

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 553 442**

51 Int. Cl.:

A61K 38/00 (2006.01)

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2007 E 12165740 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.10.2015 EP 2514434**

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

30 Prioridad:

05.01.2006 US 756400 P

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

09.12.2015

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 553 442 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

Procedimientos basados en los microARN para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del cáncer de pulmón

5 **Apoyo Gubernamental**

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

10

Antecedente de la invención

El cáncer de pulmón causa más muertes en todo el mundo que cualquier otra forma de cáncer (Goodman, G.E., Thorax 57: 994-999 (2002)). En los Estados Unidos, el cáncer de pulmón es la primera causa de muerte por cáncer tanto entre hombres como entre mujeres. En 2002, la tasa de mortalidad por cáncer de pulmón se estimó en 134.900 muertes. El cáncer de pulmón también encabeza las muertes por cáncer en todos los países europeos y el número de muertes relacionadas con el cáncer de pulmón está aumentando rápidamente en los países en desarrollo.

15

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

20

25

30

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

35

40

Los microARN (miARN) son una clase de ARN pequeños, no codificantes que controlan la expresión génica hibridándose con y desencadenando la represión traduccional o, menos frecuentemente, la degradación de un ARN mensajero (ARNm) diana. El descubrimiento y estudio de los miARN han revelado mecanismos génicos reguladores mediados por miARN que tienen papeles importantes en el desarrollo de organismos y varios procesos celulares, tales como diferenciación celular, crecimiento celular y muerte celular (Cheng, A.M. y col., Nucleic Acids Res. 33: 1290-1297 (2005)). Los estudios recientes sugieren que la expresión aberrante de miARN particulares puede estar implicada en enfermedades humanas, tales como trastornos neurológicos (Ishizuka, A. y col., Genes Dev. 16: 2497-2508 (2002)) y cáncer. En particular, se ha descubierto una expresión errónea de miR-16-1 y/o miR-15a en leucemias linfocíticas crónicas (Calin, G.A. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99: 15524-15529 (2002)). El documento WO 2005/118806 divulga procedimientos y composiciones para aislar, enriquecer y / o marcar las moléculas de miARN y para preparar y usar matrices u otras técnicas de detección para el análisis miARN. Además, el documento WO 2005/118806 se refiere a procedimientos y composiciones para la generación de perfiles de miARN y el empleo de tales perfiles para aplicaciones terapéuticas, diagnósticas y de pronóstico. El documento WO 2005/078139 describe la asociación entre los genes miARN y las características cromosómicas implicadas en la etiología de diferentes tipos de cáncer y sugiere que el cáncer puede tratarse mediante la restauración del nivel de expresión génica de miR a la normalidad. Takamizawa J et al. divulgan la expresión reducida en el ARNm de let-7 en los cánceres de pulmón humanos y sugiere que las alteraciones de la expresión del ARNm pueden tener un impacto pronóstico sobre la supervivencia de pacientes de cáncer pulmonar tratados quirúrgicamente .

45

50

55

60

65

El desarrollo y uso de micromatrices que contienen todos los microARN conocidos ha permitido un análisis simultáneo de la expresión de cada miARN en una muestra (Liu, C.G. y col., Proc Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 9740-9744 (2004)). Estas micromatrices de microARN no solo se han utilizado para confirmar que el miR-16-1 está mal regulado en las células humanas de LLC, sino también para generar firmas de expresión de miARN que se asocian con cuadros clinicopatológicos bien definidos de LLC humanas (Calin, G.A. y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 1175-11760 (2004)). Se puede utilizar el aislamiento, el enriquecimiento y/o el marcado de moléculas de miARN para preparar matrices u otras técnicas de detección para el análisis de miARN. Los perfiles de miARN se pueden emplear en aplicaciones terapéuticas, diagnósticas y pronósticas (documento WO 2005/118806).

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

Sumario

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

En consecuencia, la invención engloba un procedimiento para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer de pulmón. Según el procedimiento de la invención, el nivel de un grupo de productos génicos de miR en una muestra de ensayo del sujeto se compara con el nivel de un correspondiente los productos génicos de miR en una muestra de control, consistiendo dicho grupo en miR-21, miR-191, miR-155, miR-210, miR-126* y miR-224. Una alteración (por ejemplo, un aumento, del nivel de los productos génicos miR-21, miR-191, miR-155 and miR-210 en la muestra de ensayo y un descenso del nivel de los productos génicos miR-126* and miR-224 gene en la muestra de ensayo, con respecto al nivel de los productos génicos de miR correspondientes en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene cáncer de pulmón.

También se desvelan procedimientos en los que al menos un producto génico de miR medido en una muestra de ensayo se compara con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control.

El al menos un producto génico de miR puede seleccionarse entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-192-prec, miR-224, miR-126, miR-24-2, miR-30a-5p, miR-212, miR-140, miR-9, miR-214, miR-17-3p, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216-prec, miR-219-1, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-125a-prec, miR-26a-1-prec, miR-146, miR-203, miR-199b-prec, let-7a-2-prec, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c-prec, miR-150, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125a and let-7f-1. Como alternativa, el al menos un producto génico de miR puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-21, miR-205 y miR-216. Como alternativa, el cáncer de pulmón es un adenocarcinoma de pulmón y el al menos un producto génico de miR se selecciona entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-155, miR-210, miR-126*, miR-126, miR-24-2, "miR-219-1, miR-95, miR-192-prec, miR-220, miR-216-prec, miR-204-prec, miR-188, miR-198, miR-145 y miR-224.

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

Esta divulgación también abarca procedimientos para determinar el pronóstico de un sujeto con cáncer de pulmón, que comprenden la medición del nivel de al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo del sujeto, que se asocia con un pronóstico adverso en el cáncer de pulmón. De acuerdo con estos procedimientos, una alteración en el nivel de un producto génico de un miR, que se asocia con un pronóstico adverso, en la muestra de ensayo, cuando se compara con el nivel de un correspondiente producto génico de miR en una muestra de control, es indicativa de pronóstico adverso. El al menos un producto génico de miR se puede seleccionar del grupo que consiste en miR-155, miR-17-3p, miR-106a, miR-93, let-7a-2, miR-145, let-7b, miR-20 y miR-21. El cáncer de pulmón puede ser un adenocarcinoma de pulmón y el al menos un producto génico de miR se puede seleccionar entre el grupo que consiste en miR-155 y let-7a-2.

El nivel del al menos un producto génico de miR se puede medir como se describe en el presente documento (por ejemplo, por RT-PCR semicuantitativa o cuantitativa, análisis de transferencia de Northern, detección de hibridación en solución, análisis por micromatrices). Una alteración en la señal de al menos un miARN en la muestra de ensayo,

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

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

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

Esta divulgación abarca además composiciones farmacéuticas para el tratamiento del cáncer de pulmón. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un producto génico de miR aislado o una variante aislada o un 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 de expresión disminuido en las células del cáncer de pulmón con respecto al de las células control adecuadas. El producto génico de miR aislado se puede seleccionar entre el grupo que consiste en miR-126*, miR-143, miR-192, miR-224, miR-126, miR-30a-5p, miR-140, miR-9, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216, miR-219-1, miR-125a, miR-26a-1, miR-199b, let-7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, let-7f-1 y una combinación de los mismos.

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

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

Como alternativa, el procedimiento puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado a niveles de expresión aumentados en las células del cáncer de pulmón. Un descenso en la célula del nivel del producto génico de miR asociado a niveles de expresión

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

Breve descripción de los dibujos

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

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

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

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

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

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

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

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

La FIG. 7 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Treinta y dos casos de adenocarcinoma de una cohorte original se clasificaron de acuerdo con la expresión del precursor del

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

La FIG. 8 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Treinta y dos casos de una cohorte adicional independiente se clasificaron de acuerdo con la expresión del *hsa-mir-155* precursor y los datos de supervivencia se compararon utilizando el ensayo de intervalo logarítmico. El grupo de alta expresión del *hsa-mir-155* precursor (n=14); el grupo de baja expresión del *hsa-mir-155* precursor (n=18).

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

La FIG. 10 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier para pacientes con adenocarcinoma. Sesenta y cuatro casos de la combinación de 2 cohortes independientes se clasificaron de acuerdo con la expresión del *hsa-mir-155* precursor, estimado por el análisis RT-PCR en tiempo real. Los datos de supervivencia se compararon utilizando el ensayo de intervalo logarítmico. La relación de expresión media se definió como relación de expresión media = media de la expresión tumoral / media de expresión de los tejidos no cancerosos. El grupo de alta expresión del *hsa-mir-155* precursor (es decir el grupo con una relación de expresión \geq relación de la media de expresión (1,19); n=27) se comparó con los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos. El grupo de baja expresión del *hsa-mir-155* precursor (es decir el grupo con una relación de expresión $<$ la relación de expresión media (1,19); n=37) se comparó con los correspondientes tejidos tumorales no cancerosos.

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

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

Descripción detallada

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

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

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

documento se llama a un microARN por su nombre, el nombre corresponde tanto a la forma de precursor como a la madura, a menos que se indique otra cosa.

- 5 La presente invención engloba un procedimiento para diagnosticar si un sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar cáncer de pulmón, comprendiendo la medición de un grupo de productos génicos de miR en una muestra de ensayo del sujeto y comparando el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo con el nivel del correspondiente producto génico de miR en una muestra de control. Como se utiliza en el presente documento, un "sujeto" puede ser cualquier mamífero que tenga o sea sospechoso de tener un cáncer de pulmón.
- 10 El cáncer de pulmón puede ser cualquier forma de cáncer de pulmón, por ejemplo, cánceres de pulmón de diferentes histologías (por ejemplo, adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas). Además, el cáncer de pulmón se puede asociar con un pronóstico particular (por ejemplo, tasa baja de supervivencia, progresión rápida).
- 15 Las Tablas 1a y 1b describen las secuencias de nucleótidos de microARN humanos precursores y maduros.

Tabla 1a- Secuencias de precursores de microARN humano

Nombre del precursor	Secuencia (5' a 3')*	SEC ID Nº
<i>let-7a-1</i>	CACUGUGGG AUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUUAGG GUCACACCCACCACUGGGAGAUAAACUAUACAAUCUACU GUCUUUCCUAACGUG	1
<i>let-7a-2</i>	AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUACAU CAAGGGAGAUAAACUGUACAGCCUCCUAGCUUUCCU	2
<i>let-7a-3</i>	GGGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUGGGGCUCUGCC CUGCUAUGGGAUAAACUAUACAAUCUACUGUCUUUCCU	3
<i>let-7a-4</i>	GUGACUGCAUGCUCACAGGUUGAGGUAGUAGGUUGUA UAGUUUAGAAUACACAAGGGAGAUAAACUGUACAGCC UCCUAGCUUUUCCUUGGGUCUUGCACUAAACAAC	4
<i>let-7b</i>	GGCGGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUUCAGGGCA GUGAUGUUGCCCCUCGGAAGAUAAACUAUACAACCUAC UGCCUUCCUG	5
<i>let-7c</i>	GCAUCCGGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUUUAGAG UUACACCCUGGGAGUUAAACUGUACAACCUUCUAGCUU UCCUUGGAGC	6
<i>let-7d</i>	CCUAGGAAGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUUUUAGGGCA GGGAUUUUUGCCCACAAGGAGGUAACUAUACGACCUGC UGCCUUUCUUAGG	7
<i>let-7d-v1</i>	CUAGGAAGAGGUAGUAGUUUGCAUAGUUUUAGGGCAA AGAUUUUGCCCACAAGUAGUUAGCUAUACGACCUGCA GCCUUUUUGUAG	8
<i>let-7d-v2</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUG UGACAUUGCCCCGUGUGGAGAUAAACUGCGCAAGCUAC UGCCUUGCUAG	9
<i>let-7e</i>	CCCGGGCUGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUUGAGGAGGA CACCAAGGAGAUACUAUACGGCCUCCUAGCUUUCCC CAGG	10
<i>let-7f-1</i>	UCAGAGUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGGUAG UGAUUUUACCCUGUUCAGGAGAUAAACUAUACAAUCUA UUGCCUCCUGA	11
<i>let-7f-2-1</i>	CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGGU AGUGAUUUUACCCUGUUCAGGAGAUAAACUAUACAAUC UAUUGCCUCCUGA	12
<i>let-7f-2-2</i>	CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUUUAGGGU CAUACCCCAUCUUGGAGAUAAACUAUACAGUCUACUGUC UUUCCACGG	13
<i>let-7g</i>	UUGCCUGAUUCCAGGCUGAGGUAGUAGUUUGUACAGU UUGAGGGUCUAUGAUACCACCCGGUACAGGAGUAAC UGUACAGGCCACUGCCUUGCCAGGAACAGCGCGC	14
<i>let-7i</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUG UGACAUUGCCCCGUGUGGAGAUAAACUGCGCAAGCUAC UGCCUUGCUAG	15
<i>miR-1b-1-1</i>	ACCUACUCAGAGUACAUACUUCUUUAUGUACCCAUAU GAACAUACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAU UUUUGGUAGGC	16

ES 2 553 442 T3

<i>miR-1b-1-2</i>	CAGCUAACAAACUAGUAAUACCUACUCAGAGUACAUA CUUCUUUAUGUACCCAUUGAACAUACA AUGCUAUGG AAUGUAAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAGGCAAUA	17
<i>miR-1b-2</i>	GCCUGCUUGGAAACAUACUUCUUUAUGCCCAUUA GGACCUGCUAAGCUAUGGAAUGUAAAAGAAGUAUGUAU CUCAGGCCGGG	18
<i>miR-1b</i>	UGGGAAAACUACUUCUUUAUAUGCCCAUUAUGGACCUG CUAAGCUAUGGAAUGUAAAAGAAGUAUGUAUCUCA	19
<i>miR-1d</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCAUUA GAACAUACA AUGCUAUGGAAUGUAAAAGAAGUAUGUAU UUUUGGUAGGC	20
<i>miR-7-1a</i>	UGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAU UUUGUUGUUUUAGAUAAUAAAUCGACAACAAAUCA CAGUCUGCCAU AUGGCACAGGCCAUGCCUCUACA	21
<i>miR-7-1b</i>	UUGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGA UUUUGUUGUUUUAGAUAAUAAAUCGACAACAAAUC ACAGUCUGCCAU AUGGCACAGGCCAUGCCUCUACAG	22
<i>miR-7-2</i>	CUGGAUACAGAGUGGACCGGCUGGCCCAUCUGGAAG ACUAGUGAUUUUGUUGUUCUACUGCGCUACAACA CAAAUCCAGUCUACCUAAUGGUGCCAGCCAU CGCA	23
<i>miR-7-3</i>	AGAUUAGAGUGGCUGUGGUCUAGUGCUGUGUGGAAGA CUAGUGAUUUUGUUGUUCUGAUGUACUACGACAACA GUCACAGCCGGCCUCAUAGCGCAGACUCCUUCGAC	24
<i>miR-9-1</i>	CGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUG AGUGGUGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAA GUAAAAUAACCCCA	25
<i>miR-9-2</i>	GGAAGCGAGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUG AGUGUAUUGGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGU AAAAACUCCUUA	26
<i>miR-9-3</i>	GGAGGCCCGUUCUCUUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUG AGUGCCACAGAGCCGUCUAAAGCUAGAUAAACCGAAA GUAGAAUAGAUUCUA	27
<i>miR-10a</i>	GAUCUGUCUGUCUUCUGUAUAUACCCUGUAGAUCCGA AUUUGUGUAAGGAAUUUGUGGUCACA AAUUCGUAUC UAGGGGAAUAUGUAGUUGACAUA AACACUCCGCUCU	28
<i>miR-10b</i>	CCAGAGGUUGUAACGUUGUCUAUAUACCCUGUAGA ACCGAAUUUGUGUGGU AUCCGUUAUGUCACAGAUUCG AUUCUAGGGGAAUAUAUGGUCG AUGCAAAAACUUA	29
<i>miR-15a-2</i>	GCGCGAAUGUGUGUUUAAAAAAAAUAAAACCUUGGAG UAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUGAAA AGGUGCAGGCCAUUUGUGCUGCCUAAAAUAC	30
<i>miR-15a</i>	CCUUGGAGUAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGA UUUUGAAAAGGUGCAGGCCAUUUGUGCUGCCUCAA AAUACAAGG	31
<i>miR-15b-1</i>	CUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAUGCUACAGUCA GAUGCGAAUCAUUUUUGCUGCUCUAG	32
<i>miR-15b-2</i>	UUGAGGCCUUAAGUACUGUAGCAGCACAUCAUGGUU UACAUGCUACAGUCAAGAUAGCGAAUCAUUUUUGCUG CUCUAGAAAUUUAAGGAAUUCAU	33
<i>miR-16-1</i>	GUCAGCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUU AAGAUUCUAAAUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGC UGAAGUAAGGUUGAC	34
<i>miR-16-2</i>	GUUCCACUCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUAGUGA AAUAUAUAUAAAACCAUAUUACUGUGCUGCUUUA GUGUGAC	35
<i>miR-16-13</i>	GCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUAAGA UUCUAAAAUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAA GUAAGGU	36
<i>miR-17</i>	GUCAGAAUAUGUCAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGU GAUAUGUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCA UUAUGGUGAC	37
<i>miR-18</i>	UGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGA UUAGCAUCUACUGCCUAAUGUGCUCCUUCUGGCA	38

ES 2 553 442 T3

<i>miR-18-13</i>	UUUUUGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAG UAGAUUAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGGCA UAAGAA	39
<i>miR-19a</i>	GCAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACAAG AAGAAUGUAGUUGUGCAAAUCUAUGCAAAACUGAUGG UGGCCUGC	40
<i>miR-19a-13</i>	CAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACAAGA AGAAUGUAGUUGUGCAAAUCUAUGCAAAACUGAUGGU GGCCUG	41
<i>miR-19b-1</i>	CACUGUUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAG CUGUGUGAUUUCUGCUGUGCAAAUCCAUGCAAAACU GACUGUGGUAGUG	42
<i>miR-19b-2</i>	ACAUUGCUACUACAAUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUU UCAGCGUAUAUAUGUAUAUGUGGCUGUGCAAAUCCA GCAAAACUGAUUGUGAUAAUGU	43
<i>miR-19b-13</i>	UUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUG UGAUUUCUGCUGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGACUG UGGUAG	44
<i>miR-19b-X</i>	UUACAAUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGCGUAUA UAUGUAUAUGUGGCUGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGA UUGUGAU	45
<i>miR-20 (miR-20a)</i>	GUAGCACUAAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUUUAG UUAUCUACUGCAUUAUGAGCACUAAAAGUACUGC	46
<i>miR-21</i>	UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAA UCUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA	47
<i>miR-21-17</i>	ACCUUGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGU UGAAUCUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGA CAUUUUG	48
<i>miR-22</i>	GGCUGAGCCGCAGUAGUUCUUCAGUGGCAAGCUUUU GUCCUGACCCAGCUAAAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU UGCCCUCUGCC	49
<i>miR-23a</i>	GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCU GUCACAAAUCACAUUGCCAGGGAUUCCAACCGACC	50
<i>miR-23b</i>	CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGGUCCUGGCAUGCUG AUUUGUGACUUAAGAUUAAAUCACAUUGCCAGGGAU UACCACGCAACCACGACCUUGGC	51
<i>miR-23-19</i>	CCACGGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCU UCCUGUCACAAAUCACAUUGCCAGGGAUUCCAACCGA CCCUGA	52
<i>miR-24-1</i>	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUUCAGUUCUCAUUU ACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	53
<i>miR-24-2</i>	CUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGUUGG UUUGUGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGG	54
<i>miR-24-19</i>	CCCUGGGCUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACA CAGUUGGUUUGUGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAA CAGGGG	55
<i>miR-24-9</i>	CCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUUCAGUUCUCAUUU UACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGCAUC	56
<i>miR-25</i>	GGCCAGUGUUGAGAGGCGGAGACUUGGGCAAUUGCUG GACGCUGCCUGGGCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACA GUGCCGGCC	57
<i>miR-26a</i>	AGGCCGUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUG UGCAGGUCCAAUGGCCUACUUGGUUACUUGCACGG GGACGCGGGCCU	58
<i>miR-26a-1</i>	GUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAG GUCCAAUGGGCCU AUUCUUGGUUACUUGCACGGGGA CGC	59
<i>miR-26a-2</i>	GGCUGUGGCUGGAUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGU UCCAUCUGUGAGGCCU AUUCUUGAUUACUUGUUUCU GGAGGCAGCU	60
<i>miR-26b</i>	CCGGGACCCAGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGUUGUGU GCUGUCCAGCCUGUUCUCCAUUACUUGGCUCGGGGACC GG	61

ES 2 553 442 T3

<i>miR-27a</i>	CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUUGUGAGCAGGGUCC ACACCAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCC CAG	62
<i>miR-27b-1</i>	AGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAGUGAUUGG UUUCCGCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACCU	63
<i>miR-27b-2</i>	ACCUCUCUAACAAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUG AACAGUGAUUGGUUUCGCUUUGUUCACAGUGGCUAA GUUCUGCACCUGAAGAGAAGGUG	64
<i>miR-27-19</i>	CCUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUUGUGAGCAGGGUC CACACCAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCC CCAGG	65
<i>miR-28</i>	GGUCCUUGCCCUC AAGGAGCUCACAGUCUAUUGAGUU ACCUUUCUGACUUUCCACUAGAUUGUGAGCUCCUGGA GGGCAGGCACU	66
<i>miR-29a-2</i>	CCUUCUGUGACCCCUUAGAGGAUGACUGAUUUCUUUU GGUGUUCAGAGUCAAUAAUAAUUUCUAGCACCAUCUG AAAUCGGUUAUAUAGAUUGGGGAAGAGCACCAUG	67
<i>miR-29a</i>	AUGACUGAUUUCUUUUGGUGUUCAGAGUCAAUAAUAAU UUUCUAGCACCAUCUGAAAUCGGUUAU	68
<i>miR-29b-1</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAU AUGGUGGUUUAGAUUUA AAUAGUGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUC UUGGGGG	69
<i>miR-29b-2</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCUUAGAUUUU UCCAUCUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUU UUAGGAG	70
<i>miR-29c</i>	ACCACUGGCCCAUCUCUACACAGGCUGACCGAUUUCU CCUGGUGUUCAGAGUCUGUUUUUGUCUAGCACCAUUU GAAUUCGGUUAUGAUGUAGGGGGAAAAGCAGCAGC	71
<i>miR-30a</i>	GCGACUGUAAACAUCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCC ACAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGC	72
<i>miR-30b-1</i>	AUGUAAACAUCUACACUCAGCUGAAUACAUGGAUU GGCUGGGAGGUGGAUGUUUACGU	73
<i>miR-30b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUC AUGUAAACAUCUACACUCAGCU GUAUACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUU CAGCUGACUUGGA	74
<i>miR-30c</i>	AGAUACUGUAAACAUCUACACUCUCAGCUGUGGAAA GUAAGAAAGCUGGGAGAGGCUGUUUACUCUUUCU	75
<i>miR-30d</i>	GUUGUUGUAAACAUCCCCCGACUGGAAGCUGUAAGACA CAGCUAAGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC	76
<i>miR-30e</i>	CUGUAAACAUCUUCAGUCGGAAGCUGUAAGGUGUUCA GAGGAGCUUUCAGUCGGAUGUUUACAG	77
<i>miR-31</i>	GGAGAGGAGGCAAGAAGCUGGCAUAGCUGUUGAACUG GGAACCUUCUAGCCAAACAUUUGCCAUCUUUCC	78
<i>miR-32</i>	GGAGAUUUUGCACAUUACUAAGUUGCAUGUUGUCACG GCCUCAUUGCAAUUUAGUGUGUGUGAUUUUUUC	79
<i>miR-33b</i>	GGGGGCCGAGAGAGGCGGGCGGCCCGCGGUGCAUUGC UGUUGCAUUGCACGUGUGUGAGGCGGGUGCAGUGCCU CGGCAGUGCAGCCCGAGCCGGCCCCUGGCACCAC	80
<i>miR-33b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUC AUGUAAACAUCUACACUCAGCU GUAUACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUU CAGCUGACUUGGA	81
<i>miR-33</i>	CUGUGGUGCAUUGUAGUUGCAUUGCAUGUUCUGGUGG UACCAUGCAAUGUUUCCACAGUGCAUCACAG	82
<i>miR-34-a</i>	GGCCAGCUGUGAGUGUUUCUUUGGCAGUGUCUUAGCU GGUUGUUGUGAGCAAUAGUAAGGAAGCAAUCAGCAAG UAUACUGCCCUAGAAGUGCUGCACGUUGUGGGGGCCC	83
<i>miR-34-b</i>	GUGCUCGGUUUGUAGGCAGUGUCAUAGCUGAUUGUA CUGUGGUGGUUACAUAUCACUAACUCCACUGCCAUCAAA ACAAGGCAC	84
<i>miR-34-c</i>	AGUCUAGUUACUAGGCAGUGUAGUUAGCUGAUUGCUA AUAGUACCAAUCACUAACCACACGGCCAGGUAAAAAG AUU	85

