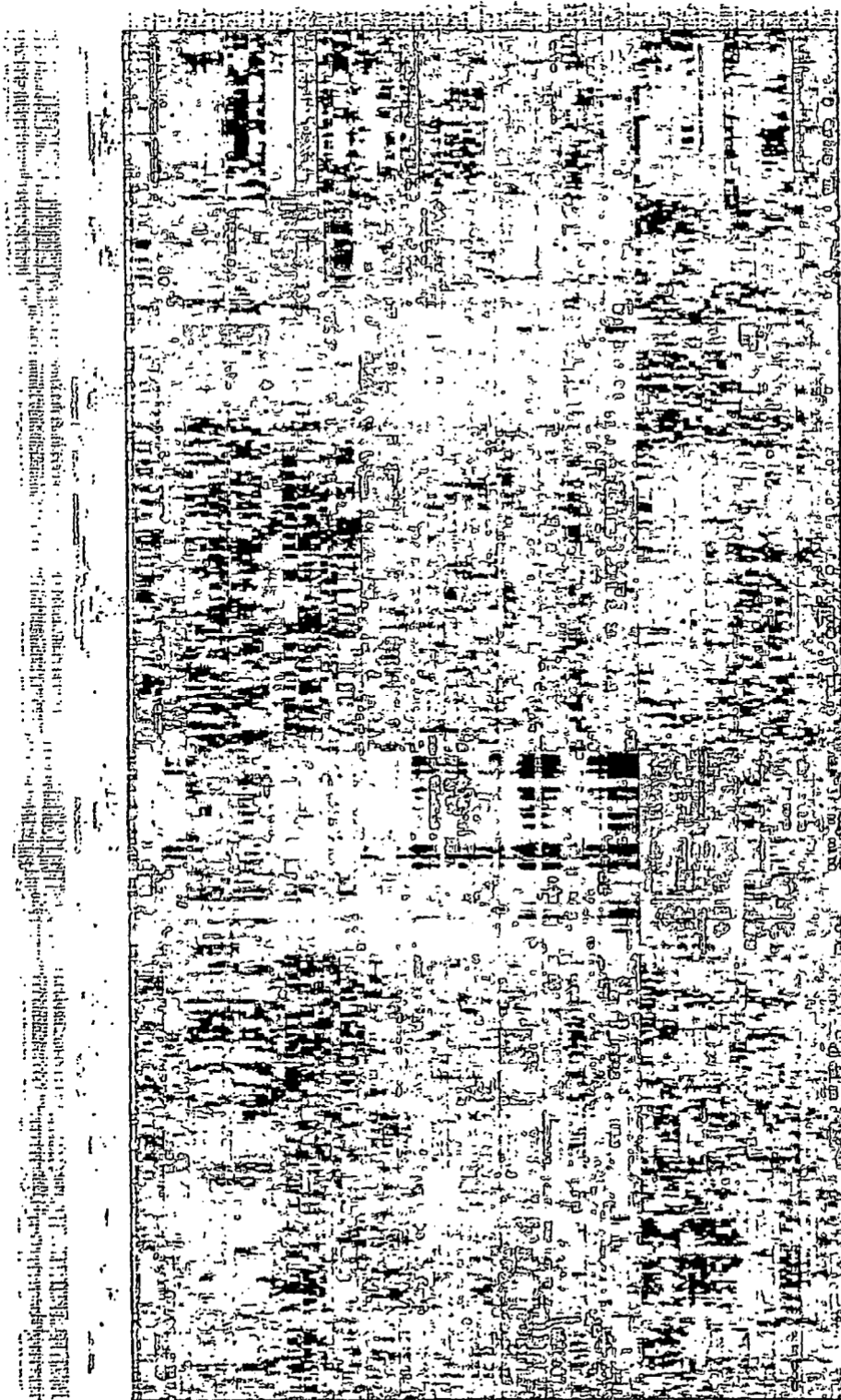


FIG. 2

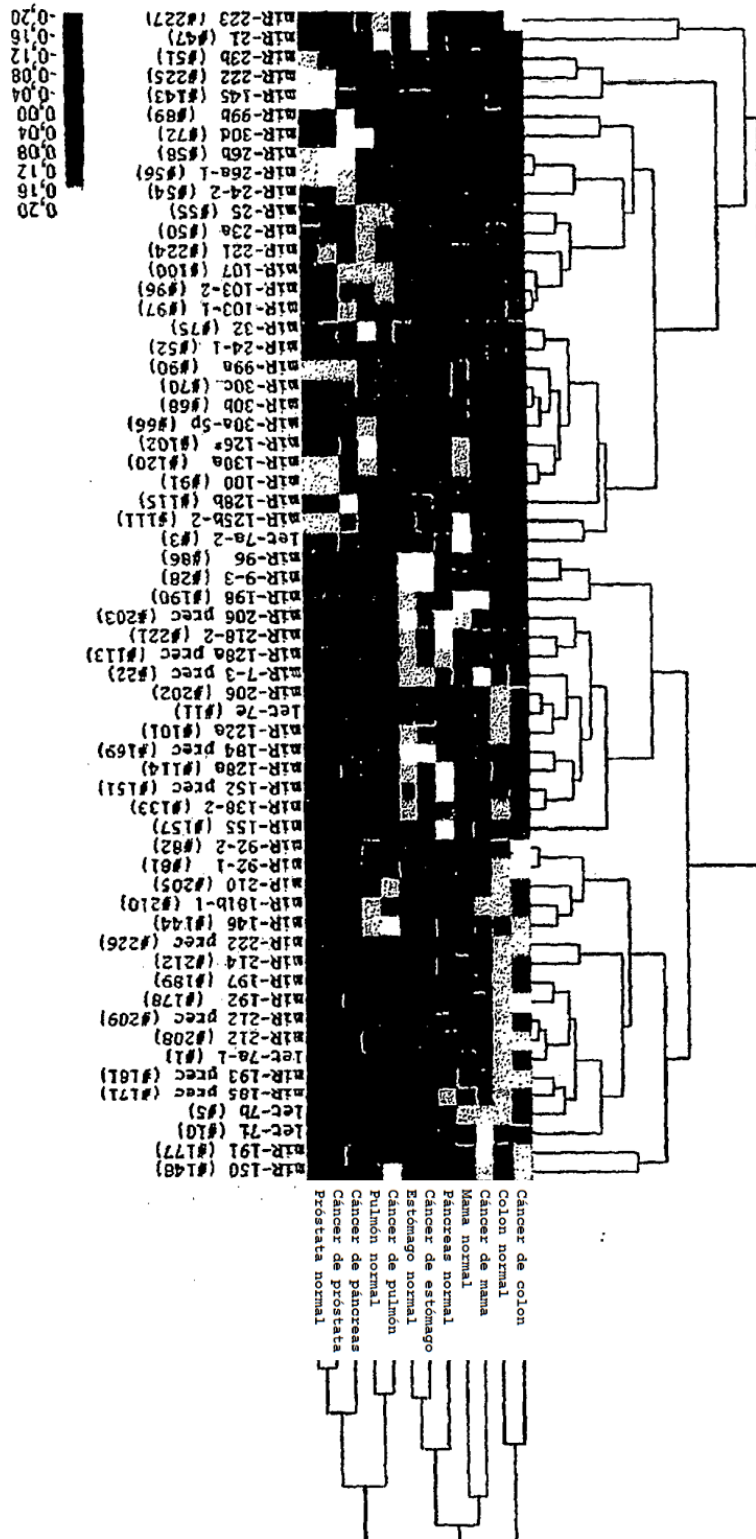