ES 2 553 442 T3

<i>miR-91-13</i>	UCAGAAUAAUGUCAAGAGUCUUACAGUGCAGGUAGUG AUAUGUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAU UAUGGUGA	86
<i>miR-92-1</i>	CUUUCUACACAGGUUGGGAUCGGUUGCAAUGCUGUGU UUCUGUAUGGUUUUGCACUUGUCCCGGCCUGUUGAGU UUGG	87
<i>miR-92 -2</i>	UCAUCCCUGGGUGGGGAUUUGUUGCAUACUUGUGUU CUAUAUAAAGUAUUGCACUUGUCCCGGCCUGUGGAAG A	88
<i>miR-93-1 (miR-93-2)</i>	CUGGGGGCUCCAAGAGUCUGUUCGUGCAGGUAGUGUG AUUACCCAACCUACUGCUGAGCUAGCACUUCGAGCC CCCCG	89
<i>miR-95-4</i>	AACACAGUGGGCACUCAAUAAAUGUCUGUUGAAUUGA AAUGCGUUAACAUUCAACGGGUUUUAUUGAGCACCCA CUCUGUG	90
<i>miR-96-7</i>	UGGCCGAUUUUGGCACUAGCACAUUUUUGCUUGUGUC UCUCCGCUCUGAGCAAUCAUGUGCAGUGCCAAUAUGG GAAA	91
<i>miR-97-6 (miR-30*)</i>	GUGAGCGACUGUAAACAUCUCGACUGGAAGCUGUGA AGCCACAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUG CCUACU	92
<i>miR-98</i>	GUGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUUGUGGGGUAGGGAUA UUAGGCCCAAUUAAGAAGUAACUAUACAACUUAUA CUUUC	93
<i>miR-99b</i>	GGCACCCACCCGUAGAACCACCUUGCGGGGCCUUCGC CGCACACAAGCUCUGUCUGUGGGUCCGUGUC	94
<i>miR-99a</i>	CCAUUGGCAUAAACCCGUAGAUCGUAUCUUGUGGUG AAGUGGACCGCACAGCUCGCUUCUAUGGGUCUGUGU CAGUGUG	95
<i>miR-100-1/2</i>	AAGAGAGAAGUAUUGAGGCCUGUUGCCACAAACCCG UAGAUCGGAACUUGUGGUUUUAGUCCGCACAAGCUUG UAUCUAUAGGUUUGUGUCUGUUAAGGCAUUCAC	96
<i>miR-100-11</i>	CCUGUUGCCACAAACCCGUAGAUCGUAUCUUGUGGUUA UAGUCCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGGUUUGUGUCUG UUAGG	97
<i>miR-101-1/2</i>	AGGCUGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUG UCUAUUCUAAAAGGUACAGUACUGUGUAUACUGAAGGA UGGCAGCCAUUCUACCUUCCAUACAGAGGAGCCUCAC	98
<i>miR-101</i>	UCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCCAUUCUAAAGG UACAGUACUGUAUACUGA	99
<i>miR-101-1</i>	UGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCUA UUCUAAAAGGUACAGUACUGUGUAUACUGAAGGAUGGC A	100
<i>miR-101-2</i>	ACUGUCCUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUA UAUCUGAAAGGUACAGUACUGUGUAUACUGAAGAAUG GUGGU	101
<i>miR-101-9</i>	UGUCCUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUA UCUGAAAGGUACAGUACUGUGUAUACUGAAGAAUGGU G	102
<i>miR-102-1</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUACAUGGUGGCCUUAGAUUUU UCCAUCUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUU UUAGGAG	103
<i>miR-102-7.1 (miR-102-7.2)</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUUGGUGGUUUAGAUUUA AAUAGUGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUC UUGGGGG	104
<i>miR-103-2</i>	UUGUCUUUCAGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUAGC AUUCAGGUCAAGCAACAUUGUACAGGGCUAUGAAAGA ACCA	105
<i>miR-103-1</i>	UACUGCCCUCGGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUUGCA UAUGGAUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGAAGGCA UUG	106

ES 2 553 442 T3

<i>miR-104-17</i>	AAAUGUCAGACAGCCCAUCGACUGGUGUUGCCAUGAG AUUCAACAGUCAACAUCAGUCUGAUAAGCUACCCGACA AGG	107
<i>miR-105-1</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGG CUGCUC AUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUACG GUGUCUA	108
<i>miR-105-2</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGG CUGCUU AUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUAUG GUGUCUA	109
<i>miR-106-a</i>	CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGCU UUUUGAGAUCUACUGCAAUGUAAGCACUUCUUACA ACCAUGG	110
<i>miR-106-b</i>	CCUGCCGGGGCUAAAAGUGCUGACAGUGCAGAUAGUGG UCCUCUCCGUGCUACCGCACUGUGGGUACUUGCUGCUC CAGCAGG	111
<i>miR-107</i>	CUCUCUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGUUGCCUUGUG GCAUGGAGUUC AAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCAAA GCACAGA	112
<i>miR-108-1-pequeño</i>	ACACUGCAAGAACAUAAGGAUUUUUAGGGGGCAUUUA GACUGAGUCAGAAAACACAGCUGCCCCUGAAAGUCCCU CAUUUUUCUUGCUGU	113
<i>miR-108-2-pequeño</i>	ACUGCAAGAGCAAUAAGGAUUUUUAGGGGGCAUUUAUGA UAGUGGAAUGGAAACACAUUGCCCCAAAAGUCCCU AUUUU	114
<i>miR-122a-1</i>	CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGU GUCUAAACUAUCAAAACGCCAUUAUCACACUAAAUAGC UACUGCUAGGC	115
<i>miR-122a-2</i>	AGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCCAACU AUCAAACGCCAUUAUCACACUAAAUAGCU	116
<i>miR-123</i>	ACAUUUUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUUCAAA CUCGUACCGUGAGUAAUAAUGCGC	117
<i>miR-124a-1</i>	AGGCCUCUCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUU AAUGUCCAUAACAUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAG AAUGGGGCUG	118
<i>miR-124a-2</i>	AUCAAGAUUAGAGGCUCUGCUCUCCGUGUUCACAGCG GACCUUGAUUUAAUGUCAUACAUAUAAAGGCACGCGGU GAAUGCCAAGAGCGGAGCCUACGGCUGCACUUGAAG	119
<i>miR-124a-3</i>	UGAGGGCCCCUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUU AAUGUCUAUACAUAUAAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAG AGAGGCGCCUCC	120
<i>miR-124a</i>	CUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCUA UACAUAUAAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG	121
<i>miR-124b</i>	CUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCAU ACAUAUAAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG	122
<i>miR-125a-1</i>	UGCCAGUCUCUAGGUCCUGAGACCCUUUAACCUUGUGA GGACAUCCAGGGUCACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCU GGCGUCUGGCC	123
<i>miR-125a-2</i>	GGUCCUGAGACCCUUUAACCUUGUGAGGACAUCCAGGG UCACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGG	124
<i>miR-125b-1</i>	UGCGUCCUCUCAGUCCUGAGACCCUAACUUGUGAUG UUUACCGUUUAAAUCCACGGGUUAGGCUCUUGGGAGC UGCGAGUCGUGCU	125
<i>miR-125b-2</i>	ACCAGACUUUCCUAGUCCUGAGACCCUAACUUGUGA GGU AUUUUAGUAACAUCACAAGUCAGGCUCUUGGGAC CUAGGCGGAGGGGA	126
<i>miR-126-1</i>	CGCUGGCACGGGACAUUAUUACUUUUGGUACGCGCU GUGACACUUCAAACUCGUACCGUGAGUAAUAAUGCGC CGUCCACGGCA	127
<i>miR-126-2</i>	ACAUAUUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUUCAAA CUCGUACCGUGAGUAAUAAUGCGC	128
<i>miR-127-1</i>	UGUGAUCACUGUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGC UCUGAUUCAGAAAGAUCAUCGGAUCCGUCUGAGCUUG GCUGGUCGGAAGUCUCAUCAUC	129

ES 2 553 442 T3

<i>miR-127-2</i>	CCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAAA GAUCAUCCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG	130
<i>miR-128a</i>	UGAGCUGUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGA GGUUUACA <u>UUUCACAGUGAACCGGUCUCUUUUUCA</u> GCUGCUUC	131
<i>miR-128b</i>	GCCCGGCAGCCACUGUGCAGUGGGAAGGGGGCCGAU ACACUGUACGAGAGUGAGUAGCAGGUCUCACAGUGAA CCGGUCUCUU <u>UCCUACUGUGUCACACUCCUAAUGG</u>	132
<i>miR-128</i>	GUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUUA CAUUUCUCACAGUGAACCGGUCUCUUUUUCAGC	133
<i>miR-129-1</i>	UGGAUCUUUUUGCGGGUCUGGGCUUGCUGU <u>UCCUCUCA</u> ACAGUAGUCAGGAAGCCUUACCCCAAAAAGUAUCUA	134
<i>miR-129-2</i>	UGCCCUUCGCGAAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUG UACAUAACUCAAUAGCCGGAAGCCUUACCCCAAAAAG CAUUUGCGGAGGGCG	135
<i>miR-130a</i>	UGCUGCUGGCCAGAGCUCUUUUCACAUUGUGCUACUG UCUGCACCUGUCACUAGCAGUGCAAUGUUAAAAGGGC AUUGGCCGUGUAGUG	136
<i>miR-131-1</i>	GCCAGGAGGCGGGUUGGUUUGUUAUCUUUGGUUAUCU AGCUGUAUGAGUGGUGGAGUCUUC AUA <u>AAAGCUAGA</u> UAACCGAAAGUAAAAUAACCCCAUACACUGCGCAG	137
<i>miR-131-3</i>	CACGGCGCGGCAGCGGCACUGGCUAAGGGAGGCCCGUU UCUCUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGCCACAGA GCCGUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAGAAAUG	138
<i>miR-131</i>	GUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGUAUU GGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAAC	139
<i>miR-132-1</i>	CCGCCCCCGCUCUCCAGGGCAACCGUGGCUUUCGAUU GUUACUGUGGGAACUGGAGGUAAACAGUCUACAGCCAU GGUCGCCCGCAGCAGCCACGCGC	140
<i>miR-132-2</i>	GGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUAUCUGUGGGAACUG GAGGUAACAGUCUACAGCCAUGGUCGCC	141
<i>miR-133a-1</i>	ACA AUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAAU CGCCUCUUCAAUUGGAUUUGGUCCCCUUAACAGCUGU AGCUAUGCAUUGA	142
<i>miR-133a-2</i>	GGGAGCCAAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAA CCAAAUCGACUGUCCAUGGAUUUGGUCCCCUUAACCC AGCUGUAGCUGUGCAUUGAUGGCGCCG	143
<i>miR-133</i>	GCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAAUCGCCUCUUA AUGGAUUUGGUCCCCUUAACAGCUGUAGC	144
<i>miR-133b</i>	CCUCAGAAGAAAGAUCCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAA CGGAACCAAGUCCGUCUUCUGAGAGGUUUUGGUCCCCU UCAACAGCUACAGCAGGGCUGGCAAUGCCCAGUCCUU GGAGA	145
<i>miR-133b-pequeño</i>	GCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUCCGU CUUCCUGAGAGGUUUGGUCCCCUUAACAGCUACAGC AGGG	146
<i>miR-134-1</i>	CAGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACU GUGUUCACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAACCCUC	147
<i>miR-134-2</i>	AGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACUG UGUUCACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAACCCU	148
<i>miR-135a-1</i>	AGGCCUCGUCUUCUCUAUGGCCUUUUUAUCCUAUGU GAUUCUACUGCUCACUAUAUAGGGAUUGGAGCCGUG GCGCACGGCGGGGACA	149
<i>miR-135a-2 (miR-135-2)</i>	AGAUA <u>AAUUCACUCUAGUGCUUUUAUGGCCUUUUUAUUC</u> CUAUGUGAUAGUAAUAAAGUCUCAUGUAGGGAUGGAA GCCAUGAAAUA <u>CAUUGUGAAAAUCA</u>	150
<i>miR-135</i>	CUAUGGCCUUUUUAUCCUAUGUGAUUUCUACUGCUCAC UCAUAUAGGGAUUGGAGCCGUGG	151
<i>miR-135b</i>	CACUCUGCUGUGGCCUAUGGCCUUUUCAUUCCUAUGUG AUUGCUGUCCAAACUCAUGUAGGGCUAAAAGCCAUG GGCUACAGUGAGGGGGCAGCUCC	152

ES 2 553 442 T3

<i>miR-136-1</i>	UGAGCCCUCGGAGACUCCAUUUGUUUGAUGAUGGA UUCUUAUGCUCUCAUCGUCUCAAAUGAGUCUUCAG AGGGUUCU	153
<i>miR-136-2</i>	GAGGACUCCAUUUGUUUGAUGAUGGAUUCUUAUGCU CCAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCUUC	154
<i>miR-137</i>	CUUCGGUGACGGGUUUUCUUGGGUGGAUAAUACGGAU UACGUUGUUUUUGCUUAAGAAUACGCGUAGUCGAGG	155
<i>miR-138-1</i>	CCCUGGCAUGGUGUGGGGGCAGCUGGUGUUGUGAA UCAGGCCGUUGCCAAUCAGAGAACGGCUACUUCACAAC ACCAGGGCCACACCACACUACAGG	156
<i>miR-138-2</i>	CGUUGCUCAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGACGAG CAGCGCAUCCUCUUACCCGGCUAUUUCACGACACCAGG GUUGCAUCA	157
<i>miR-138</i>	CAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCGCAU CCUCUUACCCGGCUAUUUACGACACCAGGGUUG	158
<i>miR-139</i>	GUGUAUUCUACAGUGCACGUGUCUCCAGUGUGGCUCG GAGGCUGGAGACGCGGCCUGUUGGAGUAAAC	159
<i>miR-140</i>	UGUGUCUCUCUCUGUGUCCUGCCAGUGGUUUUACCCUA UGGUAGGUUACGUC AUGCUGUUCUACCACAGGGUAGA ACCACGGACAGGAUACCGGGGCACC	160
<i>miR-140as</i>	UCCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUA UGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGGA	161
<i>miR-140s</i>	CCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUCAU GCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGG	162
<i>miR-141-1</i>	CGGCCGGCCUGGGUCCAUUCUCCAGUACAGUGUUGGA UGGUCUAAUUGUGAAGCUCCUAAACACUGUCUGGUA GAUGGCUCGCCGGUGGGUUC	163
<i>miR-141-2</i>	GGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUCUAAU GUGAAGCUCUUAACACUGUCUGGUAAAGAUGGCC	164
<i>miR-142</i>	ACCCAUAAAGUAGAAAGCACUACUAAACAGCACUGGAG GGUGUAGUGUUCCUACUUUAUGGAUG	165
<i>miR-143-1</i>	GCGCAGCGCCUGUCUCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUG CAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUG UAGCUCAGGAAGAGAGAAGUUGUUCUGCAGC	166
<i>miR-143-2</i>	CCUGAGGUCAGUCGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAG UCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGG	167
<i>miR-144-1</i>	UGGGGCCUGGCGUGGUAUCAUCAUACUGUAAGU UUGCGAUGAGACACUACAGUAUAGAUGAUGUACUAGU CCGGGCACCC	168
<i>miR-144-2</i>	GGCUGGGUAUCAUCAUACUGUAAGUUUGCGAUGA GACACUACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUC	169
<i>miR-145-1</i>	CACCUUGUCCACCGUCCAGUUUCCCAGGAAUCCCU UAGAUGCUAAGAUGGGGAUUCUGGAAUACUGUUCU UGAGGUCAUGGUU	170
<i>miR-145-2</i>	CUCACGGUCCAGUUUCCCAGGAAUCCCUAGAUGC AGAUGGGGAUUCUGGAAAUACUGUUCUUGAG	171
<i>miR-146-1</i>	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUUGAGAACUGAAUCCAU GGGUUGUGUCAGUGUCAGACCUCUGAAUUCAGUUCU UCAGCUGGGUAUUCUCUGUCAUCGU	172
<i>miR-146-2</i>	AGCUUUGAGAACUGAAUCCAUGGGUUGUGUCAGUGU CAGACCUGUGAAUUCAGUUCUUCAGCU	173
<i>miR-147</i>	AAUCUAAAGACAACAUUCUGCACACACCAGACU GGAAGCCAGUGUGUGGAAUUGCUUCUGCUAGAUU	174
<i>miR-148a (miR-148)</i>	GAGGCAAAGUUCUGAGACACUCCGACUCUGAGUAUGA UAGAAGUCAGUGCACUACAGAACUUUGUCUC	175
<i>miR-148b</i>	CAAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUA CACUCAGGUCUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAUCACA GAACUUUGUCUCGAAAGCUUUCUA	176
<i>miR-148b-pequeño</i>	AAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUA ACUCAGGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAU	177

ES 2 553 442 T3

<i>miR-149-1</i>	GCCGGCGCCGAGCUCUGGCUCGUGUCUUCACUCCCG UGCUUGUCCGAGGAGGGAGGGAGGGACGGGGGUCUGUG CUGGGGCAGCUGGA	178
<i>miR-149-2</i>	GCUCUGGCUCGUGUCUUCACUCCCGUGCUUGUCCGAG GAGGGAGGGAGGGAC	179
<i>miR-150-1</i>	CUCCCCAUGGCCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGC UGGGCUCAGACCCUGGUACAGGCCUGGGGGACAGGGA CCUGGGGAC	180
<i>miR-150-2</i>	CCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGCUCAGA CCUUGGUACAGGCCUUGGGGACAGGG	181
<i>miR-151</i>	UUUCCUGCCCUCGAGGAGCUCACAGUCUAGUAUGUCUC AUCCCCUACUAGACUGAAGCUCCUUGAGGACAGG	182
<i>miR-151-2</i>	CCUGUCCUCAAGGAGCUUCAGUCUAGUAGGGGAUGAG ACAUACUAGACUGUGAGCUCCUCGAGGGCAGG	183
<i>miR-152-1</i>	UGUCCCCCGGCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACU CGGGCUCUGGAGCAGUCAGUGCAUGACAGAACUUGGG CCCGBAAGGACC	184
<i>miR-152-2</i>	GGCCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGCUCUGG AGCAGUCAGUGC AUGACAGAACUUGGGCCCCGG	185
<i>miR-153-1-1</i>	CUCACAGCUGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUCUGCAGCU AGUAUUCUCACUCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAU CAUUGGCAGGUGGGC	186
<i>miR-153-1-2</i>	UCUCUCUCCCCACAGCUGCCAGUGUCAUUGUCACA AAAGUGAUCAUUGGCAGGUGUGGCUCGUCGAUG	187
<i>miR-153-2-1</i>	AGCGGUGGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUA GUAUAUAGAGCCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUC AUUGGAAACUGUG	188
<i>miR-153-2-2</i>	CAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAUAUGA GCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUG	189
<i>miR-154-1</i>	GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGC UUUAUUUGUGACGAUACACGGUUGACCUAUUUU UCAGUACCAA	190
<i>miR-154-2</i>	GAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUUUUGU GACGAAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUU	191
<i>miR-155</i>	CUGUUAAUGCUAAUCGUGAUAGGGGUUUUUGCCUCCA ACUGACUCCUACAUAUUAGCAUUAACAG	192
<i>miR-156 = miR-157=</i> <i>solapamiento miR-141</i>	CCUAAACUCUGUCUGGUAAAGAUGGCUCCGGGUGGGU UCUCUCGGCAGUAACCUUCAGGGAGCCCUGAAGACCAU GGAGGAC	193
<i>miR-158-pequeño = miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUU GACAGCCAGUGCUCUCGUCUCCUCUGGCUGCCAAUU CCAUAGGUCACAGGUAGUUCGCCUCAUUGCCAGC	194
<i>miR-159-1-pequeño</i>	UCCCGCCCCUGUAACAGCAACUCC AUGUGGAAGUGCC CACUGGUUCCAGUGGGGCUCUGUUUUCUGGGGCGAG GGCCA	195
<i>miR-161-pequeño</i>	AAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGUGAC UGGUCUGGGCUACGCUAUGCUGCGGCGCUCGGG	196
<i>miR-163-1b-pequeño</i>	CAUUGGCCUCCUAAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUC CCACCCGGGGUAAAGAAAGGCCGAAUU	197
<i>miR-163-3-pequeño</i>	CCUAAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCACCUGGG GUAGAGGUGAAAGUUCUUUUACGGAAUUUUUU	198
<i>miR-162</i>	CAAUGUCAGCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGG CGUUAAGAUUCUAAAUAUUCUCCAGUAUUAACUGUG CUGCUGAAGUAAGGUUGACCAUACUCUACAGUUG	199
<i>miR-175-pequeño=miR-224</i>	GGGCUUCAAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUG AUUGUGCAUUGUUUCAAUAUGGUGCCCUAGUGACUAC AAAGCCC	200
<i>miR-177-pequeño</i>	ACGCAAGUGUCCUAAGGUGAGCUCAGGGAGCACAGAA ACCUCAGUGGAACAGAAGGGCAAAGCUCAUU	201
<i>miR-180-pequeño</i>	CAUGUGUCACUUUCAGGUGGAGUUUCAAGAGUCCCU CCUGGUUCACCGUCUCCUUUGCUCUUCACAAC	202

ES 2 553 442 T3

miR-181a	AGAAGGGCUAUCAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCCAAG GAACAUUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGGAUUUGAAA AAACCACUGACCGUUGACUGUACCUUGGGGUCCUUA	203
miR-181b-1	CCUGUGCAGAGAUUAAAAUUUUUUAAAAGGUCACAAUCA CAUUC AUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAA GCUCACUGAACA AUGAAUGCAACUGUGGCCCCGCUU	204
miR-181b-2	CUGAUGGCUGCACUCAACAUUCAUUGCUGUCGGUGGG UUUGAGUCUGAAUC AACUCACUGAUCAAUGAAUGCAA ACUGCGGACCAACA	205
miR-181c	CGGAAAAUUUGCCAAGGGUUUGGGGAACAUUCAACC UGUCGGUGAGUUUGGGCAGCUCAGGCAAACCAUCGAC CGUUGAGUGGACCCUGAGGCCUGGAAUUGCCAUCU	206
miR-182-as	GAGCUGCUUGCCUCCCCCGUUUUUGGCAAUGGUAGAA CUCACACUGGUGAGGUAACAGGAUCCGGUGGUUCUAG ACUUGCCAACU AUGGGGCGAGGACUCAGCCGGCAC	207
miR-182	UUUUUGGCAAUGGUAGAACUCACACUGGUGAGGUAAC AGGAUCCGGUGGUUCUAGACUUGCCAACUAUGG	208
miR-183	CCGCAGAGUGUGACUCCUGUUCUGUGUAUGGCACUGG UAGAAUUCACUGUACAGUCACAGUCAGUGAAUUAAC CGAAGGGCCAUA AACAGAGCAGAGACAGAUAACCGA	209
miR-184-1	CCAGUCACGUCCCCUUAUCACUUUUUCCAGCCCAGCUU GUGACUGUAAGUGUUGGACGGAGAACUGAUAAGGGUA GGUGAUUGA	210
miR-184-2	CCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGACUGUAAGU GUUGGACGGAGAACUGAUAAGGGUAGG	211
miR-185-1	AGGGGGCGAGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUUCUGAU GGUCCCCUCCCCAGGGGCGUGGUUUUCCUCUGGUCCUUC CCUCCCA	212
miR-185-2	AGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUUCUGAUGGUCCCCU CCCCAGGGGCGUGGCUUUCUUCUGGUCCUU	213
miR-186-1	UGC UUGUAACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUUGGGCUU UCUGGUUUUAUUUUAAGCCCAAAGGUGAAUUUUUUGG GAAGUUUGAGCU	214
miR-186-2	ACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUUGGGCUUUCUGGUUU UAUUUUAAGCCCAAAGGUGAAUUUUUUGGGAAGU	215
miR-187	GGUCGGGCUCACCAUGACACAGUGUGAGACUCGGGCU ACAACACAGGACCCGGGGCGCUCUGACCCUCUGUG UCUUGUGUUGCAGCCGGAGGGACGCAGGUCCGCA	216
miR-188-1	UGC UCCCUCUCACAUCCUUGCAUGGUGGAGGGUGA GCUUUCUGAAAACCCUCCACAUGCAGGGUUUGCAGG AUGGCGAGCC	217
miR-188-2	UCUCACAUCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUUUCUG AAAACCCCUCCACAUGCAGGGUUUGCAGGA	218
miR-189-1	CUGUCGAUUGGACCCGCCUCCGGUGCCUACUGAGCUG AUAUCAGUUCUCAUUUUACACACUGGCUCAGUUCAGC AGGAACAGGAGUCGAGCCUUGAGCAA	219
miR-189-2	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUAUCAGUUCUCAUUUU ACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	220
miR-190-1	UGCAGGCCUCUGUGUGAU AUGUUUGAUUAUUAGGUU GUUAUUUAUCCAACUAUAUAUCAACAU AUUCCUAC AGUGUCUUGCC	221
miR-190-2	CUGUGUGAU AUGUUUGAUUAUUAGGUUGUUAUUUAA UCCAACUAUAUAUCAACAU AUUCCUACAG	222
miR-191-1	CGGCUGGACAGCGGGCAACGGAAUCCAAAAGCAGCUG UUGUCUCCAGAGCAUUCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUC CCUUGCUCUCCUGCCU	223
miR-191-2	AGCGGGCAACGGAAUCCAAAAGCAGCUGUUGUCUCCA GAGCAUUCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCU	224
miR-192-2/3	CCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUG ACAGCCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUUC CAUAGGUCACAGGU AUGUUCGCCUCA AUGCCAG	225

ES 2 553 442 T3

<i>miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUU GACAGCCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUU CCAUAGGUCACAGGUAGUUCGCCUCA AUGCCAGC	226
<i>miR-193-1</i>	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCGGGCGA GAUGAGGGUGUCGGAUCAACUGGCCUACAAAGUCCCA GUUCUCGGCCCCCG	227
<i>miR-193-2</i>	GCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCA ACUGGCCUACAAAAGUCCCAGU	228
<i>miR-194-1</i>	AUGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCCAUGUGGAC UGUGUACCAAUUCCAGUGGAGAUGCUGUUACUUUUG AUGGUUACCAA	229
<i>miR-194-2</i>	GUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAUUU CCAGUGGAGAUGCUGUUACUUUUGAU	230
<i>miR-195-1</i>	AGCUUCCCUGGCUCUAGCAGCACAGAAAUAUUGGCACA GGGAAGCGAGUCUGCCAAUAUUGGCUGUGCUGCUCCA GGCAGGGUGGUG	231
<i>miR-195-2</i>	UAGCAGCACAGAAAUAUUGGCACAGGGAAGCGAGUCU GCCAAUAUUGGCUGUGCUGCU	232
<i>miR-196-1</i>	CUAGAGCUUGAAUUGGAACUGCUGAGUGAAUAGGUA GUUUC AUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAACACAACA ACAUA AAAACCCCGAUUCACGGCAGUUCACUGCUC	233
<i>miR-196a-1</i>	GUGAAUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGUUU CUGAACACAACAACAUAUAAACCACCCGAUUCAC	234
<i>miR-196a-2 (miR-196-2)</i>	UGCUCGCUCAGCUGAUCUGUGGCUUAGGUAGUUUCAU GUUGUUGGGAUUGAGUUUGAACUCGGCAACAAGAAA CUGCCUGAGUACAUCAGUCGGUUUCGUCGAGGGC	235
<i>miR-196</i>	GUGAAUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGUUU CUGAACACAACAACAUAUAAACCACCCGAUUCAC	236
<i>miR-196b</i>	ACUGGUCGGUGAUUUAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGA UCCACCUUUCUCUCGACAGCACGACACUGCCUUCAUUA CUUCAGUUG	237
<i>miR-197</i>	GGCUGUGCCGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAAGAG CUCUUCACCCUUCACCACCUUCUCCACCCAGCAUGGCC	238
<i>miR-197-2</i>	GUGCAUGUGUAUGUAUGUGUGCAUGUGCAUGUGUAUG UGUAUGAGUGCAUGCGUGUGUC	239
<i>miR-198</i>	UCAUUGGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUCCUGUGAUUUU UCCUUCUUCUCUAUAGAAUAAAUGA	240
<i>miR-199a-1</i>	GCCAACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCU CAAUGUGUACAGUAGUCUGCACA UUGGUUAGGC	241
<i>miR-199a-2</i>	AGGAAGCUUCUGGAGAUCCUGCUCGCGCCAGUGU UCAGACUACCUGUUCAGGACAAUGCCGUUGUACAGUA GUCUGCACAUUGGUUAGACUGGGCAAGGGAGAGCA	242
<i>miR-199b</i>	CCAGAGGACACCUCACUCCGUCUACCCAGUGUUAGA CUAUCUGUUCAGGACUCCCAAUUGUACAGUAGUCUG CACAUUGGUUAGGCUGGGCUGGGUAGACCCUCGG	243
<i>miR-199s</i>	GCCAACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCU CAAUGUGUACAGUAGUCUGCACA UUGGUUAGGC	244
<i>miR-200a</i>	GCCGUGGCCAUCUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUC AGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAAUGAUGACGGC	245
<i>miR-200b</i>	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUCUACUGGGCAGCAU UGGAUGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAAUGA UGACGGCGGAGCCUUGCACG	246
<i>miR-200c</i>	CCCUCGUCUACCCAGCAGUGUUUGGGUGCGGUUGGG AGUCUCUAAUACUGCCGGGUAUUGAUGGAGG	247
<i>miR-202</i>	GUUCCUUUUCCUAUGCAUAUACUUCUUUGAGGAUCU GGCCUAAAAGAGGUUAAGGGCAUGGGAAGAUGGAGC	248
<i>miR-203</i>	GUGUUGGGACUCGCGCGCUGGGUCCAGUGGUUCUUA ACAGUUAACAGUUCUGUAGCGCAAUUGUGAAAUGUU UAGGACCACUAGACCCGGCGGGCGCGGACAGCGA	249
<i>miR-204</i>	GGCUACAGUCUUUCUUC AUGUGACUCGUGGACUCCCCU UUGUCAUCCU AUGCCUGAGAAUAUAUGAAGGAGGCUG GGAAGGCAAAGGGACGUUCAAUUGUCAUCACUGGC	250

ES 2 553 442 T3

<i>miR-205</i>	<u>AAAGAUCUCAGACAAUCCAUGUGCUUCUCUUGUCCUU</u> <u>CAUUCCACCGGAGUCUGUCUCAUACCCAACCAGAUUUC</u> <u>AGUGGAGUGAAGUUCAGGAGGCAUGGAGCUGACA</u>	251
<i>miR-206-1</i>	<u>UGCUUCCCCGAGGCCAC AUGCUUCUUUAUACCCCAUUAU</u> <u>GGAUUACUUUGCUAUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGU</u> <u>UUCGGCAAGUG</u>	252
<i>miR-206-2</i>	<u>AGGCCACAUGCUUCUUUAUACCCCAUUAUGGAUUACU</u> <u>UUGCUAUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUU</u>	253
<i>miR-208</i>	<u>UGACGGGCGAGCUUUUGGCCCGGGUUAUACCUGAUGC</u> <u>UCACGUAAAGACGAGCAAAAAGCUUGUUGGUCA</u>	254
<i>miR-210</i>	<u>ACCCGGCAGUGCCUCCAGGCCGAGGGCAGCCCCUGCCC</u> <u>ACCGCACACUGCGCUGCCCCAGACCCACUGUGCGUGUG</u> <u>ACAGCGGCUGAUCUGUGCCUGGGCAGCGCGACCC</u>	255
<i>miR-211</i>	<u>UCACCUGGCCAUGUGACUUGUGGGCUUCCCUUUGUCAU</u> <u>CCUUCGCCUAGGGCUCUGAGCAGGGCAGGGACAGCAAA</u> <u>GGGGUGCUCAGUUGUCACUUCACAGCACGGAG</u>	256
<i>miR-212</i>	<u>CGGGGCACCCCCGCCGACAGCGCGCCGGCACCUGGGC</u> <u>UCUAGACUGCUUACUGCCCCGGGCCGCCUCAGUAACAG</u> <u>UCUCCAGUCACGGCCACCGACGCCUGGCCCGCC</u>	257
<i>miR-213-2</i>	<u>CCUGUGCAGAGAUUAAUUUUAAAAGGUCACAUAUCA</u> <u>CAUUCAUUGCUGCGUGGGUUGAACUGUGUGGACAA</u> <u>GCUCACUGAAACAAUGAAUGCAACUGUGGCCCGCCU</u>	258
<i>miR-213</i>	<u>GAGUUUUGAGGUUGCUUCAGUGAACAUUCAACGCUGU</u> <u>CGGUGAGUUUGGAAUAAAUAUCAAACCAUCGACCGU</u> <u>UGAUUGUACCCUAUGGCCUAACCAUCAUCUACUCC</u>	259
<i>miR-214</i>	<u>GGCCUGGCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUC</u> <u>UACACUUGCUGUGCAGAACAUCCGCUCACCGUACAGC</u> <u>AGGCACAGACAGGCAGUCACAUGACAACCCAGCCU</u>	260
<i>miR-215</i>	<u>AUCAUUCAGAAAUGGUUAUACAGGAAAUGACCUAUGA</u> <u>AUUGACAGACAUAUAGCUGAGUUUGUCUCAUUAUC</u> <u>UUUAGGCCAAUAUUCUGUAUGACUGUGCUACUCAA</u>	261
<i>miR-216</i>	<u>GAUGGCUGUGAGUUGGCCUUAUUCUCAGCUGGCAACUG</u> <u>UGAGAUGUUCAUACA AUCCUCACAGUGGUCUCUGGG</u> <u>AUU AUGCUAAACAGAGCAAUUUCCUAGCCUCACGA</u>	262
<i>miR-217</i>	<u>AGUAUAAUUAUACAUAGUUUUUGAUGUCGCAGAUAC</u> <u>UGCAUCAGGAACUGAUUGGAUAAGAAUCAGUCACCAU</u> <u>CAGUUCCUAAUGCAUUGCCUUCAGCAUCUAAACAAG</u>	263
<i>miR-218-1</i>	<u>GUGAUAUUGUAGCGAGAUUUUCUGUUGUGCUUGAUCU</u> <u>AACCAUGUGGUUGCGAGGUUAUGAGUAAAACAUGGUUC</u> <u>CGUCAAGCACCAUGGAACGUCACGCAGCUUUCUACA</u>	264
<i>miR-218-2</i>	<u>GACCAGUCGUCGCGGGCUUUCUUGUGCUUGAUCU</u> <u>AACCAUGUGGUGGAACGAUGGAAACGGAACAUGGUUC</u> <u>UGUCAAGCACCCGCGAAAGCACCCGUGCUCUCCUGCA</u>	265
<i>miR-219</i>	<u>CCGCCCCGGGCCGCGGCCUCCUGAUUGUCCAAACGCAAU</u> <u>UCUCGAGUCUAUGGCUCGGCCGAGAGUUGAGUCUGG</u> <u>ACGUCCCCGAGCCGCCGCCCCAAACCUCGAGCGGG</u>	266
<i>miR-219-1</i>	<u>CCGCCCCGGGCCGCGGCCUCCUGAUUGUCCAAACGCAAU</u> <u>UCUCGAGUCUAUGGCUCGGCCGAGAGUUGAGUCUGG</u> <u>ACGUCCCCGAGCCGCCGCCCCAAACCUCGAGCGGG</u>	267
<i>miR-219-2</i>	<u>ACUCAGGGGCUUCGCCACUGAUUGUCCAAACGCAAUUC</u> <u>UUGUACGAGUCUGCGGCCAACCCGAGAAUUGUGGCUGG</u> <u>ACAUCUGUGGCUAGGCUCCGGG</u>	268
<i>miR-220</i>	<u>GACAGUGUGGCAUUGUAGGGCUCCACACCGUAUCUGA</u> <u>CACUUUGGGCGAGGGCACCAUGCUGAAGGUGUUAUG</u> <u>AUGCGGUCUGGGAACUCCUCACGGAUUCUACUGAUG</u>	269
<i>miR-221</i>	<u>UGAACAUCCAGGUCUGGGCAUGAACCUGGCAUACAA</u> <u>UGUAGAUUUCUGUGUUCGUUAGGCAACAGCUACAUUG</u> <u>UCUGCUGGGUUCAGGCUACCGGAAACAUGUUCUC</u>	270
<i>miR-222</i>	<u>GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCAUUGGCUCAGUA</u> <u>GCCAGUGUAGAUCUGUCUUUCGUAUACAGCAGCUAC</u> <u>AUCUGGCUACUGGGUCUCUGAUGGCAUCUUCUAGCU</u>	271
<i>miR-223</i>	<u>CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCUCCGUGUAUUUGACA</u> <u>AGCUGAGUUGGACACUCCAUGUGGUAGAGUGUCAGUU</u> <u>UGUCAAAUACCCCAAGUGCGGCACAUGCUUACCAG</u>	272

ES 2 553 442 T3

<i>miR-224</i>	GGGCUUUC AAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUG AUUGUGCAUUGUUUCAAAAUGGUGCCCUAGUGACUAC AAAGCCC	273
Nombre del precursor	Secuencia (5' a 3')*	SEC ID Nº
<i>miR-294-1 (chr16)</i>	CAAUCUUCUUUUAUCAUGGUUUUUAUUUUCAGUGCUUCCC UUUUGUGUGAGAGAAGAU	274
<i>miR-296</i>	AGGACCCUUC CAGAGGGCCCCCCCUC AAUCCUGUUGGCCU AAUUCAGAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCCUGAAGGGCUCU	275
<i>miR-299</i>	AAGAAAUGGUUUACCGUCCACAUAUAUUUGAAUAUGUAU GUGGGAUGGUA AACCGCUUCU	276
<i>miR-301</i>	ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUUAUUGCACUACUGUACUU UACAGCUAGCAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAAGCAUCUGAAAG CAGG	277
<i>miR-302a</i>	CCACCACUUA AACGUGGAUGUACUUGCUUUGAAACUAAAGA AGUAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGAUGG	278
<i>miR-302b</i>	GCUCCCUUCAACUUUAACAUGGAAGUGCUUUCUGUGACUUU AAAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUUAGUAGGAGU	279
<i>miR-302c</i>	CCUUUGCUUUAACAUGGGGGUACCUGCUGUGUGAAACAAAA GUAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGGAGG	280
<i>miR-302d</i>	CCUCUACUUUAACAUGGAGGCACUUGCUGUGAC AUGACAAA AAUAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGUGG	281
<i>miR-320</i>	GCUUCGCUCCCCUCCGCCUUCUCUUC CCGGUUCUCCCCGGAG UCGGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGGCGAAAAGGAUGAGGU	282
<i>miR-321</i>	UUGGCCUCCU AAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCACCC GGGGUAAAAGAAAGGCCGA	283
<i>miR-323</i>	UUGGUACUUGGAGAGAGGUGGUCCGUGGCGCGUUCGCUUUA UUUAUGGCGCACAUUACACGGUCGACCUCUUUGCAGUAUCU AAUC	284
<i>miR-324</i>	CUGACU AUGCCUCCCGCAUCCCUAGGGCAUUGGUGUAAA GCUGGAGACCCACUGCCCCAGGUGCUGCUGGGGUUGUAGU C	285
<i>miR-325</i>	AUACAGUGCUUGGUUCCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGUUUG UGACAUAAUUUGUUUAUUGAGGACCUCCUAUCAAUCAAGCA CUGUGCUAGGCUCUGG	286
<i>miR-326</i>	CUCAUCUGUCUGUUGGGCUGGAGGCAGGGCCUUUGUGAAGG CGGGUGGUGCUCAGAUCGCCUCUGGGCCUUCUCCAGCCC CGAGGCGGAUUA	287
<i>miR-328</i>	UGGAGUGGGGGGGCAGGAGGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAU ACAGCCCCUGGCCUCUCUGCCCUUCCGUCCCCUG	288
<i>miR-330</i>	CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGCUC UGCAAGAUAACCGAGCAAAGCACACGGCCUCGAGAGAGGC AGCGCUCUGCCC	289
<i>miR-331</i>	GAGUUUGGUUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGUAUGGUCCA GGGAUCCAGAUCAAACCAGGCCCUUGGGCCUAUCCUAGAA CCAACCUAAGCUC	290
<i>miR-335</i>	UGUUUUGAGCGGGGGUCAAGAGCAAUAACGAAAAAUGUUU GUCAUAAACCGUUUUUCAUUAUUGCUCCUGACCUCUCUCA UUUGCUAUAUUA	291
<i>miR-337</i>	GUAGUCAGUAGUUGGGGGUGGGAACGGCUUCAUACAGGA GUUGAUGCACAGUUAUCCAGCUCCUAUAUGAUGCCUUUCU CAUCCCUUCA	292
<i>miR-338</i>	UCUCCAACAUAUCCUGGUGCUGAGUGAUGACUCAGGCGAC UCCAGCAUCAGUAUUUUGUUGAAGA	293

ES 2 553 442 T3

<i>miR-339</i>	CGGGGCGGCCGCUCUCCUGUCCUCCAGGAGCUCACGUGUG CCUGCCUGUGAGCGCCUCGACGACAGAGCCGGCGCCUGCCCC AGUGUCUGCGC	294
<i>miR-340</i>	UUGUACCUGGUGUGAUUAAAGCAAUGAGACUGAUUGUC AUAUGUCGUUUGUGGAUCCGUCUCAGUUACUUUAUAGCCA UACCUGGUUUCUUA	295
<i>miR-342</i>	GAAACUGGGCUC AAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUUGAG GGACAUGGUAAUGGAAUUGUCUCACACAGAAAUCGCACCC GUCACCUUGGCCUACUUA	296
<i>miR-345</i>	ACCCAAACCCUAGGUCUGCUGACUCCUAGUCCAGGGCUCGU GAUGGCUGGUGGGCCUGAACGAGGGGUCUGGAGGCCUGGG UUUGAAUAUCGACAGC	297
<i>miR-346</i>	GUCUGUCUGCCCGAUGCCUGCCUCUCUGUUGCUCUGAAGG AGGCAGGGGCGUGGCCUCGAGCUGCCUGGGCAGAGCGGCUC CUGC	298
<i>miR-367</i>	CCAUUACUGUUGC UAAUAUGCAACUCUGUUGAAUAUAAAU GGAAUUGCACUUUAGCAAUGGUGAUGG	299
<i>miR-368</i>	AAAAGGUGGAUUAUCCUUCUAUGUUUAUGUUUUUAUGGU UAAACAUAAGAGGAAAUCCACGUUUU	300
<i>miR-369</i>	UUGAAGGGGAGAUCCGACCGUGUUUAUUCGCUUUUUGACUU CGAAUAAUACAUGGUUGAUCUUUUCUCAG	301
<i>miR-370</i>	AGACAGAGAAGCCAGGUCACGUCUCUGCAGUUACACAGCUC ACGAGUGCCUGCUGGGGUGGAACCUGGUCUGUCU	302
<i>miR-371</i>	GUGGCACUCAAAACUGUGGGGGCACUUUCUGCUCUCUGGUGA AAGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUAC	303
<i>miR-372</i>	GUGGGCCUCAAAUGUGGAGCACUAUUCUGAUGUCCAAGUGG AAAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCAC	304
<i>miR-373</i>	GGGAUACUCAAAAUGGGGGCGCUUCCUUUUUGUCUGUACU GGGAAGUGCUUCGAUUUUGGGGUGUCCC	305
<i>miR-374</i>	UACAUCGGCCAUUAUAUACAACCUGAUAAGUGUUUAAGCA CUUAUCAGAUUGUAUUGUAAUUGUCUGUGUA	306
<i>miR-hes1</i>	AUGGAGCUGCUCACCCUGUGGGCCUCAAAUGUGGAGGAACU AUUCUGAUGUCCAAGUGGAAAGUCUGCGACAUUUGAGCGU CACCGGUGACGCCAUUAUCA	307
<i>miR-hes2</i>	GCAUCCCCUCAGCCUGGGCACUCAAACUGUGGGGGCACUU UCUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUAC CGCUUGAGAAGACUCAACC	308
<i>miR-hes3</i>	CGAGGAGCUCAUACUGGGAUACUCAAAAUGGGGGCGCUUC CUUUUUGUCUGUACUGGGAAGUCUUCGAUUUUGGGGUG UCCUGUUUGAGUAGGGCAUC	309
<p>* Una secuencia subrayada dentro de una secuencia de precursor corresponde a un transcrito de miR procesado maduro (véase la Tabla 1b). Algunas secuencias de precursor tienen dos secuencias subrayadas que indican dos miR maduros diferentes que se obtienen a partir del mismo precursor. Todas las secuencias son humanas.</p>		

Tabla 1b - Secuencias de microRNA Maduro Humano.

Nombre de miRNA Maduro	Secuencia de miRNA Maduro (5' a 3')	SEC ID N°	microRNA precursor correspondiente(s); véase la Tabla 1a
<i>let-7a</i>	ugagguaguagguuguauaguuu	310	<i>let-7a-1; let-7a-2; let-7a-3; let-7a-4</i>
<i>let-7b</i>	ugagguaguagguuugugugguu	311	<i>let-7b</i>
<i>let-7c</i>	ugagguaguagguuguauugguu	312	<i>let-7c</i>
<i>let-7d</i>	agagguaguagguugcauagu	313	<i>let-7d; let-7d-v1</i>
<i>let-7e</i>	ugagguaggagguuguauagu	314	<i>let-7e</i>
<i>let-7f</i>	ugagguaguagauuguauaguuu	315	<i>let-7f-1; let-7f-2-1; let-7f-2-2</i>
<i>let-7g</i>	ugagguaguaguuuuguacagu	316	<i>let-7g</i>
<i>let-7i</i>	ugagguaguaguuuugugcu	317	<i>let-7i</i>
<i>miR-1</i>	uggaaguuaaagaaguaua	318	<i>miR-1b; miR-1b-1; miR-1b-2</i>
<i>miR-7</i>	uggaagacuagugauuuuguu	319	<i>miR-7-1; miR-7-1a; miR-7-2; miR-7-3</i>
<i>miR-9</i>	ucuuugguuauucugcuguaua	320	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-9*</i>	uaaagcuaguaaaccgaaagu	321	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-10a</i>	uaccuguaagaccgaaauugug	322	<i>miR-10a</i>
<i>miR-10b</i>	uaccuguaagaccgaaauugu	323	<i>miR-10b</i>
<i>miR-15a</i>	uagcagcacauaauugguuugug	324	<i>miR-15a; miR-15a-2</i>
<i>miR-15b</i>	uagcagcacaucauuguuuaca	325	<i>miR-15b</i>
<i>miR-16</i>	uagcagcacguuaauuuggcg	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>	uaaagugcuuauagugcagguu	332	<i>miR-20 (miR-20a)</i>
<i>miR-21</i>	uagcuuauagcagucaguuuga	333	<i>miR-21; miR-21-17</i>
<i>miR-22</i>	aagcugccaguuagaagaacugu	334	<i>miR-22</i>
<i>miR-23a</i>	aucacauugccagggaauuucc	335	<i>miR-23a</i>
<i>miR-23b</i>	aucacauugccagggaauuaccac	336	<i>miR-23b</i>
<i>miR-24</i>	uggcucaguuacagcaggaacag	337	<i>miR-24-1; miR-24-2; miR-24-19; miR-24-9</i>
<i>miR-25</i>	cauugcacuugucucggucuga	338	<i>miR-25</i>
<i>miR-26a</i>	uucaaguauuaccaggauaggcu	339	<i>miR-26a; miR-26a-1; miR-26a-2</i>
<i>miR-26b</i>	uucaaguauuaccaggauaggu	340	<i>miR-26b</i>
<i>miR-27a</i>	uucacaguggcuaguuuccgcc	341	<i>miR-27a</i>
<i>miR-27b</i>	uucacaguggcuaguuuccgcu	342	<i>miR-27b-1; miR-27b-2</i>
<i>miR-28</i>	aaggagcucacagucuaauugag	343	<i>miR-28</i>
<i>miR-29a</i>	cuagcaccacuguaauucgguu	344	<i>miR-29a-2; miR-29a</i>
<i>miR-29b</i>	uagcaccuuugaaucaguu	345	<i>miR-29b-1; miR-29b-2</i>
<i>miR-29c</i>	uagcaccuuugaaucgguuu	346	<i>miR-29c</i>
<i>miR-30a-5p</i>	uguaaacaucucgacuggaagc	347	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30a-3p</i>	cuuucagucggauguuugcagc	348	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30b</i>	uguaaacaucucacacucagc	349	<i>miR-30b-1; miR-30b-2</i>
<i>miR-30c</i>	uguaaacaucucacacucagc	350	<i>miR-30c</i>
<i>miR-30d</i>	uguaaacaucuccgacuggaag	351	<i>miR-30d</i>
<i>miR-30e</i>	uguaaacaucucgacugga	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>	aggcagugucuuagcugauug	358	<i>miR-34c</i>
<i>miR-92</i>	uauugcacuuguccggccugu	359	<i>miR-92-2; miR-92-1</i>
<i>miR-93</i>	aaagugcuguuucgucagguag	360	<i>miR-93-1; miR-93-2</i>
<i>miR-95</i>	uucaacggguuuuuuugagca	361	<i>miR-95</i>
<i>miR-96</i>	uuuggcacuagcacuuuuugc	362	<i>miR-96</i>
<i>miR-98</i>	ugagguaguagauguauuuguu	363	<i>miR-98</i>
<i>miR-99a</i>	aaccgugaagaccgacuuugug	364	<i>miR-99a</i>
<i>miR-99b</i>	caccgugaagaccgacuuugcg	365	<i>miR-99b</i>
<i>miR-100</i>	uacaguacuguguaaacugaag	366	<i>miR-100</i>