FIG. 3

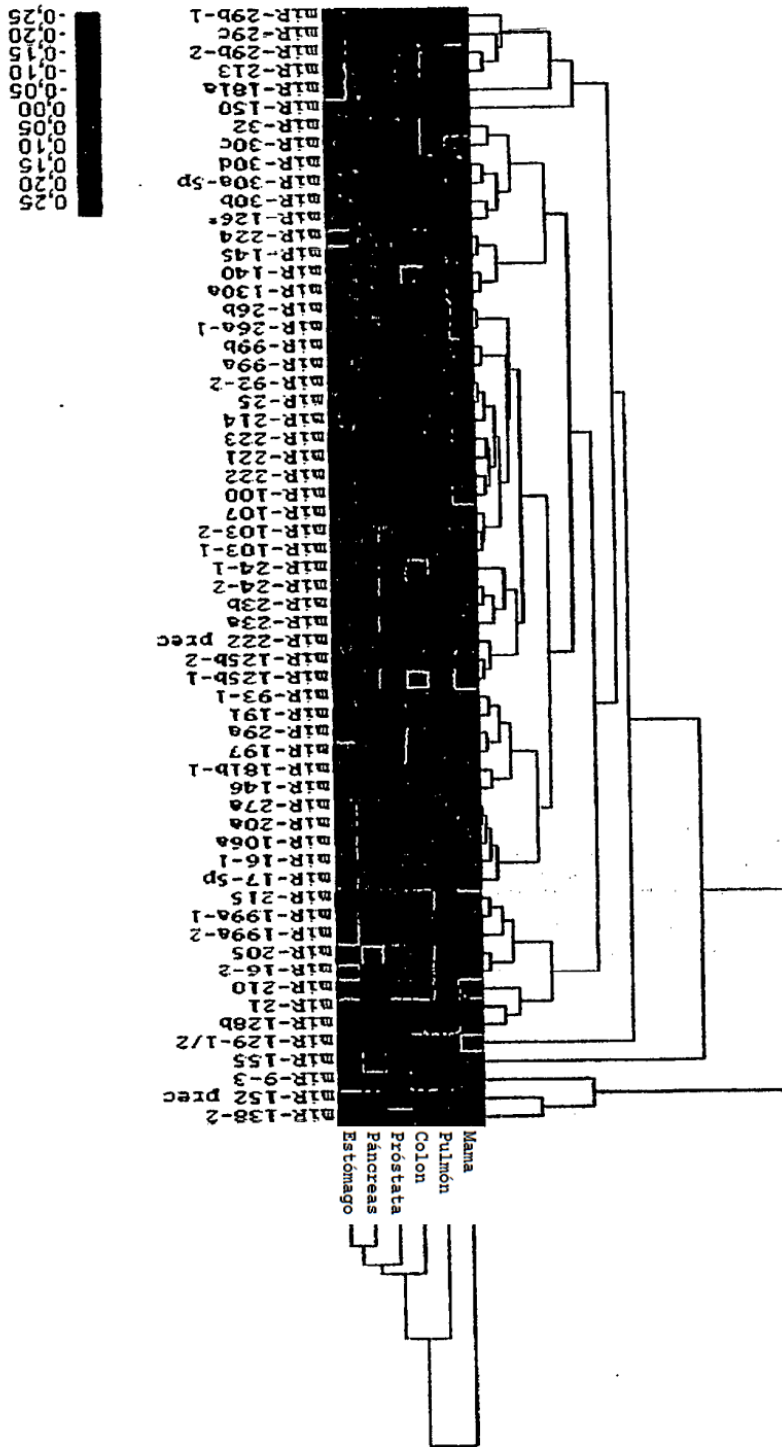