ES 2 553 442 T3

<i>miR-191</i>	caacggaaucccaaaagcagcu	427	<i>miR-191-1; miR-191-2</i>
<i>miR-192</i>	cugaccuauugaaugacagcc	428	<i>miR-192</i>
<i>miR-193</i>	aacuggccuacaaagucccag	429	<i>miR-193-1; miR-193-2</i>
<i>miR-194</i>	uguaacagcaacuccaugugga	430	<i>miR-194-1; miR-194-2</i>
<i>miR-195</i>	uagcagcacagaaauuuggc	431	<i>miR-195-1; miR-195-2</i>
<i>miR-196a</i>	uagguaguuucauguuugg	432	<i>miR-196a; miR-196a-2 (miR196-2)</i>
<i>miR-196b</i>	uagguaguuuuccuguuugg	433	<i>miR-196b</i>
<i>miR-197</i>	uuccaccuccuuccaccagc	434	<i>miR-197</i>
<i>miR-198</i>	gguccagaggggagauagg	435	<i>miR-198</i>
<i>miR-199a</i>	cccaguguucagacuaccuguuc	436	<i>miR-199a-1; miR-199a-2</i>
<i>miR-199a*</i>	uacaguagucugcacauugguu	437	<i>miR-199a-1; miR-199a-2; miR-199s; miR-199b</i>
<i>miR-199b</i>	cccaguguuuagacuaucuguuc	438	<i>miR-199b</i>
<i>miR-200a</i>	uaacacugucugguaacgaugu	439	<i>miR-200a</i>
<i>miR-200b</i>	cucuaauacugccugguaaugaug	440	<i>miR-200b</i>
<i>miR-200c</i>	aaucacugccgggaaaugaugga	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>	uucccuuugucauccaugccu	444	<i>miR-204</i>
<i>miR-205</i>	uccuucuuuccaccggagucug	445	<i>miR-205</i>
<i>miR-206</i>	uggaauguaaggagugugugg	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>	uucccuuugucauccuucgcu	449	<i>miR-211</i>
<i>miR-212</i>	uaacagucuccagucacggcc	450	<i>miR-212</i>
<i>miR-213</i>	accaucgaccguugauuguacc	451	<i>miR-213</i>
<i>miR-214</i>	acagcaggcacagacaggcag	452	<i>miR-214</i>
<i>miR-215</i>	augaccuauugaaugacagac	453	<i>miR-215</i>
<i>miR-216</i>	uaaucucagcuggcaacugug	454	<i>miR-216</i>
<i>miR-217</i>	uacugcaucaggaacugauuggau	455	<i>miR-217</i>
<i>miR-218</i>	uugugcuugaucuaaccaugu	456	<i>miR-218-1; miR-218-2</i>
<i>miR-219</i>	ugauuguccaaacgcaauucu	457	<i>miR-219; miR-219-1; miR-219-2</i>
<i>miR-220</i>	ccacaccguaucugacacuuu	458	<i>miR-220</i>
<i>miR-221</i>	agcuacauugucugcuggguuuc	459	<i>miR-221</i>
<i>miR-222</i>	agcuacauucuggcuacuggucuc	460	<i>miR-222</i>
<i>miR-223</i>	ugucaguuuugcaaaauacccc	461	<i>miR-223</i>
<i>miR-224</i>	caagucacuagguuuccguuuu	462	<i>miR-224</i>
<i>miR-296</i>	agggcccccccauuccugu	463	<i>miR-296</i>
<i>miR-299</i>	ugguuuaccgucccauacau	464	<i>miR-299</i>
<i>miR-301</i>	cagugcaauaguauuugcaaacg	465	<i>miR-301</i>
<i>miR-302a</i>	uaagugcuuccauguuuugguga	466	<i>miR-302a</i>
<i>miR-302b*</i>	acuuuaacauggaagugcuuuu	467	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302b</i>	uaagugcuuccauguuuaguag	468	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302c*</i>	uuuaacauggggguaccugcug	469	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302c</i>	uaagugcuuccauguuucagugg	470	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302d</i>	uaagugcuuccauguuugagugu	471	<i>miR-302d</i>
<i>miR-320</i>	aaaagcuggguugagagggcgaa	472	<i>miR-320</i>
<i>miR-321</i>	uaagccaggggauugggguuc	473	<i>miR-321</i>
<i>miR-323</i>	gcacauuacacggucgaccucu	474	<i>miR-323</i>
<i>miR-324-5p</i>	cgcaucccuagggaucuggugu	475	<i>miR-324</i>
<i>miR-324-3p</i>	ccacugcccaggugcugcugg	476	<i>miR-324</i>
<i>miR-325</i>	ccuaguaggguccaguuagu	477	<i>miR-325</i>
<i>miR-326</i>	ccucugggcccuuccuccag	478	<i>miR-326</i>
<i>miR-328</i>	cuggccucucugcccuuccgu	479	<i>miR-328</i>
<i>miR-330</i>	gcaaagcacacggccucgagaga	480	<i>miR-330</i>
<i>miR-331</i>	gcccugggccuauccuagaa	481	<i>miR-331</i>
<i>miR-335</i>	ucaagagcaauaacgaaaaugu	482	<i>miR-335</i>
<i>miR-337</i>	uccagcuccuauaugaugccuuu	483	<i>miR-337</i>
<i>miR-338</i>	uccagcaucagugauuuuguuga	484	<i>miR-338</i>
<i>miR-339</i>	ucccuguccuccaggagcuca	485	<i>miR-339</i>
<i>miR-340</i>	uccgucucaguauacuuuauagcc	486	<i>miR-340</i>

<i>miR-342</i>	ucucacacagaaaucgcaccgcuc	487	<i>miR-342</i>
<i>miR-345</i>	ugcugacuccuaguccagggc	488	<i>miR-345</i>
<i>miR-346</i>	ugucugcccgaugccugccucu	489	<i>miR-346</i>
<i>miR-367</i>	aauugcacuuuagcaugguga	490	<i>miR-367</i>
<i>miR-368</i>	acauagaggaaauccacguuu	491	<i>miR-368</i>
<i>miR-369</i>	aaauaauacaugguugaucuuu	492	<i>miR-369</i>
<i>miR-370</i>	gccugcugggguggaaccugg	493	<i>miR-370</i>
<i>miR-371</i>	gugccgccaucuuugagugu	494	<i>miR-371</i>
<i>miR-372</i>	aaagugcugcgacauuugagcgu	495	<i>miR-372</i>
<i>miR-373*</i>	acucaaaaugggggcgcuuucc	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>

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

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

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

El producto génico de miR puede no ser uno o más de let7a-2, let-7c, let-7g, let-7i, miR-7-2, miR-7-3, miR-9, miR-9-1, miR-10a, miR-15a, miR-15b, miR-16-1, miR-16-2, miR-17-5p, miR-20a, miR-21, miR-24-1, miR-24-2, miR-25, miR-29b-2, miR-30, miR-30a-5p, miR-30c, miR-30d, miR-31, miR-32, miR-34, miR-34a, miR-34a prec, miR-34a-1, miR-34a-2, miR-92-2, miR-96, miR-99a, miR-99b prec, miR-100, miR-103, miR-106a, miR-107, miR-123, miR-124a-1, miR-125b-1, miR-125b-2, miR-126*, miR-127, miR-128b, miR-129, miR-129-1/2 prec, miR-132, miR-135-1, miR-136, miR-137, miR-141, miR-142-as, miR-143, miR-146, miR-148, miR-149, miR-153, miR-155, miR 159-1, miR-181,

miR-181b-1, miR-182, miR-186, miR-191, miR-192, miR-195, miR-196-1, miR-196-1 prec, miR-196-2, miR-199a-1, miR-199a-2, miR-199b, miR-200b, miR-202, miR-203, miR-204, miR-205, miR-210, miR-211, miR-212, miR-214, miR-215, miR-217, miR-221 y/o miR-223.

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

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

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

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

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

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

65 El número relativo de transcritos del gen miR en las células también se puede determinar por transcripción inversa de los transcritos del gen miR, seguida por la amplificación de los transcritos transcritos inversamente por reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). Los niveles de transcritos del gen miR se pueden cuantificar comparándolos

con una referencia interna, por ejemplo, el nivel de ARNm de un gen constitutivo presente en la misma muestra. Un gen constitutivo adecuado para su uso como referencia interna incluye, por ejemplo, el de la miosina o la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH). Los procedimientos para llevar a cabo la RT-PCR cuantitativa y semicuantitativa y variaciones de las mismas, son bien conocidos por los expertos en la técnica.

5 En algunos casos, puede ser deseable determinar simultáneamente el nivel de expresión de una pluralidad de diferentes productos génicos de miR en una muestra. En otros casos, puede ser deseable determinar el nivel de expresión de los transcritos de todos los genes miR conocidos que se correlacionan con un cáncer. Evaluar los niveles de expresión específicos del cáncer para cientos de genes miR o productos génicos tarda mucho tiempo y necesita una gran cantidad de ARN total (por ejemplo, al menos 20 mg para cada transferencia de Northern) y las técnicas autorradiográficas necesitan isótopos radiactivos.

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

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

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

65 La micromatriz se puede preparar con oligonucleótidos sonda específicos de un gen generados a partir de secuencias conocidas de miARN. La matriz puede contener dos oligonucleótidos sonda diferentes para cada miARN, uno que contiene la secuencia madura, activa y el otro que es específico para el miARN precursor. La matriz

también puede contener controles, tales como una o más secuencias de ratón que se diferencian de los ortólogos humanos solamente en unas pocas bases, que pueden servir como controles para las condiciones de rigurosidad de la hibridación. Se pueden imprimir en el microchip ARNt y otros ARN (por ejemplo, ARNr, ARNm) de ambas especies, proporcionando un control interno positivo de hibridación específica, relativamente estable. También se pueden incluir en el microchip uno o más controles apropiados de hibridación no específica. Con este propósito, las secuencias se seleccionan basándose en la ausencia de cualquier homología con cualquiera de los miARN conocidos.

La micromatriz puede fabricarse utilizando técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, los oligonucleótidos sonda de una longitud apropiada, por ejemplo, 40 nucleótidos, se modifican en 5'-amino en la posición C6 y se imprimen utilizando los sistemas de micromatrices disponibles en el mercado, por ejemplo el GeneMachine OmniGrid™ 100 Microarrayer y portaobjetos activados Amersham CodeLink™. El oligómero ADNc marcado correspondiente a los ARN diana se prepara por transcripción inversa del ARN diana con el cebador marcado. Después de la síntesis de la primera cadena, los híbridos ARN/ADN se desnaturalizan para degradar las matrices. Los ADNc marcados preparados de esta manera se hibridan con el chip de la micromatriz bajo condiciones de hibridación, por ejemplo SSPE 6X /formamida al 30 % a 25° C durante 18 horas y a continuación lavándolo con TNT 0,75x a 37° C durante 40 minutos. La hibridación se produce en las posiciones de la matriz en las que la sonda ADN inmovilizada reconoce un ADNc diana complementario de la muestra. El ADNc diana marcado marca la posición exacta en la matriz donde se produce la unión, permitiendo la detección automática y la cuantificación. El resultado consiste en un lista de acontecimientos de hibridación, indicando la abundancia relativa de las secuencias específicas de ADNc y por tanto la abundancia relativa de los correspondientes miR complementarios, en la muestra del paciente. El oligómero ADNc marcado puede ser un ADNc marcado con biotina, preparado a partir de un cebador marcado con biotina. La micromatriz se procesa entonces por detección directa de los transcritos que contienen biotina utilizando, por ejemplo, Streptavidina-Alexa647 conjugada y seleccionada utilizando los procedimientos de selección convencionales. Las intensidades de las imágenes de cada mancha en la matriz son proporcionales a la abundancia del correspondiente miR en la muestra del paciente.

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

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

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

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

Esta divulgación también abarca procedimientos para determinar el pronóstico de un sujeto con cáncer de pulmón, que comprenden la medición del nivel de al menos un producto génico de miR, que se asocia con un pronóstico concreto en el cáncer de pulmón (por ejemplo, un pronóstico bueno o favorable, un pronóstico malo o adverso) en una muestra de ensayo del sujeto. Según estos procedimientos, una alteración en el nivel de un producto génico de miR que se asocia con un pronóstico concreto, en la muestra de ensayo, al compararse con el nivel del correspondiente producto génico de miR en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer de pulmón con un pronóstico concreto. El producto génico de miR se puede asociar con un pronóstico adverso (es decir, malo). Los ejemplos de un pronóstico adverso incluyen, sin limitación, baja tasa de supervivencia y progresión rápida de la enfermedad. El al menos un producto génico de miR asociado a un pronóstico concreto se puede

seleccionar entre el grupo que consiste en miR-155, miR-17-3p, miR-106a, miR-93, let-7a-2, miR-145, let-7b, miR-20 y miR-21. El cáncer de pulmón puede ser un adenocarcinoma y el al menos un producto génico de miR asociado a un pronóstico particular puede seleccionarse entre el grupo que consiste en miR-155 y let-7a-2. El nivel del al menos un producto génico de miR puede medirse haciendo la transcripción inversa del ARN de una muestra de ensayo
 5 obtenida de un sujeto para proporcionar una serie de oligodesoxinucleótidos diana, hibridando los oligodesoxinucleótidos diana con una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para proporcionar un perfil de hibridación de la muestra de ensayo y comparando el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con el perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control.

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

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

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

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

65 El producto génico de miR aislado que está desregulado en el cáncer de pulmón puede seleccionarse entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-192-prec, miR-224, miR-

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

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

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

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

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

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

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

Como se utiliza en el presente documento, un producto génico de miR “aislado” es uno que se sintetiza o se altera o se extrae de su estado natural por medio de la intervención humana. Por ejemplo, un producto génico de miR sintético o un producto génico de miR separado parcial o completamente de los materiales con los que coexiste en su estado natural, se considera que está “aislado”. Un producto génico de miR aislado puede existir en una forma sustancialmente purificada o puede existir en una célula a la que se le ha suministrado el producto génico de miR. Por tanto, un producto génico de miR que se ha suministrado deliberadamente a o se ha expresado en, una célula, se considera un producto génico de miR “aislado”. Un producto génico de miR producido dentro de una célula a partir de una molécula precursora de un miR también se considera que es una molécula “aislada”. Los productos

génicos de miR aislados descritos en el presente documento se pueden utilizar para la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer de pulmón en un sujeto (por ejemplo, un ser humano).

5 Los productos génicos de miR aislados se pueden obtener utilizando varias técnicas de referencia. Por ejemplo, los productos génicos de miR se pueden sintetizar químicamente o producirse de forma recombinante utilizando procedimientos conocidos en la técnica. Los productos génicos de miR pueden sintetizarse químicamente utilizando fosforamiditas de nucleósido protegidas apropiadamente y un sintetizador convencional de ADN/ARN. Se incluyen entre los proveedores comerciales de moléculas sintéticas de ARN o reactivos de síntesis, por ejemplo, Prologo (Hamburgo, Alemania), Dharmacon Research (Lafayette, CO, U.S.A.), Pierce Chemical (parte de Perbio Science, 10 Rockford, IL, U.S.A.), Glen Research (Sterling, VA, U.S.A.), ChemGenes (Ashland, MA, U.S.A.) y Cruachem (Glasgow, RU).

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

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

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

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

45 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 temprano intermedio del CMV. Como se utiliza en el presente documento, "bajo el control" de un promotor significa que las secuencias del ácido nucleico que codifican el producto génico de miR están localizados en el 3' del promotor, de forma que el promotor puede iniciar la transcripción de las secuencias codificantes del producto génico de miR.

50 Los productos génicos de miR también se pueden expresar a partir de vectores virales recombinantes. Se considera que los productos génicos de miR se pueden expresar a partir de dos vectores virales recombinantes separados o a partir del mismo vector viral. El ARN expresado a partir de vectores virales recombinantes puede aislarse de sistemas de expresión de cultivos celulares por técnicas de referencia o puede expresarse directamente en las células cancerosas. El uso de vectores virales recombinantes para suministrar los productos génicos de miR a las 55 células cancerosas se trata con mayor detalle posteriormente.

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

65 Se puede utilizar cualquier vector viral capaz de aceptar las secuencias codificantes para los productos génicos de miR; por ejemplo, vectores que derivan de adenovirus (AV); adenovirus asociados (AAV); retrovirus (por ejemplo, lentivirus (LV), rabdovirus, virus de leucemia murina); herpesvirus y similares. El tropismo de los vectores virales se

puede modificar seudotipando los vectores con envueltas de proteínas u otros antígenos de superficie de otros virus o sustituyendo diferentes proteínas de la cápside vírica, según sea apropiado.

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

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

Son particularmente adecuados los vectores derivados de AV y AAV. Un vector AV adecuado para expresar los productos génicos de miR, un procedimiento para construir un vector AV recombinante y un procedimiento para suministrar el vector en las células diana, se describen en Xia y col. (2002), *Nat. Biotech.* 20: 1006-1010. Los vectores AAV adecuados para expresar los productos génicos de miR, los procedimientos para construir el vector AAV recombinante y los procedimientos para suministrar los vectores en las células diana se describen en Samulski y col. (1987), *J. Virol.* 61: 3096-3101; Fisher y col. (1996), *J. Virol.*, 70: 520-532; Samulski y col. (1989), *J. virol.* 63: 3822-3826; Patente de Estados Unidos Nº 5.252.479; Patente de Estados Unidos Nº 5.139.941; Solicitud de Patente Internacional Nº WO 94/13788; y Solicitud de Patente Internacional Nº WO 93/24641. Los productos génicos de miR pueden expresarse de un vector AAV recombinante único que comprende el promotor temprano intermedio del CMV.

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

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

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

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

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

Por ejemplo, la expresión de un determinado gen miR se puede inhibir induciendo la interferencia de ARN del gen

miR con una molécula aislada de ARN de doble cadena (ARNds) que tiene al menos el 90 %, por ejemplo al menos el 95 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %, de homología de secuencia con al menos una parte del producto génico de miR. La molécula de ARNds puede ser un "ARN corto o pequeño interferente" o "ARNsi".

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

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

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

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

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

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

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

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

65 La expresión de un determinado gen miR también se puede inhibir por un ácido nucleico enzimático. Como se utiliza en el presente documento, un "ácido nucleico enzimático" se refiere a un ácido nucleico que comprende una región

de unión al sustrato que tiene complementariedad con una secuencia de ácido nucleico contigua de un producto génico de miR y que es capaz de escindir específicamente el producto génico de miR. La región de unión al sustrato del ácido nucleico enzimático puede ser, por ejemplo, complementaria en un 50-100 %, complementaria en un 75-100 % o complementaria en un 95-100 % con una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. Los ácidos nucleicos enzimáticos también pueden comprender modificaciones en la base, azúcar y/o grupos fosfato. Un ácido nucleico enzimático ejemplar para su uso en los presentes procedimientos es una ribozima.

Los ácidos nucleicos enzimáticos se pueden producir química o biológicamente o se pueden expresar a partir de un plásmido recombinante o un vector viral, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR aislados. Los procedimientos ilustrativos para producir y ensayar moléculas de ARNs o ARNs_i se describen en Werner and Uhlenbeck (1995), Nucl. Acids Res. 23: 2092-96; Hammann y col. (1999), Antisense and Nucleic Acid Drug Dev. 9: 25-31; y Patente de Estados Unidos N° 4.987.071 de Cech y col.

La administración de al menos un producto génico de miR o al menos un compuesto para inhibir la expresión de miR inhibirá la proliferación de las células cancerosas en un sujeto que tenga un cáncer (por ejemplo, un cáncer de pulmón). Como se utiliza en el presente documento, "inhibir la proliferación de una célula cancerosa" significa matar la célula o arrestarla temporal o permanentemente o ralentizar el crecimiento de la célula. La inhibición de la proliferación celular del cáncer se puede inferir si el número de tales células en el sujeto permanece constante o disminuye tras la administración de los productos génicos de miR o de los compuestos inhibidores de la expresión génica de miR. Una inhibición de la proliferación celular del cáncer también se puede inferir si el número absoluto de tales células aumenta, pero la tasa de crecimiento del tumor disminuye.

El número de células cancerosas en el cuerpo de un sujeto se puede determinar por medición directa o por estimación a partir del tamaño de las masas tumorales primaria o metastásica. Por ejemplo, el número de células en un sujeto se puede medir por procedimientos inmunohistológicos, citometría de flujo, u otras técnicas diseñadas para detectar los marcadores de superficie característicos de las células cancerosas.

El tamaño de una masa tumoral puede determinarse por observación visual directa o por procedimientos de diagnóstico por imagen, tales como rayos X, imágenes de resonancia magnética, ultrasonidos y centellografía. Los procedimientos de diagnóstico por imagen que se usan para determinar el tamaño de una masa tumoral se pueden utilizar con o sin agentes de contraste, como se conoce en la técnica. El tamaño de una masa tumoral también puede determinarse por medios físicos, tales como palpación del tejido de la masa o medición del tejido de la masa con un instrumento de medida, tal como un calibre.

Los productos génicos de miR o los compuestos inhibidores de la expresión génica de miR se pueden administrar a un sujeto por cualquier medio adecuado para suministrar estos compuestos a las células cancerosas del sujeto. Por ejemplo, los productos génicos de miR o los compuestos inhibidores de la expresión de miR se pueden administrar por procedimientos adecuados para transfectar células del sujeto con estos compuestos o con ácidos nucleicos que comprenden secuencias que codifican estos compuestos. Las células se pueden transfectar con un plásmido o un vector viral que comprenden secuencias que codifican al menos un producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica el miR.

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

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

Un producto génico de miR o el compuesto inhibidor de la expresión génica de miR también se pueden administrar a un sujeto por cualquier vía de administración adecuada entérica o parenteral. Las vías adecuadas de administración entérica para los presentes procedimientos incluyen, por ejemplo, el suministro oral, rectal o intranasal. Las vías de administración parenteral adecuadas incluyen, por ejemplo, la administración intravascular (por ejemplo, la inyección intravenosa en bolo, la infusión intravenosa, la inyección intra-arterial en bolo, la infusión intra-arterial y la instilación por catéter en el sistema vascular); la inyección peri e intratisular (por ejemplo, la inyección peri-tumoral e intra-tumoral, la inyección intrarretiniana o la inyección subretiniana); la inyección subcutánea o de depósito, incluyendo la infusión subcutánea (tal como las bombas osmóticas); la aplicación directa sobre el tejido de interés, por ejemplo por medio de un catéter u otro dispositivo de aplicación (por ejemplo, un microgránulo retiniano o un supositorio o un implante que comprenda un material poroso, no poroso o gelatinoso); y por inhalación. Las vías de administración particularmente adecuadas son la inyección, la infusión y la inyección directa en el tumor.

En los presentes procedimientos, un producto génico de miR o un compuesto inhibidor de la expresión génica de un

miR se puede administrar al sujeto o bien como ARN desnudo, en combinación con un reactivo de suministro o bien como un ácido nucleico (por ejemplo, un plásmido recombinante o un vector viral) que comprendan secuencias que expresan el producto génico de miR o el compuesto inhibidor de la expresión génica de miR. Los reactivos de suministro adecuados incluyen, por ejemplo, el reactivo lipófilo Mirus Transit TKO; LIPOFECTINA; lipofectamina; cellfectina; policationes (por ejemplo, la polilisina) y liposomas.

Los plásmidos recombinantes y los vectores virales comprenden secuencias que expresan los productos génicos de miR o los compuestos inhibidores de la expresión génica el miR y las técnicas para suministrar tales plásmidos y vectores a las células cancerosas, se tratan en el presente documento y/o son bien conocidas en la técnica.

Se pueden usar liposomas para suministrar el producto génico de miR o el compuesto inhibidor de la expresión génica de miR (o ácidos nucleicos que comprenden secuencias que los codifican) a un sujeto. Los liposomas también pueden aumentar la vida media sanguínea de los productos génicos o los ácidos nucleicos. Los liposomas adecuados para su uso en la divulgación se pueden formar a partir de los lípidos formadores de vesículas de referencia, que generalmente incluyen fosfolípidos cargados negativamente o neutros y un esteroles, tal como el colesterol. La selección de los lípidos está guiada generalmente por la consideración de ciertos factores, tales como el tamaño deseado del liposoma y la vida media de los liposomas en la corriente sanguínea. Se conoce varios procedimientos para preparar liposomas, por ejemplo, los que se describen en Szoka y col. (1980), Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9: 467; y Patentes de Estados Unidos N° 4.235.871, 4.501.728, 4.837.028 y 5.019.369.

Los liposomas para su uso en los presentes procedimientos pueden comprender una molécula ligando que dirija el liposoma a las células cancerosas. Se prefieren los ligandos que se unen a los receptores prevalentes en las células cancerosas, tales como los anticuerpos monoclonales que se unen a los antígenos celulares del tumor.

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

Los restos inhibidores de la opsonización para su uso en la preparación de los liposomas desvelados son normalmente grandes polímeros hidrófilos que se unen a la membrana del liposoma. Como se utiliza en el presente documento, un resto inhibidor de la opsonización se "une" a la membrana de un liposoma cuando se fija química o físicamente a la membrana, por ejemplo, por intercalación de un ancla liposoluble en la misma membrana o uniéndose directamente a grupos activos de los lípidos de la membrana. Estos polímeros hidrófilos inhibidores de la opsonización forman una capa de superficie protectora que disminuye significativamente la captación de los liposomas por el MMS y RES; por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.920.016.

Los restos inhibidores de la opsonización adecuados para modificar los liposomas son preferentemente polímeros solubles en agua con un peso molecular medio de aproximadamente 500 a aproximadamente 40.000 Dalton y más preferentemente de aproximadamente 2.000 a aproximadamente 20.000 Dalton. Tales polímeros incluyen el polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol (PPG) o derivados de los mismos; por ejemplo, metoxi PEG o PPG y estearato de PEG o PPG; polímeros sintéticos, tales como poli(acrilamida) o poli N-vinil pirrolidona; poliamidoaminas lineales, ramificadas o dendríméricas; ácidos poli(acrílicos), polialcoholes, por ejemplo, alcohol polivinílico y polixilitol a los que se unen químicamente los grupos amino o carboxílico, así como gangliósidos, tales como el gangliósido GM1. También son adecuados los copolímeros de PEG, metoxiPEG o metoxiPPG o derivados de los mismos. Además, el polímero inhibidor de la opsonización puede ser un copolímero de bloque de PEG y o un poliaminoácido, polisacárido, poliamidoamina, polietilenoamina o polinucleótido. Los polímeros inhibidores de la opsonización también pueden ser polisacáridos naturales que contengan aminoácidos o ácidos carboxílicos, por ejemplo, ácido galacturónico, ácido glucurónico, ácido manurónico, ácido hialurónico, ácido péptico, ácido neuramínico, ácido alginico, carragenano; polisacáridos u oligosacáridos aminados (lineales o ramificados); o polisacáridos u oligosacáridos carboxilados, por ejemplo, que reaccionan con derivados de ácidos carbónicos con el resultado de unión de grupos carboxílicos. Preferentemente, el resto inhibidor de la opsonización es un PEG, PPG o un derivado de los mismos. Los liposomas modificados con PEG o derivados del PEG se llaman a veces "liposomas PEGilados".

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

Los liposomas modificados con restos inhibidores de la opsonización permanecen en la circulación mucho más tiempo que los liposomas que no están modificados. Por esta razón, tales liposomas a veces se denominan liposomas "furtivos". Los liposomas furtivos se conocen por acumularse en los tejidos irrigados por un sistema microvascular poroso o "permeable". Por tanto, el tejido que se caracteriza por esos defectos en el sistema microvascular, como por ejemplo, los tumores sólidos (por ejemplo, los cánceres de pulmón), acumularán eficazmente estos liposomas; véase Gabizon y col. (1988), Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 18: 6949-53. Además, su

reducida captación por el RES disminuye la toxicidad de los liposomas furtivos previniendo significativamente la acumulación de los liposomas en el hígado y el bazo. Por tanto, los liposomas que se han modificado con restos inhibidores de la opsonización son particularmente adecuados para suministrar los productos génicos de miR o los compuestos inhibidores de la expresión génica de miR (o los ácidos nucleicos que comprenden secuencias que los codifican) a las células tumorales.

Los productos génicos de miR o los compuestos inhibidores de la expresión génica de miR se pueden formular como composiciones farmacéuticas, a veces llamadas "medicamentos", antes de administrarlos a un sujeto, según las técnicas conocidas en la técnica. En consecuencia, esta divulgación engloba composiciones farmacéuticas para tratar el cáncer de pulmón. La composición farmacéutica puede comprender al menos un producto génico de miR aislado o una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. El al menos un producto génico de miR puede corresponder con un producto génico de miR que tiene un nivel de expresión disminuido en las células del cáncer de pulmón con respecto a las células de control adecuadas. El producto génico de miR se puede seleccionar entre el grupo que consiste en miR-126*, miR-192, miR-224, miR-126, miR-30a-5p, miR-140, miR-9, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216, miR-219-1, miR-125a, miR-26a-1, miR-199b, let-7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125b-1, let-7f-1 y una combinación de los mismos. El producto génico de miR aislado puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-210 o miR-212. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-143, miR-205 o miR-9. Como alternativa, el 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-212 o miR-9.

Como alternativa, las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un compuesto inhibidor de la expresión de miR. El al menos un compuesto inhibidor de la expresión génica de miR puede ser específico para un gen miR cuya expresión es mayor en las células del cáncer de pulmón que en las células de control. El compuesto inhibidor de la expresión génica de miR puede ser específico para uno o más productos génicos de miR seleccionados entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-210, miR-155, miR-205, miR-24-2, miR-212, miR-214, miR-17-3p, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-146, miR-203, miR-150 y una combinación de los mismos. El producto génico de miR aislado puede no ser específico para miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser específico para miR-210 o miR-212. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser específico para miR-21, miR-143, miR-205 o miR-9. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser específico para miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-126, miR-30a-5p, miR-140, miR-214, miR-218-2, miR-145, miR-106a, miR-192, miR-203, miR-150, miR-220, miR-212 o miR-9.

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

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

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

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

Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender excipientes y/o aditivos farmacéuticos convencionales. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen estabilizadores, antioxidantes, agentes para

ajustar la osmolalidad, tampones y agentes para ajustar el pH. Los aditivos adecuados incluyen, por ejemplo, tampones fisiológicamente biocompatibles (por ejemplo, hidrocloreto de trometamina), adiciones de quelantes (tales como, por ejemplo, DTPA o DTPA-bisamida) o complejos quelantes del calcio (tales como, por ejemplo, DTPA cálcico o CaNaDTPA-bisamida) u, opcionalmente, adiciones de sales de calcio o sodio (por ejemplo, cloruro cálcico, ascorbato cálcico, gluconato cálcico o lactato cálcico). Las composiciones farmacéuticas pueden envasarse para su uso en forma líquida o pueden estar liofilizados.

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

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

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

Esta divulgación también engloba procedimientos para identificar un agente anticáncer de pulmón, que comprende proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR en la célula. El procedimiento puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico asociado a la disminución de los niveles de expresión en las células del cáncer de pulmón. Un aumento del nivel del producto génico de miR en la célula, con respecto a un control adecuado (por ejemplo, el nivel del producto génico de miR en una célula control), es indicativo de que el agente de ensayo es un agente anticáncer de pulmón. El al menos un producto génico de miR puede asociarse con una disminución de los niveles de expresión en las células del cáncer de pulmón se selecciona entre el grupo que consiste en miR-126*, miR-192, miR-224, miR-126, miR-30a-5p, miR-140, miR-9, miR-124a-1, miR-218-2, miR-95, miR-145, miR-198, miR-216, miR-219-1, miR-125a, miR-26a-1, miR-199b, let-7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-220, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125b-1, let-7f-1 y una combinación de los mismos. El producto génico de miR puede no ser uno o más de let7a-2, let-7c, let-7g, let-7i, miR-7-2, miR-7-3, miR-9, miR-9-1, miR-10a, miR-15a, miR-15b, miR-16-1, miR-16-2, miR-17-5p, miR-20a, miR-21, miR-24-1, miR-24-2, miR-25, miR-29b-2, miR-30, miR-30a-5p, miR-30c, miR-30d, miR-31, miR-32, miR-34, miR-34a, miR-34a prec, miR-34a-1, miR-34a-2, miR-92-2, miR-96, miR-99a, miR-99b prec, miR-100, miR-103, miR-106a, miR-107, miR-123, miR-124a-1, miR-125b-1, miR-125b-2, miR-126*, miR-127, miR-128b, miR-129, miR-129-1/2 prec, miR-132, miR-135-1, miR-136, miR-137, miR-141, miR-142-as, miR-143, miR-146, miR-148, miR-149, miR-153, miR-155, miR-159-1, miR-181, miR-181b-1, miR-182, miR-186, miR-191, miR-192, miR-195, miR-196-1, miR-196-1 prec, miR-196-2, miR-199a-1, miR-199a-2, miR-199b, miR-200b, miR-202, miR-203, miR-204, miR-205, miR-210, miR-211, miR-212, miR-214, miR-215, miR-217, miR-221 y/o miR-223. El procedimiento puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado a un aumento de los niveles de expresión en las células del cáncer de pulmón. Un descenso en el nivel del producto génico de miR en la célula, con respecto a un control adecuado (por ejemplo, el nivel del producto génico de miR en una célula de control), es indicativo de que el agente de ensayo es un agente anticáncer de pulmón. El al menos un producto génico de miR asociado al aumento de los niveles de expresión en las células del cáncer de pulmón se puede seleccionar entre el grupo que consiste en miR-21, miR-191, miR-210, miR-155, miR-205, miR-24-2, miR-212, miR-214, miR-17-3p, miR-106a, miR-197, miR-192, miR-146, miR-203, miR-150 y una combinación de los mismos. El producto génico de miR no es uno o más de let7a-2, let-7c, let-7g, let-7i, miR-7-2, miR-7-3, miR-9, miR-9-1, miR-10a, miR-15a, miR-15b, miR-16-1, miR-16-2, miR-17-5p, miR-20a, miR-21,

miR-24-1, miR-24-2, miR-25, miR-29b-2, miR-30, miR-30a-5p, miR-30c, miR-30d, miR-31, miR-32, miR-34, miR-34a, miR-34a prec, miR-34a-1, miR-34a-2, miR-92-2, miR-96, miR-99a, miR-99b prec, miR-100, miR-103, miR-106a, miR-107, miR-123, miR-124a-1, miR-125b-1, miR-125b-2, miR-126*, miR-127, miR-128b, miR-129, miR-129-1/2 prec, miR-132, miR-135-1, miR-136, miR-137, miR-141, miR-142-as, miR-143, miR-146, miR-148, miR-149, miR-153, miR-155, miR-159-1, miR-181, miR-181b-1, miR-182, miR-186, miR-191, miR-192, miR-195, miR-196-1, miR-196-1 prec, miR-196-2, miR-199a-1, miR-199a-2, miR-199b, miR-200b, miR-202, miR-203, miR-204, miR-205, miR-210, miR-211, miR-212, miR-214, miR-215, miR-217, miR-221 y/o miR-223.

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

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

Ejemplos

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

Materiales y procedimientos

Muestras

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

Análisis de micromatrices

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

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

Los niveles de expresión de los miARN maduros se midieron por detección de hibridación en solución utilizando el Kit de detección *mirVana*TM (Ambion Inc., TX). En resumen, se incubó 1 mg de ARN total con sondas marcadas

radiactivamente que correspondían con estos miARN. Después de someterse a digestión para eliminar cualquier sonda que no se hubiera unido al miARN diana, se fraccionaron los productos marcados radiactivamente por desnaturalización por electroforesis en gel de poliácridamida. Las sondas se prepararon marcando el extremo 5' utilizando polinucleótido quinasa T4 con el kit Probe & Marker de *mirVana*TM (Ambion Inc., TX), según las instrucciones del fabricante. Se llevó a cabo la PCR cuantitativa en tiempo real como se ha descrito (Schmittgen y col., Nucl. Acids Res. 32: e43 (2004)) sobre un Sistema Aplicado de Detección de Secuencias de Biosistemas, haciéndose todas las reacciones por triplicado. En resumen, el ARN se transcribió inversamente a ADNc con cebadores génicos específicos y Thermoscript y la cantidad relativa de cada miARN con respecto al ARNt, se determinó por medio del iniciador de la metionina, utilizando la ecuación: 2^{-dC_T} , donde $dC_T = (C_{TmiARN} - C_{TU6})$.

Análisis de supervivencia

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

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

Resultados

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

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

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

Tabla 2. Análisis de comparación de clasificaciones clinicopatológicas

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

Tumor Adeno (65) vs. Tumor SCC (39)	104	6	0,001	81 (< 0,0005)
Clasificación por Edad				
Todos; Edad <67 (56) vs. Edad ≥67 (48)	104	0		
Adeno; Edad <67 (37) vs. Edad ≥67 (28)	65	0		
SCC; Edad <67 (19) vs. Edad ≥67 (20)	39	0		
Clasificación por Sexo				
Todos; Masculino (65) vs. Femenino (39)	104	0		
Adeno; Masculino (39) vs. Femenino (26)	65	0		
SCC; Masculino (26) vs. Femenino (13)	39	0		
Clasificación por Raza				
Todos; Afro-Americana (21) vs. Blanca Americana (83)	104	0		
Adeno; Afro-Americana (13) vs. Blanca Americana (52)	65	0		
SCC; Afroamericana (8) vs. Blanca Americana (31)	39	0		
Clasificación por Estadio				
Todos; Estadio I (65) vs. Estadio II (17) vs. Estadio III, IV (22)	104	0		
Adeno; Estadio I (41) vs. Estadio II (8) vs. Estadio III, IV (16)	65	1		
SCC; Estadio I (24) vs. Estadio II (9) vs. Estadio III, IV (6)	39	0		

^aNº de genes, Número de genes significativos a 0,001.

^bFDR, Tasa de falsos descubrimientos que es la probabilidad de genes significativos por casualidad.

^c% clasificados correctamente (valor de *p*). Procedimiento de predicción de clases de validación cruzada dejando uno fuera basado en el predictor covariado compuesto. El valor de *p* es la proporción de permutaciones aleatorias que daban una tasa de error de validación cruzada que no era mayor que la tasa de error de validación cruzada con los datos reales.

^dAdeno, Adenocarcinoma.

^eSCC, Carcinoma de células escamosas.

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

miARN	Localización	Valor de <i>p</i>	Tipo	Asociación con FRA ^a	Regiones genómicas asociadas a Cáncer ^a	Gen hospedador ^b
<i>hsa-mir-21</i>	17q23.2	$p < 1e-07$	Positivo	FRA17B	Amp ^c -netwoblastoma; pulmón ca	<i>TMEM49</i>
<i>hsa-mir-191</i>	3p21.31	$p < 1e-07$	Positivo			Proteína nueva
<i>hsa-mir-126*</i>	9q34.3	$p < 1e-07$	Negativo		Del ^d -NSCLC ^e ; HCC ^f	<i>EGFL-7</i>
<i>hsa-mir-210</i>	11p15.5	1,00E-07	Positivo		Del-ovárico: pulmón co	Proteína nueva
<i>hsa-mir-155</i>	21q21.3	1,00E-07	Positivo		Amp-colon ca	<i>BIC</i>
<i>hsa-mir-143</i>	5q32	4,00E-07	Negativo		Del-próstata ca	minARNc ^f
<i>hsa-mir-205</i>	1q32.2	4,00E-07	Positivo		Amp-pulmón ca	minARNc
<i>hsa-mir-192-prec</i>	11q13.1	5,00E-07	Negativo	FRA11A	Del-tiroides ca	minARNc
<i>hsa-mir-224</i>	Xq28	5,00E-07	Negativo	FRAXF		<i>G4BRE</i>
<i>hsa-mir-126</i>	9q34.3	7,00E-07	Negativo		Del-NSCLC: HCC	<i>EGFL-7</i>
<i>hsa-mir-24-2</i>	19p13.1	1,30E-06	Positivo			ND ^b
<i>hsa-mir-30a-5p</i>	6q13	4,50E-06	Negativo			minARNc
<i>hsa-mir-212</i>	17p13.3	5,00E-06	Positivo			ND
<i>hsa-mir-140</i>	16q22.1	5,10E-06	Negativo			<i>ATROPINA-1</i>
<i>hsa-mir-9</i>	15q26.1	6,50E-06	Negativo			Proteína nueva

ES 2 553 442 T3

<i>hsa-mir-214</i>	1q24.3	8,60E-06	Positivo			ND
<i>hsa-mir-17-3p</i>	13q31.3	9,40E-06	Positivo			Proteína nueva
<i>hsa-mir-124a-1</i>	8p23.1	1,23E-05	Negativo		Amp-MFHs ⁱ	Proteína nueva
<i>hsa-mir-218-2</i>	5q34	1,34E-05	Negativo			<i>SLIT3</i>
<i>hsa-mir-95</i>	4p16.1	1,48E-05	Negativo			<i>ABLIM2</i>
<i>hsa-mir-145</i>	5q32	1,90E-05	Negativo		Del-próstata ca	minARNc
<i>hsa-mir-198</i>	3q13.33	2,43E-05	Negativo			<i>FSTL1</i>
<i>hsa-mir-216-prec</i>	2p16.1	3,05E-05	Negativo			ND
<i>hsa-mir-219-1</i>	6p21.32	5,56E-05	Negativo			ND
<i>hsa-mir-106a</i>	Xq26.2	6,20E-05	Positivo		Del-ovárico ca	ND
<i>hsa-mir-197</i>	1p13.3	7,23E-05	Positivo			ND
<i>hsa-mir-192</i>	11q13.1	0,000119	Positivo	FRA11A	Del-tiroides ca	ND
<i>hsa-mir-125a-prec</i>	19q13.41	0,000143	Negativo			minARNc
<i>hsa-mir-26a-1-prec</i>	3p22.3	0,000148	Negativo		Del-epitelial ca	<i>NIF1</i>
<i>hsa-mir-146</i>	5q33.3	0,000163	Positivo			minARNc
<i>hsa-mir-203</i>	14q32.33	0,000267	Positivo			ND
<i>hsa-mir-199b-prec</i>	9q34.11	0,000304	Negativo		Del-vejiga ca	<i>GOLGA2</i>
<i>hsa-mir-7a-2-prec</i>	11q24.1	0,000398	Negativo	FRA11B	Del-pulmón ca	minARNc
<i>hsa-mir-27b</i>	9q22.32	0,000454	Negativo	FRA9D	Del-Vejiga ca	Proteína nueva
<i>hsa-mir-32</i>	9q31.3	0,000458	Negativo	FRA9E	Del-pulmón ca	Proteína nueva
<i>hsa-mir-29b-2</i>	1q32.2	0,000466	Negativo			minARNc
<i>hsa-mir-220</i>	Xq25	0,000630	Negativo			ND
<i>hsa-mir-33</i>	22q13.2	0,000683	Negativo		Del-colon ca	<i>SREBF2</i>
<i>hsa-mir-181c-prec</i>	19p13.12	0,000736	Negativo			<i>NANOS3</i>
<i>hsa-mir-150</i>	19q13.33	0,000784	Positivo			ND
<i>hsa-mir-101-1</i>	1p31.3	0,000844	Negativo	FRA1C	Del-ovárico; mama ca	ND
<i>hsa-mir-124n-3</i>	20q13.33	0,000968	Negativo			ND
<i>hsa-mir-125a</i>	19q13.41	0,000993	Negativo			ND

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

5 El análisis PCR en tiempo real de los precursores de miARN seleccionados se llevó a cabo para validar los resultados del análisis de la micromatriz. Primero, se prepararon los ADNc de 16 pares de adenocarcinomas pulmonares y 16 pares de carcinoma pulmonar de células escamosas, utilizando cebadores génicos específicos para *hsa-mir-21*, *hsa-mir-126**, *hsa-mir-205* y *U6* (como control). A continuación, se llevaron a cabo los análisis de RT-PCR en tiempo real para determinar los niveles de expresión de estos miARN en diferentes muestras. Al menos una regulación doblemente positiva de la expresión de los precursores de miARN *hsa-mir-21* y *hsa-mir-205* se

encontró en el 66 % y el 56 % de los 32 casos, respectivamente, cuando se compararon con los niveles de expresión de estos miARN en los tejidos no cancerosos correspondientes (FIG. 1). Las diferencias fueron estadísticamente significativas con una $p < 0,001$ según el ensayo-t pareado. Por el contrario, el 31 % de los 32 casos de cáncer de pulmón examinados mostraron una reducción de la expresión del precursor *hsa-mir-126** de más del 50 %, aunque estos resultados no fueron estadísticamente significativos (FIG. 1). Estos hallazgos muestran que los miARN precursores específicos están regulados frecuentemente de forma positiva o están reducidos en los cánceres de pulmón, lo que es congruente con los patrones de expresión de sus miARN maduros, como se determinó utilizando el análisis de micromatriz.

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

miARN	Localización	Valor de p	Tipo
Adenocarcinoma			
<i>hsa-mir-21</i>	17q23.2	$p < 1e-07$	Positivo
<i>hsa-mir-191</i>	3p21.31	1,20E-06	Positivo
<i>hsa-mir-155</i>	21q21.3	4,10E-06	Positivo
<i>hsa-mir-210</i>	11p15.5	9,90E-06	Positivo
<i>hsa-mir-126*</i>	9q34.3	1,92E-05	Negativo
<i>hsa-mir-126</i>	9q34.3	4,13E-05	Negativo
<i>hsa-mir-24-2</i>	19p13.1	0,000228	Positivo
<i>hsa-mir-219-1</i>	6p21.32	0,000251	Negativo
<i>hsa-mir-95</i>	4p16.1	0,000303	Negativo
<i>hsa-mir-192-prec</i>	11q13.1	0,000307	Negativo
<i>hsa-mir-220</i>	Xq25	0,000309	Negativo
<i>hsa-mir-216-prec</i>	2p16.1	0,00042	Negativo
<i>hsa-mir-204-prec</i>	9q21.11	0,000449	Negativo
<i>hsa-mir-188</i>	Xp11.23	0,000475	Negativo
<i>hsa-mir-198</i>	3q13.33	0,000494	Negativo
<i>hsa-mir-145</i>	5q32	0,000579	Negativo
<i>hsa-mir-224</i>	Xq28	0,000925	Negativo
Carcinoma de células escamosas			
<i>hsa-mir-205</i>	1q32.2	$p < 1e-07$	Positivo
<i>hsa-mir-224</i>	Xq28	4,14E-05	Negativo
<i>hsa-mir-191</i>	3p21.31	5,18E-05	Positivo
<i>hsa-mir-126*</i>	9q34.3	9,74E-05	Negativo
<i>hsa-mir-140</i>	16q22.1	0,000132	Negativo
<i>hsa-mir-210</i>	11p15.5	0,0001383	Positivo
<i>hsa-mir-17-3p</i>	13q31.3	0,0001772	Positivo
<i>hsa-mir-29b</i>	1q32.2	0,0002046	Negativo
<i>hsa-mir-143</i>	5q32	0,0003141	Negativo
<i>hsa-mir-203</i>	14q32.33	0,0003293	Positivo
<i>hsa-mir-155</i>	21q21.3	0,0003688	Positivo
<i>hsa-mir-21</i>	17q23.2	0,0003904	Positivo
<i>hsa-mir-214</i>	1q24.3	0,0004546	Positivo
<i>hsa-mir-212</i>	17p13.3	0,0005426	Positivo
<i>hsa-mir-30a-5p</i>	6q13	0,0006165	Negativo
<i>hsa-mir-197</i>	1p13.3	0,0008507	Positivo

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

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

25 *Materiales y procedimientos*

Muestras

Se utilizaron en este estudio trece líneas celulares de cáncer de pulmón, que consistían en cinco líneas celulares de

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

Análisis de micromatriz

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

Análisis estadístico

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

Resultados

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

Ejemplo 3: Identificación de los miARN asociados a características clinicopatológicas del cáncer de pulmón

Materiales y procedimientos

Análisis de micromatrices

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

Análisis estadísticos

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

Resultados

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

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

Materiales y procedimientos

Análisis de micromatriz

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

Análisis estadístico

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

5

Análisis de Ontología Génica

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

10

Resultados

15

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

20

25

Debido a que cinco de estos miARN (*hsa-mir-155*, *hsa-mir-17-3p*, *hsa-let-7a-2*, *hsa-mir-145* y *hsa-mir-21*) se expresaban de manera diferente en los tejidos del cáncer de pulmón con respecto a los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos, se utilizaron estos miARN para más análisis de supervivencia. Se calculó la relación entre la expresión en el cáncer de pulmón y la correspondiente expresión en el tejido pulmonar no canceroso para cada uno de estos cinco miARN y los casos se clasificaron de acuerdo con la relación de expresión. Utilizando este agrupamiento para cada miARN, se llevó a cabo el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier. La supervivencia estimada por Kaplan-Meier mostraba que los pacientes con adenocarcinoma de pulmón con alta expresión de *hsa-mir-155* o con expresión reducida de *hsa-let-7a-2* tenían peores perspectivas de supervivencia que los pacientes con expresión baja de *hsa-mir-155* o alta expresión de *hsa-let-7a-2* (FIG. 4 y FIG. 5). La diferencia pronóstica de estos dos grupos era altamente significativa para *hsa-mir-155* ($p=0,006$; ensayo de intervalo logarítmico), pero menos significativo para *hsa-let-7a-2* ($p=0,033$; ensayo de intervalo logarítmico). Los análisis de supervivencia de los factores clinicopatológicos mostraron que el estadio estaba asociado significativamente a la supervivencia ($p=0,01$; ensayo de intervalo logarítmico), mientras que la edad, la raza, el sexo y la historia de fumador no contaba para el pronóstico malo (Tablas 5A y 5B). Para ajustarlo por comparaciones múltiples, utilizamos el procedimiento de Storey y col., (Storey, J.D. and Tibshirani, R., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100: 9440-9445 (2003)) limitando las tasas de falsos descubrimientos a 0,05. Utilizando esta tasa, *hsa-mir-155* y el estadio de enfermedad fueron aun estadísticamente significativos. Posteriormente, se llevó a cabo un análisis de regresión de riesgos proporcionales de Cox multivariado utilizando todos estos factores clinicopatológicos y moleculares. La expresión alta del *hsa-mir-155* se determinó que era un factor de pronóstico desfavorable, independiente de otros factores clinicopatológicos ($p=0,027$; relación de riesgo 3,03; 95 % CI, 1,13-8,14), en adición al estadio de la enfermedad ($p=0,013$; relación de riesgo 3,27; 95 % CI, 1,31-8,37; Tabla 5A).

30

35

40

45

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

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

Estadio	II-IV/I	3,27 (1,31-8,37)	0,013
Historia de fumador	Actual/exfumador	1,49 (0,51-4,34)	0,457
<i>hsa-mir-155</i>	Alto/bajo	3,03 (1,13-8,14)	0,027

^a95 % CI, 95 % Intervalo de confianza.

^bAnálisis multivariado, Modelo de regresión de riesgos proporcionados de Cox.

^c *hsa-let-7a-2* bajo/alto no fue estadísticamente significativo (p=0,089).