FIG. 4

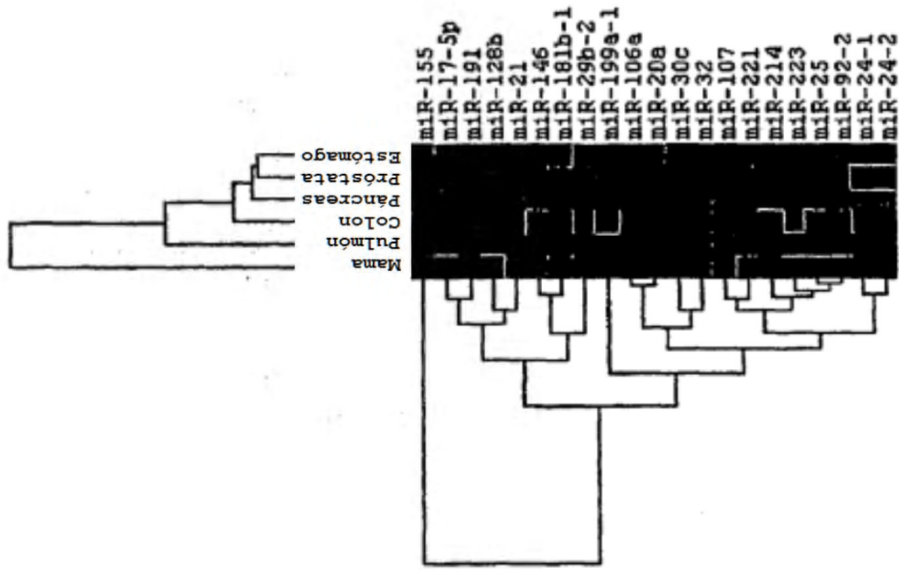


FIG. 5