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

Variable	Subgrupo	Cohorte Original (n=32)		Cohorte Adicional (n=32)		Todos los casos (n=64)	
		Relación de riesgos (95 % CI ^a)	p	Relación de riesgos (95 % CI)	p	Relación de riesgos (95 % CI)	p
Análisis univariado							
Edad	Edad >67/ Edad <67	1,89 (0,62-5,34)	0,274	1,21 (0,46-3,21)	0,679	1,28 (0,64-2,58)	0,482
Sexo	Masculino/femenino	0,53 (0,14-1,56)	0,232	1,37 (0,54-3,63)	0,479	0,99 (0,49-1,98)	0,975
Estadio	II-IV/I	4,22 (1,91-23,6)	0,003	2,37 (1,01-7,83)	0,048	3,07 (1,82-8,84)	<0,00
Historia de fumador	Actual/exfumador	0,92 (0,31-2,66)	0,921	1,22 (0,47-3,16)	0,674	1,12 (0,56-2,25)	0,757
Precursor	Alto/bajo	2,75 (1,05-12,1)	0,047	2,52 (1,10-7,45)	0,033	2,74 (1,53-6,91)	0,002
<i>hsa-mir-155</i> precursor	Bajo/alto	3,01 (1,09-9,86)	0,037	2,22 (0,91-5,71)	0,084	2,73 (1,42-5,88)	0,003
<i>hsa-let-7a-2</i>							
Análisis Multivariado^b							
Edad	Edad >67/ Edad <67	0,91 (0,22-3,68)	0,899	0,93 (0,30-2,91)	0,914	1,22 (0,58-2,53)	0,593
Sexo	Masculino/femenino	0,35 (0,11-1,17)	0,089	0,92 (0,32-2,66)	0,885	0,85 (0,41-1,74)	0,659
Estadio	II-IV/I	8,99 (1,95-41,2)	0,004	4,91 (1,51-15,9)	0,008	5,58 (2,42-12,8)	<0,001
Historia de fumador	Actual/exfumador	1,01 (0,30-3,38)	0,980	2,27 (0,70-7,34)	0,170	1,89 (0,85-4,21)	0,117
Precursor	Alto/bajo	13,3 (2,59-69,0)	0,002	3,77 (1,32-10,6)	0,013	4,98 (2,29-10,8)	<0,001
<i>hsa-mir-155</i> Precursor	Bajo/alto	3,93 (1,06-14,5)	0,040	2,97 (1,07-8,23)	0,036	3,55 (1,64-7,69)	0,001
<i>hsa-let-7a-2</i>							

^a95 % CI, 95 % Intervalo de confianza.

^b Análisis multivariado, modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox.

5

Para investigar las consecuencias biológicas de la expresión alterada de *hsa-mir-155* and *hsa-let-7a-2*, se llevó a cabo un análisis bioinformático para agrupar las dianas predichas de estos miARN de acuerdo con los términos de

Ontología Génica (Tabla 6). Además de las asociaciones con los términos más generales de GO, se vio un enriquecimiento significativo para las dianas asociado a la transcripción del *hsa-mir-155*. El *hsa-let-7a* mostró una sobre representación de dianas génicas unidas con la proteína quinasa y las cascadas intracelulares de señalización, un hallazgo congruente con la interacción funcional que se había informado, entre el *let-7* y RAS (Johnson, S.M. y col., Cell 120:635-647 (2005)).

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

Proceso biológico	Ontología Génica	Valor de p
<i>hsa-mir-155</i>		
regulación del proceso biológico	GO:0050789	3,44343E-05
regulación de base nucleica \ nucleósido \ nucleótido y metabolismo de ácido nucleico	GO:0019219	0,000149553
regulación de proceso fisiológico	GO:0050791	0,000192938
regulación de transcripción \ dependiente de ADN	GO:0006355	0,000244233
regulación del metabolismo	GO:0019222	0,000310887
regulación de la transcripción	GO:0045449	0,000367426
transcripción\dependiente de ADN	GO:0006351	0,000373583
transcripción	GO:0006350	0,000749403
Importación de sustrato del núcleo que contiene NLS	GO:0006607	0,000871079
Diferenciación de base nucleica celular B \ nucleósido \ nucleótido y metabolismo de ácido nucleico	GO:0030183	0,00142995
Selección de proteínas diana	GO:0006139	0,0021327
hemopoyesis	GO:0006605	0,00238267
proceso celular	GO:0030097	0,00243434
metabolismo de uridina	GO:0009987	0,00270393
activación celular B	GO:0046108	0,0040568
	GO:0042113	0,00458041
<i>hsa-let-7a</i>		
modificación proteica	GO:0006464	9,02643E-05
mantenimiento y crecimiento celular	GO:0008151	9,99217E-05
proceso fisiológico celular	GO:0050875	0,000128316
cascada de la proteína quinasa	GO:0007243	0,000703203
proceso celular	GO:0009987	0,000870863
cascada de señalización intracelular	GO:0007242	0,001290613
transporte	GO:0006810	0,004305096
modificación de la cromatina	GO:0016568	0,004414505
localización	GO:0051179	0,004492152
metabolismo del fósforo	GO:0006793	0,00481218
metabolismo del fosfato	GO:0006796	0,00481218

- 10 Se llevaron a cabo los análisis de la RT-PCR en tiempo real para *hsa-mir-155* y *hsa-let-7a-2* para determinar si la expresión de los miARN precursores también tenía un impacto pronóstico en los pacientes con adenocarcinoma. Primero, se sometieron 32 pares de adenocarcinoma del grupo original, en los que estaba disponible el ARN, al análisis RT-PCR en tiempo real. Se calculó la relación entre la expresión en cáncer de pulmón y la expresión de los correspondientes tejidos pulmonares no cancerosos y se clasificaron los casos de acuerdo con la relación de expresión. El análisis de supervivencia de Kaplan-Meier (FIG. 6, FIG. 7) demostró una supervivencia significativamente peor para los pacientes que tenían una expresión alta del precursor *hsa-mir-155* ($p=0,047$; ensayo de intervalo logarítmico) o una expresión reducida del precursor *hsa-let-7a-2* ($p=0,037$; ensayo de intervalo logarítmico) (Tabla 5B). Para validar más los clasificadores de pronóstico descritos aquí, se analizó un grupo adicional independiente de 32 adenocarcinomas utilizando el análisis RT-PCR en tiempo real. Las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier (FIG. 8, FIG. 9) mostraron también en esta cohorte una relación clara entre la expresión del *hsa-mir-155* precursor ($p=0,033$; ensayo de intervalo logarítmico) y cerca de la significación en la expresión de *hsa-let-7a-2* ($p=0,084$; ensayo de intervalo logarítmico) (Tabla 5B). Además, se descubrió que la expresión alta del precursor *hsa-mir-155* era un predictor independiente de pronóstico malo con un análisis de regresión de riesgos proporcionales de Cox multivariado (Tabla 5B). Para confirmar más si había cualquier fuerza de agrupamiento en el grupo original (32 casos) y el grupo adicional (32 casos), se llevaron a cabo los análisis de supervivencia multivariado y univariado de los 64 casos. De manera congruente con los resultados previos, estos análisis mostraron la significación de la expresión del *hsa-mir-155* precursor (Tabla 5B; FIG. 10). Es importante decir que la expresión reducida del precursor *hsa-let-7a-2* también tiene un impacto pronóstico similar en los pacientes con adenocarcinoma (Tabla 5B; FIG. 11), lo que es congruente con un informe previo (Takamizawa, J. y col., Cancer Res. 64, 3753-3756 (2004)).

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

Materiales y procedimientos

35 Análisis de micromatriz

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

5 *Análisis estadístico*

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

10 Tratamiento con 5-aza-dC y/o TSA

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

Resultados

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

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

LISTADO DE SECUENCIAS

35 <110> THE OHIO STATE UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH

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

40 <130> 53-28348

<140> AU 2007205234
<141> 03-01-2007

45 <150> PCT/US07/000103
<151> 03-01-2007

<150> 60/756.400
<151> 01-05-2006

50 <160> 498

<170> PatentIn versión 3.5

55 <210> 1
<211> 90
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

60 <400> 1

cacuguggga ugagguagua gguuguaug uuuuaggguc acaccaccca cugggagaua 60

acuauacaau cuacugucuu uccuaacgug 90

	<210> 2		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 2		
	agguugaggu aguagguugu auaguuuaga auuacaucaa gggagauaac uguacagccu	60	
	ccuagcuuuc cu	72	
10	<210> 3		
	<211> 74		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 3		
	gggugaggua guagguugua uaguuuagggg cucugcccug cuaugggaua acuauacaau	60	
	cuacugucuu uccu	74	
20	<210> 4		
	<211> 107		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 4		
	gugacugcau gcucccaggu ugagguagua gguuguaug uuuagaauua cacaagggag	60	
	auaacuguaac agccuccuag cuuuccuugg gcuugcacu aaacaac	107	
30	<210> 5		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 5		
	ggcgggguga gguaguaggu ugugugguuu cagggcagug auguugccc ucggaagaua	60	
35	acuauacaac cuacugccuu ccug	85	
40	<210> 6		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 6		
	gcauccgggu ugagguagua gguuguaugg uuuagaguua caccuggga guuaacugua	60	
45	caaccuucua gcuuuccuug gagg	84	
50	<210> 7		
	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 7		

	ccuaggaaga gguaguaggu ugc auaguuu uagggcaggg auuuugccca caaggaggua	60
	acuauacgac cugcugccuu ucuuagg	87
5	<210> 8 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 8	
	cuaggaagag guaguaguuu gcauaguuu agggcaaaga uuuugccac aaguaguug	60
10	cuauacgacc ugcagccuu uguag	85
15	<210> 9 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 9	
	cuggcugagg uaguaguug ugcuguuggu cggguuguga cauugccgc uguggagaua	60
20	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
25	<210> 10 <211> 79 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 10	
	ccgggcuga gguaggaggu uguauaguug agggagcac ccaaggagau cacuauacgg	60
30	ccuccuagcu uucccagg	79
35	<210> 11 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 11	
	ucagagugag guaguaguu guauaguugu gggguaguga uuuuaccug uucaggagau	60
40	aacuauaca ucuauugccu ucccuga	87
45	<210> 12 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 12	
	cuguggaug agguaguaga uuguauaguu guggguagu gauuuacc uguucaggag	60
	auaacuauac aaucuauugc cucccuga	89
	<210> 13 <211> 85	

ES 2 553 442 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 13		
5	cuguggggaug agguaguaga uuguauaguu uuagggucan accccaucuu ggagauaacu	60	
	auacagucua cugucuuucc cacgg	85	
	<210> 14 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 14		
	uugccugauu ccaggcugag guaguaguu guacaguug agggucuaug auaccacccg	60	
15	guacaggaga uaacuguaca ggcacugcc uugccaggaa cagcgcgc	108	
	<210> 15 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 15		
	cuggcugagg uaguaguug ugcuguuggu cggguuguga cauugcccgc uguggagaua	60	
	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85	
25			
	<210> 16 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 16		
	accuacucag aguacauacu ucuuuaugua ccuauugaa cauacaugc uauggaugu	60	
	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85	
35			
	<210> 17 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 17		
	cagcuaacaa cuuaguaaau ccuacucaga guacauacuu cuuuauugac ccuauugaac	60	
	auacaauugcu auggaugua aagaaguug uauuuuuggu aggcaaua	108	
	<210> 18 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 18		
50			

	gccugcuugg gaaacauacu ucuuuauaug cccauauugga ccugcuaagc uauggaaugu	60
	aaagaaguau guaucucagg ccggg	85
5	<210> 19 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 19	
	ugggaaacau acuucuuuau augcccauau ggaccugcua agcuauggaa uguaaagaag	60
10	uauguaucuc a	71
	<210> 20 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 20	
	accuacucag aguacauacu ucuuuauugga cccauauugga cauacaagc uauggaaugu	60
	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85
20	<210> 21 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 21	
	uggauguugg ccuaguucug uguggaagac uagugauuuu guuguuuuuu gaaacuaaa	60
	ucgacaacaa aucacaguc gccauauugg acaggccaug ccucuaca	108
30	<210> 22 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 22	
	uuggauguug gccuaguucu guguggaaga cuagugauuu uguuguuuuu agaaacuaa	60
	aucgacaaca aaucacaguc ugccaauugg cacaggccaug gccucuacag	110
40	<210> 23 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 23	
	cuggauacag aguggaccgg cuggccccaug cuggaagacu agugauuuug uuuguucuu	60
	acugcgcuca acaacaaauc ccagucuaacc uaauggugcc agccaucga	110
50	<210> 24 <211> 110 <212> ARN	

ES 2 553 442 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 24	
	agauuagagu ggcugugguc uagugcugug uggaagacua gugauuuugu uguucugaug	60
5	uacuacgaca acaagucaca gccggccuca uagcgcagac ucccuucgac	110
	<210> 25	
	<211> 89	
10	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 25	
	cggggguuggu uguuauuuu gguuaucuag cuguaugagu gguguggagu cuucaaaaag	60
15	cuagauaacc gaaaguaaa auaaccca	89
	<210> 26	
	<211> 87	
	<212> ARN	
20	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 26	
	ggaagcgagu uguuauuuu gguuaucuag cuguaugagu guauuggucu ucauaaagcu	60
	agauaaccga aaguaaaaac uccuua	87
25	<210> 27	
	<211> 90	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 27	
	ggaggcccggu uucucucuuu gguuaucuag cuguaugagu gccacagagc cgucauaaaag	60
	cuagauaacc gaaaguagaa augauucua	90
35	<210> 28	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 28	
	gaucugucug ucuucugua auaccugua gauccgaauu uguguaagga auuuuguggu	60
	cacaaauucg uaucuagggg aauauguagu ugacauaaac acuccgcucu	110
45	<210> 29	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 29	
	ccagagguug uaacguuguc uauauauacc cuguagaacc gaauuugugu gguauccgua	60
50	uagucacaga uucgauucua ggggaauua uggucgaugc aaaaacuua	110

ES 2 553 442 T3

	<210> 30		
	<211> 108		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 30		
	g c g c g a a u g u g u g u u a a a a a a a a a a a c c u u g g g a g u a a a g u a g c a g c a c a u a a u g g u u	60	
	u g u g g a u u u u g a a a g g u g c a g g c c a u a u u g u g c u g c c u c a a a a u a c	108	
10	<210> 31		
	<211> 83		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 31		
	c c u u g g a g u a a a g u a g c a g c a c a u a a u g g u u u g u g g a u u u u g a a a g g u g c a g g c c a u a u	60	
	u g u g c u g c c u c a a a a a u a c a a g g	83	
20	<210> 32		
	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 32		
	c u g u a g c a g c a c a u c a u g g u u u a c a u g c u a c a g u c a a g a u g c g a a u c a u u a u u g c u g c u	60	
	c u a g	64	
30	<210> 33		
	<211> 98		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 33		
35	u u g a g g c c u u a a a g u a c u g u a g c a g c a c a u c a u g g u u u a c a u g c u a c a g u c a a g a u g c g a	60	
	a u c a u u a u u u g c u g c u c u a g a a a u u u a a g g a a a u u c a u	98	
40	<210> 34		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 34		
	g u c a g c a g u g c c u u a g c a g c a c g u a a a u a u u g g c g u u a a g a u u c u a a a a u u a u c u c c a g u	60	
45	a u u a a c u g u g c u g c u g a a g u a a g g u u g a c	89	
50	<210> 35		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 35		

	guuccacucu agcagcacgu aaauauuggc guagugaaau auauauuaaa caccaauuu	60
	acugugcugc uuuaguguga c	81
5	<210> 36 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 36	
	gcagugccuu agcagcacgu aaauauuggc guuaagauuc uaaaauuauc uccaguauua	60
10	acugugcugc ugaaguaagg u	81
15	<210> 37 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 37	
	gucagaauaa ugucaaagug cuuacagugc agguagugau augugcaucu acugcaguga	60
20	aggcacuugu agcauuagg ugac	84
25	<210> 38 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 38	
	uguucuaagg ugcaucuagu gcagauagug aaguagauua gcaucuacug cccuaagugc	60
30	uccuucuggc a	71
35	<210> 39 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 39	
	uuuuuguucu aaggugcauc uagugcagau agugaaguag auuagcaucu acugcccuaa	60
40	gugcuccuuc uggcauaaga a	81
45	<210> 40 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 40	
	gcaguccucu guuaguuug cauaguugca cuacaagaag aauguaguug ugcaaaucua	60
50	ugcaaaacug augguggccu gc	82
	<210> 41 <211> 80 <212> ARN	

ES 2 553 442 T3

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

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

	ccacggccgg cuggggguucc ugggggauggg auuugcuucc ugucacaaau cacauugcca	60
	ggggaauucca accgaccug a	81
5	<210> 53 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 53	
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg	60
10	aacaggag	68
15	<210> 54 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 54	
	cucugccucc cgugccuacu gagcugaaac acaguugguu uguguacacu ggcucaguuc	60
20	agcaggaaca ggg	73
25	<210> 55 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 55	
	cccugggcuc ugccucccgu gccuacugag cugaaacaca guugguuugu guacacuggc	60
30	ucaguucagc aggaacaggg g	81
35	<210> 56 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 56	
	cccuccggug ccuacugagc ugauaucagu ucucauuuuu cacacuggcu caguucagca	60
40	ggaacagcau c	71
45	<210> 57 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 57	
	ggccaguguu gagaggcggg gacuugggca auugcuggac gcugcccugg gcauugcacu	60
	ugucucgguc ugacagugcc ggcc	84
	<210> 58 <211> 86	

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 58		
5	aggccguggc cucguucaag uauccagga uaggcugugc aggucccaau ggccuauuu	60	
	gguaacuugc acggggacgc gggccu	86	
	<210> 59 <211> 77 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 59		
	guggccucgu ucaaguaauc caggauagge ugugcagguc ccaaugggcc uauucuuugu	60	
15	uacuugcacg gggacgc	77	
	<210> 60 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 60		
	ggcuguggcu ggauucaagu auccaggau aggcuguuuc caucugugag gccuauuuu	60	
	gauuacuugu uucuggagge agcu	84	
25			
	<210> 61 <211> 77 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 61		
	ccgggaccca guucaaguaa uucaggauag guugugugcu guccagccug uucuccauua	60	
	cuuggcucgg ggaccgg	77	
35			
	<210> 62 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 62		
	cugaggagca gggcuuagcu gcuugugagc aggguccaca ccaagucgug uucacagugg	60	
	cuaaguuccg cccccag	78	
45			
	<210> 63 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 63		

	aggugcagag cuuagcugau uggugaacag ugauugguuu ccgcuuguu cacaguggcu	60
	aaguucugca ccu	73
5	<210> 64 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 64	
	accucucuaa caaggugcag agcuuagcug auuggugaac agugauuggu uuccgcuug	60
10	uucacagugg cuaaguucug caccugaaga gaaggug	97
	<210> 65 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 65	
	ccugaggagc agggcuuagc ugcuuugag caggguccac accaagucgu guucacagug	60
20	gcuaaguucc gccccccagg	80
	<210> 66 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 66	
	gguccuugcc cucaaggagc ucacagucua uugaguacc uuucugacuu ucccacuaga	60
30	uugugagcuc cuggagggca ggcacu	86
	<210> 67 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 67	
	ccuucuguga ccccuuagag gaugacugau uucuuuuggu guucagaguc aaauaauuu	60
40	ucuagcacca ucugaaucg guauaauga uuggggaaga gcaccaug	108
	<210> 68 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 68	
	augacugauu ucuuuuggug uucagaguca aaauaauuuu cuagcaccuau cugaaucgg	60
50	uuau	64
	<210> 69 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

	<400> 69	
	cuucaggaag cugguucau auggugguuu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccuu	60
5	ugaaaucagu guucuugggg g	81
	<210> 70	
	<211> 81	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 70	
	cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaccuu	60
	uugaaaucag uguuuuagga g	81
15	<210> 71	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 71	
	accacuggcc caucucuuc acagggcugac cgauuuucc ugguguucag agucuguuuu	60
	ugucuagcac cauuugaaau cgguuuugau guagggggaa aagcagcagc	110
25	<210> 72	
	<211> 71	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 72	
	gcgacuguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gaugggcuuu cagucggaug	60
	uuugcagcug c	71
35	<210> 73	
	<211> 60	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 73	
	auguaaacau ccuacacuca gcuguaauac auggauuggc ugggaggugg auguuuacgu	60
45	<210> 74	
	<211> 88	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 74	
	accaaguuc aguucaugua acauccuac acucagcugu aauacaugga uggcuggga	60
	gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88
50	<210> 75	
	<211> 72	
	<212> ARN	

ES 2 553 442 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 75	
	agauacugua acaucccuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug	60
5	uuuacucuuu cu	72
	<210> 76	
	<211> 70	
	<212> ARN	
10	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 76	
	guuguuguaa acauccccga cuggaagcug uaagacacag cuagcuuuc agucagaugu	60
	uugcugcuac	70
15	<210> 77	
	<211> 64	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 77	
	cuguaaacau ccuugacugg aagcuguaag guguucagag gagcuuucag ucggauguuu	60
	acag	64
25	<210> 78	
	<211> 71	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 78	
	ggagaggagg caaugcug gcauagcugu ugaacuggga accugcuau ccaacauuu	60
	gccaucuuuc c	71
35	<210> 79	
	<211> 70	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 79	
	ggagauauug cacauuacua aguugcaugu ugucacggcc ucaaugcaau uuagugugug	60
	ugauuuuuc	70
45	<210> 80	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 80	
	gggggccgag agaggcgggc ggccccgagg ugcauugcug uugcauugca cgugugugag	60
	gcgggugcag ugccucggca gugcagcccc gagccggccc cuggcaccac	110

ES 2 553 442 T3

	<210> 81	
	<211> 88	
	<212> ARN	
5	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 81	
	accaaguuuc aguucaugua aacauccuac acucagcugu aaucaugga uggcuggga	60
	gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88
10		
	<210> 82	
	<211> 69	
	<212> ARN	
15	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 82	
	cuguggugca uuguaguugc auugcauguu cuggugguac ccaugcaaug uuuccacagu	60
	gcaucacag	69
20		
	<210> 83	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 83	
	ggccagcugu gaguguuucu uggcagugu cuuagcuggu uguugugage aauguaagg	60
	aagcaaucag caaguauacu gcccuagaag ugcugcacgu uguggggccc	110
30		
	<210> 84	
	<211> 84	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 84	
	gugcucgguu uguaggcagu gucauagcu gauuguacug uggugguac aaucacuaac	60
	uccacugcca ucaaaacaag gcac	84
40		
	<210> 85	
	<211> 77	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 85	
	agucuaguua cuaggcagug uaguuagcug auugcuaaua guaccaauca cuaaccacac	60
	ggccagguaa aaagauu	77
50		
	<210> 86	
	<211> 82	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	

	<400> 86		
	ucagaauauu gucaaagugc uuacagugca gguagugaua ugugcaucua cugcagugaa	60	
	ggcacuugua gcauuauuggu ga	82	
5	<210> 87 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 87		
	cuuucuacac agguugggau cggugcaau gcuguguuuc uguauugguau ugcacuuguc	60	
	ccggccuguu gaguuugg	78	
15	<210> 88 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 88		
	ucaucccugg guggggauuu guugcauuac uuguguucua uauaaaguau ugcacuuguc	60	
	ccggccugug gaaga	75	
25	<210> 89 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 89		
	cugggggcuc caaagugcug uucgugcagg uagugugauu acccaaccua cugcugagcu	60	
30	agcacuuccc gagccccgg	80	
35	<210> 90 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 90		
	aacacagugg gcacucaaua aaugucuguu gaaugaaa ugcguuacauu caacggguau	60	
40	uuauugagca cccacucugu g	81	
45	<210> 91 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 91		
	uggccgauuu uggcacuagc acuuuuugc uugugucucu ccgcucugag caaucaugug	60	
	cagugccaau augggaaa	78	

ES 2 553 442 T3

	<210> 92		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 92		
	gugagcgcacu guaaacaucc ucgacuggaa gcugugaagc cacagauggg cuuucagucg	60	
	gauguuugca gcugccuacu	80	
10	<210> 93		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 93		
	gugagguagu aaguuguauu guuguggggg agggauauua ggccccaauu agaagauaac	60	
	uauacaacuu acuacuuucc	80	
20	<210> 94		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 94		
	ggcaccacc cguagaaccg accuugcggg gccuucgccg cacacaagcu cgugucugug	60	
	gguccguguc	70	
30	<210> 95		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 95		
	ccc auuggca uaaaccgua gauccgaucu uguggugaag uggaccgcac aagcucgcuu	60	
35	cuaugggucu gugucagugu g	81	
40	<210> 96		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 96		
	aagagagaag auauugaggc cuguugccac aaaccgguag auccgaacuu gugguauuag	60	
45	uccgcacaag cuuguaucua uagguaugug ucuguuaggc aaucucac	108	
50	<210> 97		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 97		

	ccuguugcca caaacccgua gauccgaacu ugugguauua guccgcacaa gcuuguaucu	60
	auagguaugu gucuguuagg	80
5	<210> 98 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 98	
	aggcugcccu ggcucaguua ucacagugcu gaugcugucu auucuaaagg uacaguacug	60
10	ugauaacuga aggauggcag ccaucuuacc uuccaucaga ggagccucac	110
15	<210> 99 <211> 57 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 99 ucaguuauc cagugcugau gcuguccau cuaaagguac aguacuguga uacuga 57	
20	<210> 100 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 100	
	ugcccuggcu caguuaucac agugcugaug cugucuauuc uaaagguaca guacugugau	60
	aacugaagga uggca	75
30	<210> 101 <211> 79 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 101	
	acuguccuuu uucgguauc augguaccga ugcuguauau cugaaaggua caguacugug	60
	auaacugaag aaugguggu	79
40	<210> 102 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 102	
	uguccuuuuu cgguaucuu gguaccgaug cuguauaucu gaaagguaca guacugugau	60
45	aacugaagaa uggug	75
50	<210> 103 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 103	

	cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaccau	60
	uugaaucag uguuuuagga g	81
5	<210> 104 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 104	
	cuucaggaag cugguuucau auggugguuu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccuu	60
	ugaaucagu guucuugggg g	81
15	<210> 105 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 105	
	uugugcuuuc agcuucuuua cagugcugcc uuguagcauu caggucaagc aacauuguac	60
20	agggcuauga aagaacca	78
25	<210> 106 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 106	
	uacugcccuc ggcuuuuua cagugcugcc uuguugcaua uggaucaagc agcauuguac	60
30	agggcuauga aggcuuug	78
35	<210> 107 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 107	
	aaaugucaga cagcccucg acugguguug ccaugagauu caacagucua caucagucug	60
40	auaagcuacc cgacaagg	78
45	<210> 108 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 108	
	ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cucaugcacc acggauguuu	60
	gagcaugugc uacggugucu a	81
	<210> 109	

	<211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 109		
	ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cuuaugcacc acggauguu	60	
	gagcaugugc uauggugucu a	81	
10	<210> 110 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 110		
	ccuuggccau guaaaagugc uuacagugca gguagcuuuu ugagaucuac ugcaauguaa	60	
	gcacuucua cauuaccaug g	81	
20	<210> 111 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 111		
	ccugccgggg cuaaagugcu gacagugcag auaguggucc ucuccugucu accgcacugu	60	
25	ggguacuugc ugcuccagca gg	82	
30	<210> 112 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 112		
	cucucugcuu ucagcuucuu uacaguguug ccuuguggca uggaguucua gcagcauugu	60	
35	acagggcuau caaagcacag a	81	
40	<210> 113 <211> 90 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 113		
	acacugcaag aacaauaagg auuuuuagg gcauuaugac ugagucagaa aacacagcug	60	
	ccccugaaag uccucuauuu uucuugcugu	90	
45	<210> 114 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 114		

	acugcaagag caauaaggau uuuuaggggc auuugauag uggauggaa acacaucugc	60
	ccccaaaagu ccucuuuuu	80
5	<210> 115 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 115	
	ccuuagcaga gcuguggagu gugacaaugg uguuuguguc uaaacuauca aacgccauua	60
10	ucacacuaaa uagcuacugc uaggc	85
15	<210> 116 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 116	
	agcuguggag ugugacaaug guguuugugu ccaaacuauc aaacgccauu aucacacuaa	60
20	auagcu	66
25	<210> 117 <211> 61 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 117	
	acauuauuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uauaaugcg	60
30	c	61
35	<210> 118 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 118	
	aggccucucu cuccguguuc acagcggacc uugauuuaaa uguccauaca auuaggcac	60
40	gcgugaaug ccaagaaugg ggcug	85
45	<210> 119 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 119	
	aucaagauua gaggcucugc ucuccguguu cacagcggac cuugauuuua ugucauacaa	60
	uuaggcacg cggugaaugc caagagcggg gccuacggcu gcacuugaag	110
	<210> 120 <211> 87	

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 120		
5	ugagggcccc ucugcguguu cacagcggac cuugauuuu	ugucuauaca auuaaggcac	60
	gcgugugaug ccaagagagg cgccucc		87
	<210> 121 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 121		
	cucugcgugu ucacagcggga ccuugauuuu	augucuauac auuaaggca cgcgugaa	60
15	gccaaagag		68
	<210> 122 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 122		
	cucuccgugu ucacagcggga ccuugauuuu	augucuauaca auuaaggcac	60
25	ccaagag		67
	<210> 123 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 123		
	ugccagucuc uaggucccug agaccuuua	accugugagg acauccaggg ucacagguga	60
	gguuccuuggg agccuggcgu cuggcc		86
35	<210> 124 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 124		
	ggucccugag acccuuaac cugugaggac	auccaggguc acaggugagg uuccuugggag	60
	ccugg		65
45	<210> 125 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 125		
	ugcgcuccuc ucagucccug agaccuaac	uugugauguu uaccguuuu	60
	uaggcucuug ggagcugcga gucgugcu		88

ES 2 553 442 T3

5	<210> 126 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 126		
	accagacuuu uccuaguccc ugagaccua acuugugagg uauuuuagua acaucacaag	60	
	ucaggcucuu gggaccuagg cggagggga	89	
10			
	<210> 127 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 127		
	cgcuaggcagc gggacauuau uacuuuuggu acgcgcugug acacuucaaa cucguaccgu	60	
	gaguaaauau gcgccgucca cggca	85	
20			
	<210> 128 <211> 61 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 128		
	acauuauuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uauuaaugcg	60	
	c	61	
30			
	<210> 129 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 129		
	ugugaucacu gucuccagcc ugcugaagcu cagagggcuc uguuucagaa agaucaucgg	60	
	auccgucuga gcuuggcugg ucggaagucu caucauc	97	
40			
	<210> 130 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 130		
	ccagccugcu gaagcucaga gggcucugau ucagaaagau caucggaucc gucugagcuu	60	
45	ggcuuggucgg	70	
50			
	<210> 131 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 131		

	ugagcuguug gauucggggc cguagcacug ucugagaggu uuacauuucu cacagugaac	60
	cggucucuuu uucagcugcu uc	82
5	<210> 132 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 132 gccccggcagc cacugugcag ugggaagggg ggccgauaca cuguacgaga gugaguagca	60
	ggucucacag ugaaccgguc ucuuuccua cugugucaca cuccuaaugg	110
15	<210> 133 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 133 guuggauucg gggccguagc acugucugag agguuuacau uucucacagu gaaccggucu	60
20	cuuuuucagc	70
25	<210> 134 <211> 74 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 134 uggaucuuuu ugcggucugg gcuugcuguu ccucucaaca guagucagga agcccuuacc	60
30	ccaaaagua ucuu	74
35	<210> 135 <211> 90 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 135 ugcccuucgc gaaucuuuuu gcgucuggg cuugcuguac auaacucaau agccggaagc	60
	ccuuaccca aaaagcauuu gcgaggggcg	90
40	<210> 136 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 136 ugcugcuggc cagagcucuu uucacauugu gcuacugucu gcaccuguca cuagcagugc	60
	aauguuaaaa gggcauuggc cguguagug	89
50	<210> 137 <211> 110	

ES 2 553 442 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 137		
5	gccaggaggc gggguugguu guuauuuug guuaucuagc uguaugagug guguggaguc	60	
	uucuuuuagc uaguuuaccg aaaguuuuuu uuuuuuuuuu cacugcgcag	110	
	<210> 138 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 138		
	cacggcgcgg cagcggcacu ggcuaaggga ggcccguuuc ucucuuggu uaucuagcug	60	
15	uauagugucc acagagccgu cauuuagcua guuuuuuuuu aguaguuuuu	110	
	<210> 139 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 139		
	guuuuuuuuu uuuuuuuuuu agcuuuuuuu guuuuuuuuu uuuuuuuuuu cuuuuuuuuu	60	
	uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu	72	
25	<210> 140 <211> 101 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 140		
	ccccccccgc gucuuuuuuu cauuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu	60	
	uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu	101	
35	<210> 141 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 141		
	gggcauuuuu ggcuuuuuuuu uguuuuuuuuu ggaauuuuuuu guuuuuuuuu uuuuuuuuuu	60	
	uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu	66	
	<210> 142 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 142		
50			

	acaugcuuu gcugagcug guaaaaugga accaaaucgc cucucaaug gauuuggucc	60
	ccuacaacca gcuguagcua ugcauuga	88
5	<210> 143 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 143	
	gggagccaaa ugcuuugcua gagcugguaa aauggaacca aaucgacugu ccaauggauu	60
10	ugguuccuu caaccagcug uagcugugca uugauggcgc cg	102
	<210> 144 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 144	
	gcugagcug guaaaaugga accaaaucgc cucucaaug gauuuggucc ccuacaacca	60
	gcuguagc	68
20	<210> 145 <211> 119 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 145	
	ccucagaaga aagaugccc cugcucuggc uggucaaacg gaaccaaguc cgucuuccug	60
	agagguuugg ucccuucaa ccagcuacag cagggcuggc aaugcccagu ccuuggaga	119
30	<210> 146 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 146	
	gccccugcu cuggcugguc aaacggaacc aaguccgucu uccugagagg uuugguuccc	60
	uuaaccagc uacagcaggg	80
40	<210> 147 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 147	
	cagggugugu gacugguuga ccagaggggc augcacugug uucaccugug gggccaccua	60
45	gucaccaacc cuc	73
	<210> 148 <211> 71 <212> ARN	

ES 2 553 442 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 148	
	agggugugug acugguugac cagaggggca ugcacugugu ucacccugug ggccaccuag	60
5	ucaccaaccc u	71
	<210> 149	
	<211> 90	
10	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 149	
	aggccucgcu guucucuaug gcuuuuuuuu ccuaugugau ucuaucugcuc acucauauag	60
	ggauuggagc cguggcgcac ggcggggaca	90
15	<210> 150	
	<211> 100	
	<212> ARN	
20	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 150	
	agauaaaauuc acucuagugc uuuauuggcuu uuuauuccua ugugauagua auaaagucuc	60
	auguagggau ggaagccaug aaauacauug ugaaaaauca	100
25	<210> 151	
	<211> 60	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 151	
	cuauggcuuu uuauuccuau gugauuciac ugcucacuca uauagggauu ggagccgugg	60
	<210> 152	
35	<211> 97	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 152	
	cacucugcug uggccuauug cuuuucauuc cuaugugauu gcuguccca acucauguag	60
40	ggcuaaaagc caugggcuac agugaggggc gaggcucc	97
	<210> 153	
	<211> 82	
45	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 153	
	ugagcccucg gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc	60
50	aaaugagucu ucagaggguu cu	82
	<210> 154	

ES 2 553 442 T3

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

	guguauucua cagugcacgu gucuccagug uggcucggag gcuggagacg cggcccuguu	60
	ggaguaac	68
5	<210> 160 <211> 100 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 160	
	ugugucucuc ucuguguccu gccagugguu uuaccuauug guagguuacg ucaugcuguu	60
10	cuaccacagg guagaaccac ggacaggaua cgggggcacc	100
15	<210> 161 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 161	
	uccugccagu gguuuuaccc uaugguaggu uacgucaugc uguucuacca cagguagaa	60
20	ccacggacag ga	72
25	<210> 162 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 162	
	ccugccagug guuuuacccu augguagguu acgucaugcu guucuaccac agguagaac	60
30	cacggacagg	70
35	<210> 163 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 163	
	cggccggccc uggguccauc uuccaguaca guguuggaug gucuaauugu gaagcuccua	60
40	acacugucug guaaagaugg cucccgggug gguuc	95
45	<210> 164 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 164	
	ggguccaucu uccaguacag uguuggaugg ucuaauugug aagcuccuaa cacugucugg	60
	uaaagauggc cc	72
	<210> 165 <211> 64	

ES 2 553 442 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 165		
5		acccauaaaag uagaaagcac uacuaacagc acuggaggggu guaguguuuc cuacuuuau	60
		gaug	64
	<210> 166		
	<211> 106		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 166		
		gcgcagcggc cugucuccca gccugaggug cagugcugca ucucugguca guugggaguc	60
15		ugagaugaag cacuguagcu caggaagaga gaaguuguuc ugcagc	106
	<210> 167		
	<211> 63		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 167		
		ccugaggugc agugcugcau cucuggucag uugggagucu gagaugaagc acuguagcuc	60
25		agg	63
	<210> 168		
	<211> 86		
30	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 168		
		uggggcccug gcugggauau caucauauac uguaaguug cgaugagaca cuacaguaua	60
		gaugauguac uaguccgggc accccc	86
35	<210> 169		
	<211> 66		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 169		
		ggcuggggaau ucaucauaua cuguaaguuu gcgaugagac acuacaguau agaugaugua	60
		cuaguc	66
	<210> 170		
45	<211> 88		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 170		

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

ES 2 553 442 T3

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

ES 2 553 442 T3

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

	ucucucucuc ccucacagcu gccaguguca uugucacaaa agugaucauu ggcaggugug	60
	gcugcugcau g	71
5	<210> 188 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 188	
	agcggugggc agugucauuu uugugauguu gcagcuagua auaugagccc aguugcauag	60
10	ucacaaaagu gaucauugga aacugug	87
15	<210> 189 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 189	
	cagugucauu uuugugaugu ugcagcuagu aauaugagcc caguugcaua gucacaaaag	60
20	ugaucauug	69
25	<210> 190 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 190	
	gugguacuug aagauagguu auccguguug ccuucgcuu auuugugacg aaucauacac	60
30	gguugaccua uuuuucagua ccaa	84
35	<210> 191 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 191	
	gaagauaggu uauccguguu gccuucgcuu uauuugugac gaaucauaca cgguugaccu	60
40	auuuuu	66
45	<210> 192 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 192	
	cuguuaaugc uaaucgugau agggguuuuu gccuccaacu gacuccuaca uauuagcauu	60
	aacag	65
	<210> 193	

ES 2 553 442 T3

	<211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 193		
	ccuaacacug ucugguaaag auggcucuccg ggugggguucu cucggcagua accuucaggg	60	
	agcccugaag accauggagg ac	82	
10	<210> 194 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 194		
	gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucuccc	60	
	cucuggcugc caauuccaau ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110	
20	<210> 195 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 195		
	ucccgccccc uguaacagca acuccaugug gaagugccca cugguuccag uggggcugcu	60	
25	guuauucuggg gccgagggcca	80	
30	<210> 196 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 196		
	aaagcugggu ugagagggcg aaaaaggau aggugacugg ucugggcuac gcuaugcugc	60	
35	ggcgcucggg	70	
40	<210> 197 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 197		
	cauuggccuc cuaagccagg gauugugggu ucgaguccca cccgggguaa agaaaggccg	60	
	aauu	64	
45	<210> 198 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 198		

	ccuaagccag ggauuguggg uucgaguccc accuggggua gaggugaaag uuccuuuuac	60
	ggaauuuuuu	70
5	<210> 199 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 199	
	caaugucagc agugccuuag cagcacguaa auauuggcgu uaagauucua aaauuauucuc	60
10	caguauuaac ugugcugcug aaguaagguu gaccuauucuc uacaguug	108
15	<210> 200 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 200	
	gggcuuucaa gucacuagug guuccguuuu guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
20	gcccuauguga cuacaaagcc c	81
25	<210> 201 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 201	
	acgcaagugu ccuaagguga gcucagggag cacagaaacc uccaguggaa cagaagggca	60
30	aaagcucauu	70
35	<210> 202 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 202	
	caugugucac uuucagggug aguuucaaga gucccuuccu gguucaccgu cuccuuugcu	60
40	cuuccacaac	70
45	<210> 203 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 203	
	agaagggcua ucaggccagc cuucagagga cuccaaggaa cauucaacgc ugucggugag	60
	uuugggauuu gaaaaaacca cugaccguug acuguaccuu gggguccuaa	110
	<210> 204 <211> 110	

ES 2 553 442 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 204	ccugugcaga gauuauuuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug	60
		aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu	110
10	<210> 205 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 205	cugauggcug cacucaacau ucauugcugu cgguggguuu gagucugaau caacucacug	60
15		aucaaugaa gcaaacugcg gaccaaaca	89
20	<210> 206 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 206	cggaaaauuu gccaaagguu ugggggaaca uucaaccugu cggugaguuu gggcagcuca	60
25		ggcaaaccou cgaccguuga guggaccug aggccuggaa uugccauccu	110
30	<210> 207 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 207	gagcugcuug ccucaccccg uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg	60
35		auccgguggu ucuagacuug ccaacuauug ggcgaggacu cagccggcac	110
40	<210> 208 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 208	uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg auccgguggu ucuagacuug	60
45		ccaacuauug	70
50	<210> 209 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 209		

	ccgcagagug ugacuccugu ucuguguaug gcacugguag aaucacugu gaacagucuc	60
	agucagugaa uuaccgaagg gccauaaaca gagcagagac agauccacga	110
5	<210> 210 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 210	
	ccagucacgu ccccuuauca cuuuuccagc ccagcuuugu gacuguaagu guuggacgga	60
10	gaacugauaa ggguaagguga uuga	84
15	<210> 211 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 211	
	ccuuaucau uuuccagccc agcuuuguga cuguaagugu uggacggaga acugauaagg	60
20	guagg	65
25	<210> 212 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 212	
	agggggcgag ggaauaggaga gaaaggcagu uccugauggu cccuucccca ggggcuggcu	60
30	uuccucuggu ccuuccucc ca	82
35	<210> 213 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 213	
	agggauugga gagaaaggca guuccugaug gucccccucc caggggcugg cuuuccucug	60
40	guccuu	66
45	<210> 214 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 214	
	ugcuuguaac uuuccaaaga auucuccuuu ugggcuuucu gguuuuuuu uaagcccaaa	60
50	ggugaauuuu uugggaaguu ugagcu	86
	<210> 215 <211> 71 <212> ARN	

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 215		
	acuuuccaaa gaauucuccu uuugggcuuu cugguuuuau uuuaagccca aaggugaauu	60	
5	uuuugggaag u	71	
	<210> 216		
	<211> 109		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 216		
	ggucgggcuc accaugacac agugugagac ucgggcuaaca acacaggacc cggggcgcug	60	
	cucugacccc ucgugucuug uguugcagcc ggagggacgc agguccgca	109	
15			
	<210> 217		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 217		
	ugcuccucu cucacauccc uugcauggug gagggugagc uuucugaaa cccucccac	60	
	augcaggguu ugcaggaugg cgagcc	86	
25			
	<210> 218		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 218		
	ucucacaucc cuugcauggu ggagggugag cuuucugaaa accccuccca caugcagggu	60	
	uugcagga	68	
35			
	<210> 219		
	<211> 102		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 219		
	cugucgauug gacccgccc cgggugccua cugagcugau aucaguucuc auuuuacaca	60	
	cuggcucagu ucagcaggaa caggagucga gcccuugagc aa	102	
45			
	<210> 220		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 220		
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuaca cacuggcuca guucagcagg	60	
50	aacaggag	68	

ES 2 553 442 T3

5	<210> 221 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 221		
	ugcaggccuc ugugugauau guuugauaua uuagguuguu auuuaaucca acuaauauuc	60	
10	aaacauauuc cuacaguguc uugcc	85	
	<210> 222 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 222		
	cugugugaua uguuugauau auuagguugu uauuuauucc aacuaauauu caaacauauu	60	
	ccuacag	67	
20	<210> 223 <211> 92 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 223		
	cggcuggaca gcgggcaacg gaaucctaaa agcagcuguu gucuccagag cauuccagcu	60	
	gcgcuuggau uucgucuccu gcucuccugc cu	92	
30	<210> 224 <211> 74 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 224		
	agcgggcaac ggaaucccaa aagcagcugu ugucuccaga gcauuccagc ugcgcuugga	60	
	uuucgucucc ugcu	74	
40	<210> 225 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 225		
	ccgagaccga gugcacaggg cucugaccua ugaauugaca gccagugcuc ucgucucucc	60	
45	ucuggcugcc aauuccauag gucacaggua uguucgcuc aaugccag	108	
50	<210> 226 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 226		

ES 2 553 442 T3

	gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucucc	60
	cucuggcugc caauuccaaua ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110
5	<210> 227 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 227	
	cgagggauggg agcugagggc ugggucuuug cgggagagau gagggugucg gaucaacugg	60
10	ccuacaaagu cccaguucuc ggcccccg	88
15	<210> 228 <211> 58 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 228 gcuggucuu ugcgggagc augagggugu cggaucaacu ggccuacaaa gucccagu58	
20	<210> 229 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 229	
	augguguuau caaguguaac agcaacucca uguggacugu guaccaauuu ccaguggaga	60
	ugcuguuacu uuugaugguu accaa	85
30	<210> 230 <211> 63 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 230	
	guguaacagc aacuccaugu ggacugugua ccaauucca guggagaugc uguuacuuuu	60
	gau	63
40	<210> 231 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 231	
	agcuucccug gcucuagcag cacagaaaua uuggcacagg gaagcgaguc ugccaauuu	60
45	ggcugugcug cuccaggcag gguggug	87
50	<210> 232 <211> 58 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 553 442 T3

	<400> 232		
	uagcagcaca gaaauauugg cacaggaag cgagucugcc aauauuggcu gugcugcu58		
5	<210> 233		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 233		
	cuagagc<u>uu</u>g aauugga<u>acu</u> gcugagugaa uuagguaguu ucauguuguu gggccugggu	60	
	uucugaacac aacaacauua aaccacccga uucacggcag uuacugcucc	110	
15	<210> 234		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 234		
	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc ugguuuucug aacacaaca cauuaaacca	60	
	cccgauucac	70	
25	<210> 235		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 235		
	ugcucgcuca gcugaucugu ggcuuaggua guuucauguu guugggauug aguuuugaac	60	
	ucggcaacaa gaaacugccu gaguacauc agucgguuuu cgucgagggc	110	
35	<210> 236		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 236		
	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc ugguuuucug aacacaaca cauuaaacca	60	
	cccgauucac	70	
45	<210> 237		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 237		
	acuggucggu gauuuaggua guuuccuguu guugggaucc accuuucucu cgacagcacg	60	
	aacacugccuu cauuacuuca guug	84	
55	<210> 238		
	<211> 75		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		

ES 2 553 442 T3

	<400> 238		
		ggcugugccg gguagagagg gcagugggag gnaagagcuc uucacccuuc accaccuucu	60
		ccaccagca uggcc	75
5	<210> 239 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 239	gugcaugugu auguauugu gcaugugcau guguaugugu augagugcau gcguguggc	60
15	<210> 240 <211> 62 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 240	ucauuggucc agaggggaga uagguuccug ugauuuuucc uucucucua uagaauaaau	60
20		ga	62
25	<210> 241 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 241	gccaaaccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac	60
30		auugguuagg c	71
35	<210> 242 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 242	aggaagcuuc uggagaucuu gcuccgucgc cccaguguuc agacuaccug uucaggacaa	60
40		ugccguugua caguagucug cacauugguu agacugggca agggagagca	110
45	<210> 243 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 243	ccagaggaca ccuccacucc gucuaccag uguuuagacu aucuguucag gacucccaaa	60
50		uuguacagua gucugcacau ugguuaggcu gggcuggguu agaccucgg	110
	<210> 244 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		

ES 2 553 442 T3

	<400> 244		
		gccaaaccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac	60
		auugguuagg c	71
5	<210> 245 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 245		
		gccguggcca ucuuacuggg cagcauugga uggagucagg ucucuaauac ugccugguaa	60
		ugaugacggc	70
15	<210> 246 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 246		
		ccagcucggg cagccguggc caucuucug ggcagcauug gauggaguca ggucucuaau	60
		acugccuggu aaugaugacg gcggagcccu gcacg	95
25	<210> 247 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 247		
		cccucgucuu acccagcagu guuugggugc gguugggagu cucuaauacu gccggguaau	60
30		gauggagg	68
35	<210> 248 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 248		
		guuccuuuuu ccuaugcaua uacuucuuug aggaucuggc cuaaagaggu auagggcaug	60
		ggaagaugga gc	72
45	<210> 249 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 249		
		guguugggga cucgcgcgc cuugguccagug guucuaaca guucaacagu ucuguagcgc	60
		aaauugugaaa uguuuaggac cacuagaccc gccgggfcgfc gcgacagcga	110

ES 2 553 442 T3

	<210> 250		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 250		
	ggcuacaguc uuucuucaug ugacucgugg acuuccuuu gucauccuau gccugagaau	60	
	auaugaagga ggcugggaag gcaaaggac guucaauugu caucacuggc	110	
10	<210> 251		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 251		
	aaagauccuc agacaaucca ugugcuucuc uuguccuua uuccaccgga gucugucuca	60	
	uacccaacca gauuucagug gagugaagu caggaggcau ggagcugaca	110	
20	<210> 252		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 252		
	ugcuucccga ggccacaugc uucuuuauau ccccauugg auuacuuugc uauggaangu	60	
	aaggaagugu gugguuucgg caagug	86	
30	<210> 253		
	<211> 69		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 253		
	aggccacaug cuucuuuaua ucccacauug gauuacuuug cuauggaang uaaggaagug	60	
35	ugugguuuu	69	
40	<210> 254		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 254		
	ugacgggcca gcuuuuggcc cggguuauac cugaugcuca cguauaagac gagcaaaaag	60	
45	cuuguugguc a	71	
50	<210> 255		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 255		

ES 2 553 442 T3

accggcagu gccuccaggc gcagggcagc ccugcccac cgcacacugc gcugccccag 60
accacugug cgugugacag cggcugaucu gugccugggc agcgcgaccc 110
 <210> 256
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 256
ucaccugggc augugacuug ugggcuuccc uuugucaucc uucgccuagg gcucugagca 60
gggcagggac agcaaagggg ugcucaguug ucacuuccca cagcacggag 110
 <210> 257
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 257
cggggcaccc cgcccggaca gcgogccggc accuuggcuc uagacugcuu acugcccggg 60
ccgcccucag uaacagucuc cagucacggc caccgacgcc uggccccgcc 110
 <210> 258
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 258
ccugugcaga gauuauuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug 60
aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu 110
 <210> 259
 <211> 108
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 259
gaguuugag guugcuucag ugaacauuca acgcugucgg ugaguuugga auuaaaauca 60
aaaccaucga ccguugauug uaccuauugg cuaaccauca ucuacucc 108
 <210> 260
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 260
ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc 60
gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu 110
 <210> 261
 <211> 110