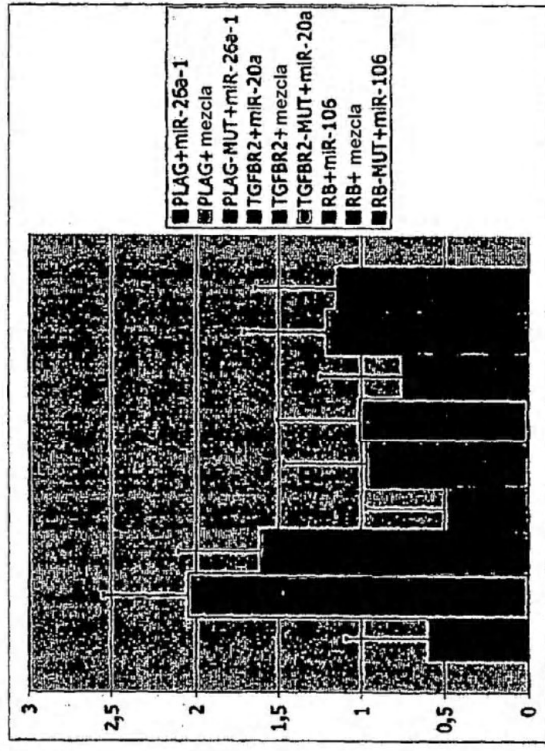
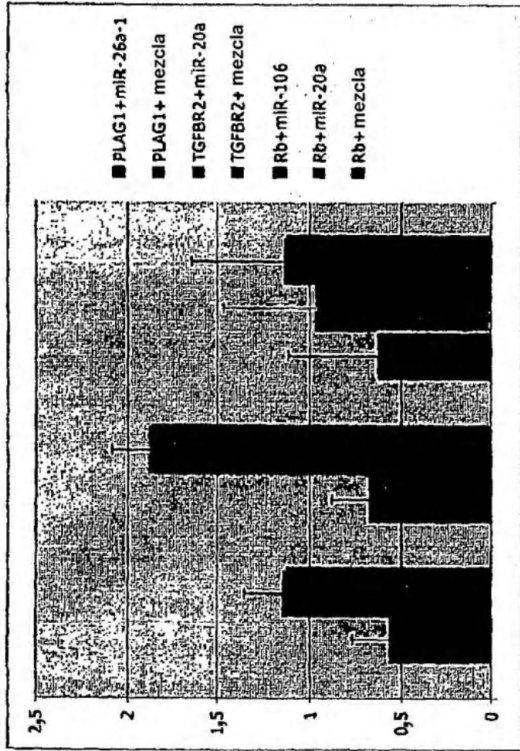


FIG. 6A



FIG. 6B

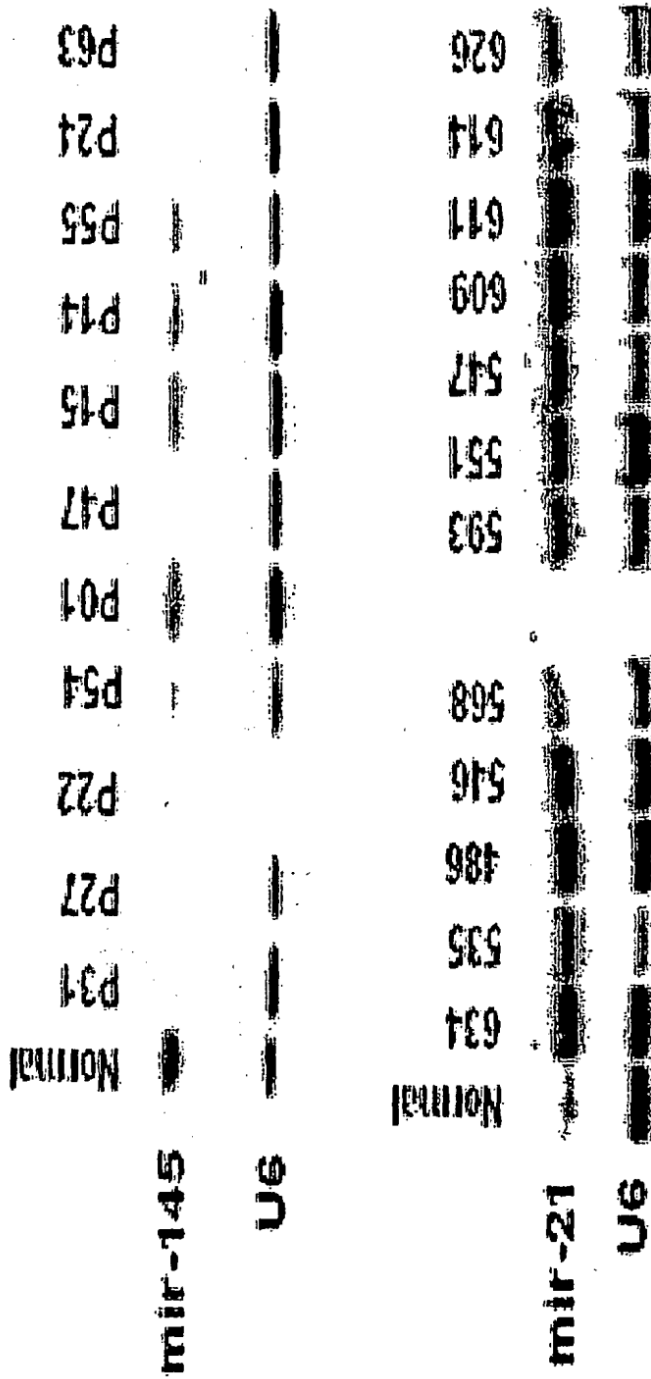


FIG. 7

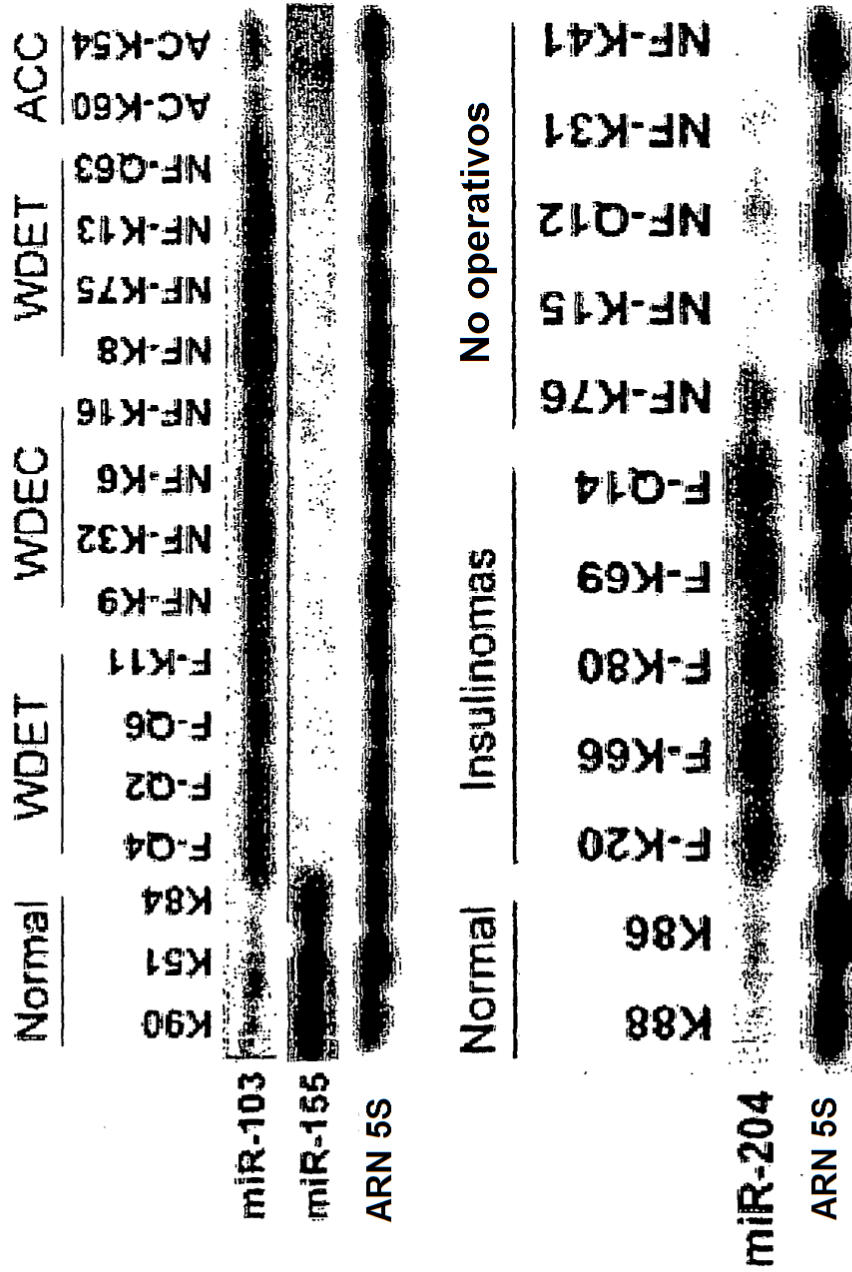


FIG. 8