ES 2 553 442 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 261		
5		aucauuçaga aaugguauac aggaaaauga ccuaugaaau çacagacaau auagcugagu	60
		uugucuguca uuucuuuagg ccaauauucu guaugacugu çcuacucaa	110
	<210> 262 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 262		
		gauggcugug aguuggcuua aucucagcug çcaacuguga gauguucaua caaucccuca	60
15		çaguggucuc ugççauuauç cuaaacagag caauuuccua çccucacga	110
	<210> 263 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20			
	<400> 263		
		aguauaaaua uuacauaguu uuugaugucg çagauacugc aucaggaacu gauuggauaa	60
25		gaucaguca ccaucaguuc cuaaugçauu çccuucagca ucuaacaag	110
	<210> 264 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 264		
		gugauaaugu agççagauuu ucuguuguc uugaucuaac çaugugguug ççagguauçga	60
		guaaaacaug guuccgucaa çcaccaugga aççucacgca çcuuucuaca	110
35	<210> 265 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 265		
40		çaccagucgc ugççççççuu uccuuuguc uugaucuaac çauguggug aacgauggaa	60
		aççgaacaug guucuguca çcaccçççga aççaccççg çucuccugca	110
	<210> 266 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
45			
	<400> 266		
50			

ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuaa ggcuccggcc 60
gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gcccccacaac cucgagcggg 110
 5 <210> 267
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 267
ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuaa ggcuccggcc 60
gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gcccccacaac cucgagcggg 110
 10 <210> 268
 <211> 97
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 268
acucaggggc uucgccacug auuguccaaa cgcaauucuu guacgagucu gcggccaacc 60
gagaauugug gcuggacauc uguggcugag cuccggg 97
 20 <210> 269
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 269
gacagugugg cauuguaggg cuccacaccg uaucugacac uuugggogag ggcaccaugc 60
ugaagguguu caugaugcgg ucugggaacu ccucacggau cuuacugaug 110
 30 <210> 270
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35 <400> 270
ugaacaucca ggucuggggc augaaccugg cauacaaugu agauuucugu guucguuagg 60
caacagcuac auugucugcu ggguuucagg cuaccuggaa acauguucuc 110
 40 <210> 271
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 271
gcugcuggaa gguguaggua cccucaaugg cucaguagcc aguguagauc cugucuuucg 60
uaaucagcag cuacaucugg cuacuggguc ucugauggca ucuucuaucu 110
 <210> 272

ES 2 553 442 T3

	<211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 272		
	ccuggccucc ugcagugcca cgcuccgugu auuugacaag cugaguugga cacuccaugu	60	
	gguagagugu caguullguca aauaccccaa gugcggcaca ugcuuaccag	110	
10	<210> 273 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 273		
	gggcuuucaa gucacuagug guuccguuuu guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60	
	gcccuauguga cuacaaagcc c	81	
20	<210> 274 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 274 caaucuuccu uaucauggu auugauuuuu cagugcuucc cuuuugugug agagaagaua	60	
30	<210> 275 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 275		
	aggacccuuc cagagggccc ccccucaauc cuguugugcc uaaucagag gguugggugg	60	
	aggcucuccu gaagggcucu	80	
40	<210> 276 <211> 63 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 276		
	aagaaauggu uuaccgucc acauacauuu ugaauaugua ugugggaugg uaaaccgcuu	60	
	cuu	63	
50	<210> 277 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
55	<400> 277		
	acugcuaacg aaugcucuga cuuuauugca cuacuguacu uuacagcuag cagugcaaua	60	
	guauugucaa agcaucugaa agcagg	86	
	<210> 278		

	<211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 278		
	ccaccacuua aacguggaug uacuugcuuu gaaacuaaag aaguaagugc uuccauguuu	60	
	uggugaugg	69	
10	<210> 279 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 279		
	gcucccuuca acuuuaacau ggaagugcuu ucugugacuu uaaaaguaag ugcuucaug	60	
	uuuuaguagg agu	73	
20	<210> 280 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 280		
	ccuuugcuuu aacauggggg uaccugcugu gugaaaciaa aaguaagugc uccauguuuc	60	
25	aguggagg	68	
30	<210> 281 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 281		
	ccucuacuuu acauggagg cacuugcugu gacaugaciaa aaauaagugc uccauguuu	60	
	gagugugg	68	
35	<210> 282 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 282		
	gcuucgcucc ccuccgccuu cucuucccgg uucuuucccgg agucgggaaa agcuggguug	60	
	agagggcgaa aaaggauag gu	82	
45	<210> 283 <211> 59 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 283		
	uuggccucc aagccagga uuguggguuc gaguccacc cggguaaag aaaggccga	59	

ES 2 553 442 T3

	<210> 284		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 284		
	uugguacuug gagagaggug guccguggcg cguucgcuu auuuuggcg cacauuacac	60	
	ggucgaccuc uuugcaguau cuaauc	86	
10	<210> 285		
	<211> 83		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 285		
	cugacuauugc cuccccgcau ccccuagggc auugguguaa agcuggagac ccacugcccc	60	
	aggugcugcu gggggguugua guc	83	
20	<210> 286		
	<211> 98		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 286		
	auacagugcu ugguuccuag uaggugucca guaaguguuu gugacauau uuguuuauug	60	
	aggaccuccu aucaaucaag cacugugcua ggcucugg	98	
30	<210> 287		
	<211> 95		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 287		
	cucaucuguc uguugggucg gaggcagggc cuuugugaag gcgggugggug cucagaucgc	60	
	cucuggggccc uuccuccagc cccgagggcg auuca	95	
35			
40	<210> 288		
	<211> 75		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 288		
	uggaguggggg gggcaggagg ggcucagggg gaaagugcau acagccccug gccucucug	60	
	cccuuccguc ccug	75	
45			
50	<210> 289		
	<211> 94		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 289		

ES 2 553 442 T3

	cuuuggcgau cacugccucu cugggccugu gucuuaggcu cugcaagauc aaccgagcaa	60
	agcacacggc cugcagagag gcagcgcucu gccc	94
5	<210> 290 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 290	
	gaguuuugguu uuguuuugggu uuguucuagg uaugguccca gggaucccag aucaaaccag	60
10	gccccugggc cuauccuaga accaaccuaa gcuc	94
15	<210> 291 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 291	
	uguuuugagc gggggucaag agcaauaacg aaaaanguuu gucauaaacg guuuuucuu	60
20	auugcuccug accuccucuc auuugcuaua uuca	94
25	<210> 292 <211> 93 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 292	
	guagucagua guuggggggu gggaacggcu ucauacagga guugaugcac aguuauccag	60
30	cuccuauaug augccuuucu ucauccccuu caa	93
35	<210> 293 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 293	
	ucuccaacia uauccuggug cugagugaug acucaggcga cuccagcauc agugauuuug	60
40	uugaaga	67
45	<210> 294 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 294	
	cgggggcgcc gcucuccug uccuccagga gcucacgugu gccugccugu gagcgccug	60
	acgacagagc cggcgccugc cccagugucu gcgc	94
	<210> 295 <211> 95	

ES 2 553 442 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 295	uuguaccugg ugugauuaua aagcaaugag acugauuguc auaugucguu ugugggaucc	60
		gucucaguuu cuuuauagcc auaccuggua ucuua	95
10	<210> 296 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 296	gaaacuggggc ucaaggugag gggugcuauc ugugauugag ggacaugguu aauggaaug	60
15		ucucacacag aaauccgacc cgucaccuug gccuacuuu	99
20	<210> 297 <211> 98 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 297	acccaaacc uaggucugcu gacuccuagu ccagggcucg ugauggcugg ugggccuga	60
25		acgagggguc uggaggccug gguuugaaua ucgacagc	98
30	<210> 298 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 298	gucugucugc ccgcaugccu gccucucugu ugcucugaag gaggcagggg cugggcccugc	60
35		agcugccugg gcagagcggc uccugc	86
40	<210> 299 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 299	ccaauacugu ugcuaauaug caacucuguu gaauauaaau uggaauugca cuuuagcaau	60
45		ggugaugg	68
50	<210> 300 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 300		

	aaaaggugga uauuccuucu auguuuauugu uauuuauuggu uaaacauaga ggaaauucca	60
	cguuuu	66
5	<210> 301 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 301	
	uugaagggag aucgaccgug uuauauucgc uuauuugacu ucgaauaaua caugguugau	60
10	cuuuucucag	70
15	<210> 302 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 302	
	agacagagaa gccaggucac gucucugcag uuacacagcu cacgagugcc ugcuggggug	60
20	gaaccugguc ugucu	75
25	<210> 303 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 303	
	guggcacuca aacugugggg gcacuuucug cucucuggug aaagugccgc caucuuuuga	60
30	guguuac	67
35	<210> 304 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 304	
	gugggccuca aaugugggag acuaauucuga uguccaagug gaaagugcug cgacauuuga	60
40	gcgucac	67
45	<210> 305 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 305	
	gggauacuca aauggggggc gcuuuccuuu uugucuguac ugsgaagugc uucgauuuug	60
50	ggguguccc	69
	<210> 306 <211> 72 <212> ARN	

ES 2 553 442 T3

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

	<400> 312 ugagguagua gguuguaugg uu 22	
5	<210> 313 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 313 agagguagua gguugcauag u	21
15	<210> 314 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 314 ugagguagga gguuguauag u	21
25	<210> 315 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 315 ugagguagua gauuguauag uu 22	
35	<210> 316 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 316 ugagguagua guuuguacag u	21
45	<210> 317 <211> 19 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 317 ugagguagua guuugugcu	19
55	<210> 318 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 318 uggaauguaa agaaguaugu a	21
65	<210> 319 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
70	<400> 319 uggaagacua gugauuuugu u	21
75	<210> 320 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
80	<400> 320 ucuuugguua ucuagcugua uga	23

ES 2 553 442 T3

5 <210> 321
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 321
 uaaagcuaga uaaccgaaag u 21

 10 <210> 322
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 15 <400> 322
 uaccuguag auccgaauuu gug 23

 20 <210> 323
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 25 <400> 323
 uaccuguag aaccgaauuu gu 22

 30 <210> 324
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 324
 uagcagcaca uaaugguuug ug 22

 35 <210> 325
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 40 <400> 325
 uagcagcaca ucaugguuuu ca 22

 45 <210> 326
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 326
 uagcagcacg uaaaauuugg cg 22

 50 <210> 327
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 55 <400> 327
 caaagugcuu acagucagg uagu 24

 60 <210> 328
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 328
 acugcaguga aggcacuugu 20

 65 <210> 329

	<211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 329 uaaggugcau cuagucaga ua	22
10	<210> 330 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 330 ugugcaaauc uaugcaaac uga	23
20	<210> 331 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 331 ugugcaaauc caugcaaac uga	23
30	<210> 332 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 332 uaaagugcuu auagucagg ua	22
40	<210> 333 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 333 uagcuuauca gacugauguu ga	22
50	<210> 334 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 334 aagcugccag uugaagaacu gu	22
60	<210> 335 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 335 aucacauugc cagggauuuc c	21
	<210> 336 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 336 aucacauugc cagggauuac cac23	
	<210> 337 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

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

uagcaccauu ugaaaucagu 20
 <210> 346
 <211> 22
 5 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 346
 uagcaccauu ugaaaucggu ua 22
 10 <210> 347
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 347
 uguaaacauc cucgacugga age 23
 <210> 348
 20 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 348
 25 cuuucagucg gauguuugca gc 22
 <210> 349
 <211> 21
 <212> ARN
 30 <213> *Homo sapiens*
 <400> 349
 uguaaacauc cuacacucag c 21
 35 <210> 350
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 350
 uguaaacauc cuacacucuc age2
 3
 <210> 351
 <211> 22
 45 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 351
 50 uguaaacauc cccgacugga ag 22
 <210> 352
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 55 <400> 352
 uguaaacauc cuugacugga 20
 <210> 353
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 60 <400> 353
 65 ggcaagaucg uggcauagcu g 21

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

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 5 <400> 362
 uuuggcacua gcacauuuuu gc 22

 10 <210> 363
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 15 <400> 363
 ugagguagua aguuguauug uu 22

 20 <210> 364
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 25 <400> 364
 aaccgguaga uccgaucuug ug 22

 30 <210> 365
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 35 <400> 365
 caccgguaga accgaccuug cg 22

 40 <210> 366
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 45 <400> 366
 uacaguacug ugauaacuga ag 22

 50 <210> 367
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 55 <400> 367
 uacaguacug ugauaacuga ag 22

 60 <210> 368
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 65 <400> 368
 agcagcauug uacagggcua uga 23

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

 <400> 369
 ucaaaugcuc agacuccugu 20

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

ES 2 553 442 T3

	<400> 370 aaaagugcuu acagucagg uagc	24
5	<210> 371 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 371 uaaagucgug acagucaga u	21
15	<210> 372 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 372 agcagcauug uacagggcua uca	23
25	<210> 373 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 373 uggaguguga caaugguguu ugu	23
35	<210> 374 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 374 uuaaggcacg cggugaaugc ca	22
45	<210> 375 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 375 ucccugagac ccuuuaaccu gug23	
55	<210> 376 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 376 ucccugagac ccuaacuugu ga	22
65	<210> 377 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 377 cauuauuacu uuugguacgc g	21
	<210> 378 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 378	

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

<210> 387
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 387
 uugguccccu ucaaccagcu a 21
 <210> 388
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 10
 <400> 388
 ugugacuggu ugaccagagg g 21
 <210> 389
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 20
 <400> 389
 uauggcuuuu uauuccuaug uga 23
 <210> 390
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <400> 390
 uauggcuuuu cauuccuaug ug 22
 <210> 391
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30
 <400> 391
 acuccauuug uuuugaugau gga 23
 <210> 392
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 392
 uauugcuuaa gaauacgcgu ag 22
 <210> 393
 <211> 17
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40
 <400> 393
 agcugguguu gugaauc 17
 <210> 394
 <211> 18
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 394
 ucuacagugc acgugucu 18
 <210> 395
 <211> 21
 60
 65

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 395 agugguuuuu cccuauggua g	21
10	<210> 396 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 396 aacacugucu gguaaagaug g	21
20	<210> 397 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 397 uguaguguuu ccuacuuuau gga	23
30	<210> 398 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 398 cauaaaguag aaagcacuac	20
40	<210> 399 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 399 ugagaugaag cacuguagcu ca	22
50	<210> 400 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 400 uacaguauag augauguacu ag	22
60	<210> 401 <211> 24 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 401 guccaguuuu cccaggaauc ccuu	24
70	<210> 402 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
75	<400> 402 ugagaacuga auuccauggg uu	22
80	<210> 403 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

<400> 403
 guguguggaa augcuucugc 20

5 <210> 404
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 404
 ucagugcacu acagaacuuu gu 22

15 <210> 405
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 405
 ucagugcauc acagaacuuu gu 22

25 <210> 406
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 406
 ucuggcuccg ugucuucacu cc 22

35 <210> 407
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 407
 ucucccaacc cuuguaccag ug 22

45 <210> 408
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 408
 acuagacuga agcuccuuga gg 22

55 <210> 409
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 409
 ucagugcaug acagaacuug g 21

65 <210> 410
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 410
 uugcauaguc acaaaaguga 20

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

<400> 411

	uagguuaucc guguugccuu cg	22
5	<210> 412 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 412 aauc <u>au</u> acac gguugaccua uu	22
15	<210> 413 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 413 uu <u>aa</u> ugcuaa ucgugauagg gg	22
25	<210> 414 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 414 aac <u>au</u> caac gcugucggug agu	23
35	<210> 415 <211> 24 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 415 aac <u>au</u> cauu gcugucggug gguu	24
45	<210> 416 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 416 aac <u>au</u> caac cugucgguga gu	22
55	<210> 417 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 417 uu <u>gg</u> caaug guagaacuca ca	22
65	<210> 418 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
70	<400> 418 uggu <u>uc</u> uaga cuugccaacu a	21
75	<210> 419 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
80	<400> 419 ua <u>gg</u> cacug guaga <u>au</u> ca cug	23

ES 2 553 442 T3

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

ES 2 553 442 T3

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

<400> 436
 cccaguguuc agacuaccug uuc23

5 <210> 437
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 437
 uacaguaguc ugcacauugg uu 22

15 <210> 438
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 438
 cccaguguuu agacuaucug uuc 23

25 <210> 439
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 439
 uaacacuguc ugguaacgau gu 22

35 <210> 440
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 440
 cucuaauacu gccugguaau gaug 24

45 <210> 441
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 441
 aauacugccg gguaaugaug ga 22

55 <210> 442
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 442
 agagguauag ggcaugggaa ga 22

65 <210> 443
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 443
 gugaaauguu uaggaccacu ag 22

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

<400> 444

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

ES 2 553 442 T3

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

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 461 ugucaguuug ucaaa <u>u</u> accc c	21
10	<210> 462 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 462 caagucacua guggu <u>u</u> ccgu uua	23
20	<210> 463 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 463 agg <u>g</u> cccc cuca <u>u</u> ccug u	21
30	<210> 464 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 464 ugguu <u>u</u> accg ucc <u>u</u> cauac au	22
40	<210> 465 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 465 cagug <u>u</u> caua guau <u>u</u> gucaa age	23
50	<210> 466 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 466 uaagug <u>u</u> cuuc ca <u>u</u> guuu <u>u</u> gg uga	23
60	<210> 467 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 467 acu <u>u</u> uaacau ggaagug <u>u</u> cuu ucu	23
70	<210> 468 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
75	<400> 468 uaagug <u>u</u> cuuc ca <u>u</u> guuu <u>u</u> ag uag	23
80	<210> 469 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

	<400> 469 uuuaacaugg ggguaaccugc ug	22
5	<210> 470 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 470 uaagugcuuc cauguuucag ugg	23
15	<210> 471 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 471 uaagugcuuc cauguuugag ugu	23
25	<210> 472 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 472 aaaagcuggg uugagagggc gaa	23
35	<210> 473 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 473 uaagccaggg auuguggguu c	21
45	<210> 474 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 474 gcacauuaca cggucgaccu cu	22
55	<210> 475 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 475 cgcauccccu agggcauugg ugu23	
65	<210> 476 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 476 ccacugcccc aggugcugcu gg	22
	<210> 477 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 477	

	ccuaguaggu guccaguaag u	21
5	<210> 478 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 478 ccucugggcc cuuccuccag	20
15	<210> 479 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 479 cuggcccucu cugcccuucc gu	22
25	<210> 480 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 480 gcaaagcaca cggccugcag aga23	
35	<210> 481 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 481 gcccugggc cuauccuaga a	21
45	<210> 482 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 482 ucaagagcaa uaacgaaaaa ugu	23
55	<210> 483 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 483 uccaguccu auaugaugcc uuu23	
65	<210> 484 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 484 uccagcauca gugauuuugu uga	23
	<210> 485 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 485 ucccuguccu ccaggagcuc a	21

ES 2 553 442 T3

<210> 486
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 486
 uccgucucag uuacuuuaua gcc23
 10
 <210> 487
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 487
 ucucacacag aaaucgcacc cguc 24
 <210> 488
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 20
 <400> 488
 ugcugacucc uaguccaggg c 21
 25
 <210> 489
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30
 <400> 489
 ugucugcccg caugccugcc ucu 23
 <210> 490
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 490
 aaugcacuu uagcaauggu ga 22
 <210> 491
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 491
 acauagagga aauccacgu uu 22
 50
 <210> 492
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 55
 <400> 492
 aauaaucacu gguugaucuu u 21
 <210> 493
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 60
 <400> 493
 gccugcuggg guggaaccug g 21
 65
 <210> 494

ES 2 553 442 T3

	<211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 494 gugccgccau cuuuugagug u	21
10	<210> 495 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 495 aaagugcugc gacauuugag cgu	23
20	<210> 496 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 496 acucaaaug ggggcgcuu cc	22
30	<210> 497 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 497 gaagugcuuc gauuuugggg ugu	23
	<210> 498 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 498 uuauauaca accugauaag ug 22	

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer de pulmón, que comprende la medición del nivel de los productos génicos de miR en una muestra de ensayo de tejido pulmonar dicho sujeto, en el que una alteración del nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo, con respecto al nivel correspondiente de los productos génicos de miR en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene cáncer de pulmón en el que los productos génicos de miR comprenden un grupo de productos génicos de miR, consistiendo dicho grupo en miR-21, miR-191, miR-155, miR-210, miR-126* y miR-224; y en el que el nivel de los productos génicos miR-21, miR-191, miR-155 and miR-210 en la muestra de ensayo es mayor que el correspondiente producto génico de miR en la muestra de control y en el que el nivel de los productos génicos miR-126* and miR-224 en la muestra de ensayo es menor que el nivel del correspondiente producto génico de miR en la muestra de control.
2. El procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 1 en el que el cáncer de pulmón es adenocarcinoma de pulmón.
3. El procedimiento de acuerdo con la Reivindicación 1 en el que el cáncer de pulmón es carcinoma pulmonar de células escamosas.
4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado** además **por que** comprende las etapas siguientes:
- la transcripción inversa de ARN de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar un conjunto de oligodesoxinucleótidos diana;
- hibridar los oligodesoxinucleótidos diana con una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para proporcionar un perfil de hibridación de dicha muestra de ensayo; y
- comparar el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con el perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control, en el que una alteración de la señal es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer de pulmón con un pronóstico adverso en el que una alteración de la señal de l grupo de miR es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer de pulmón.

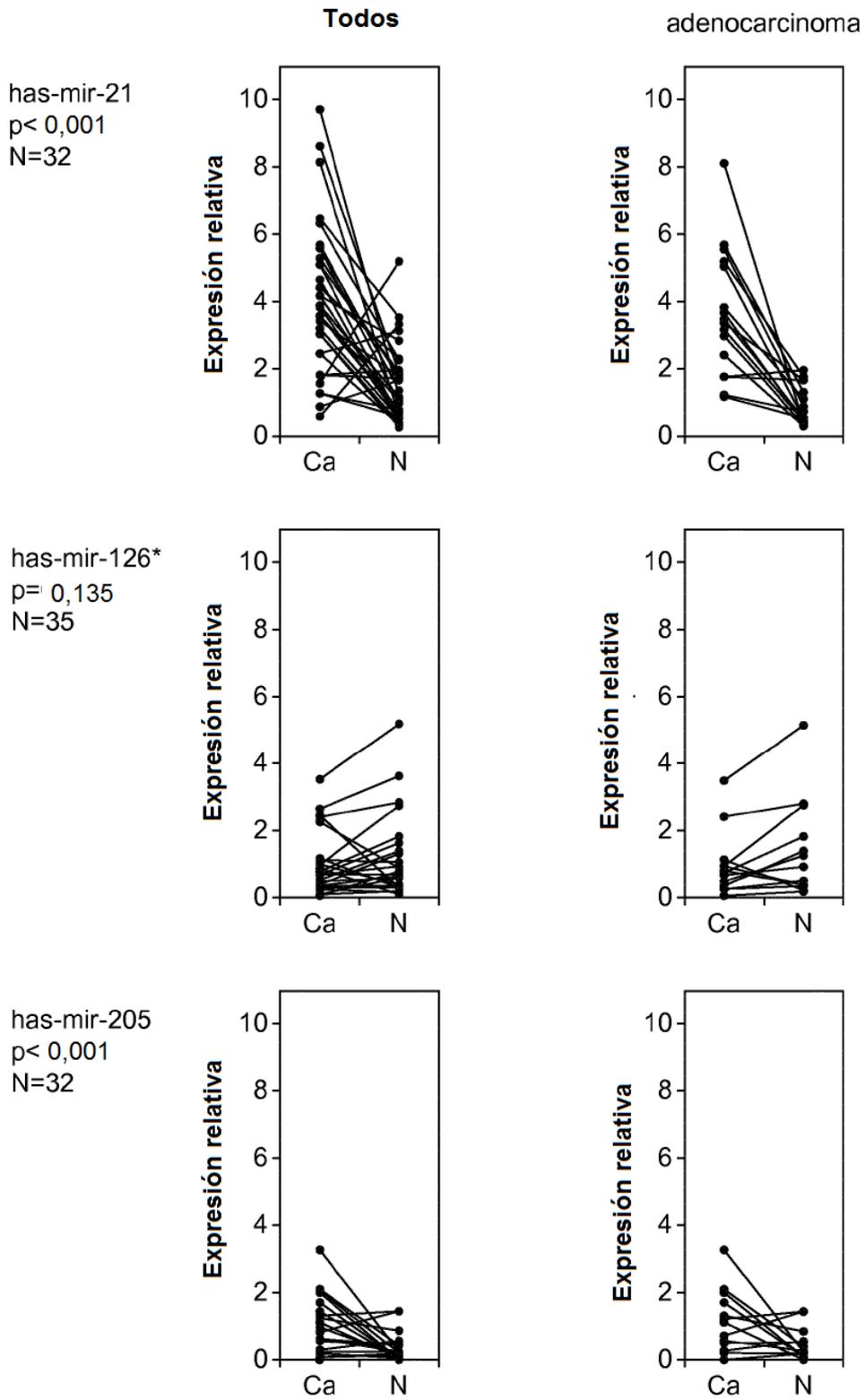


FIG. 1

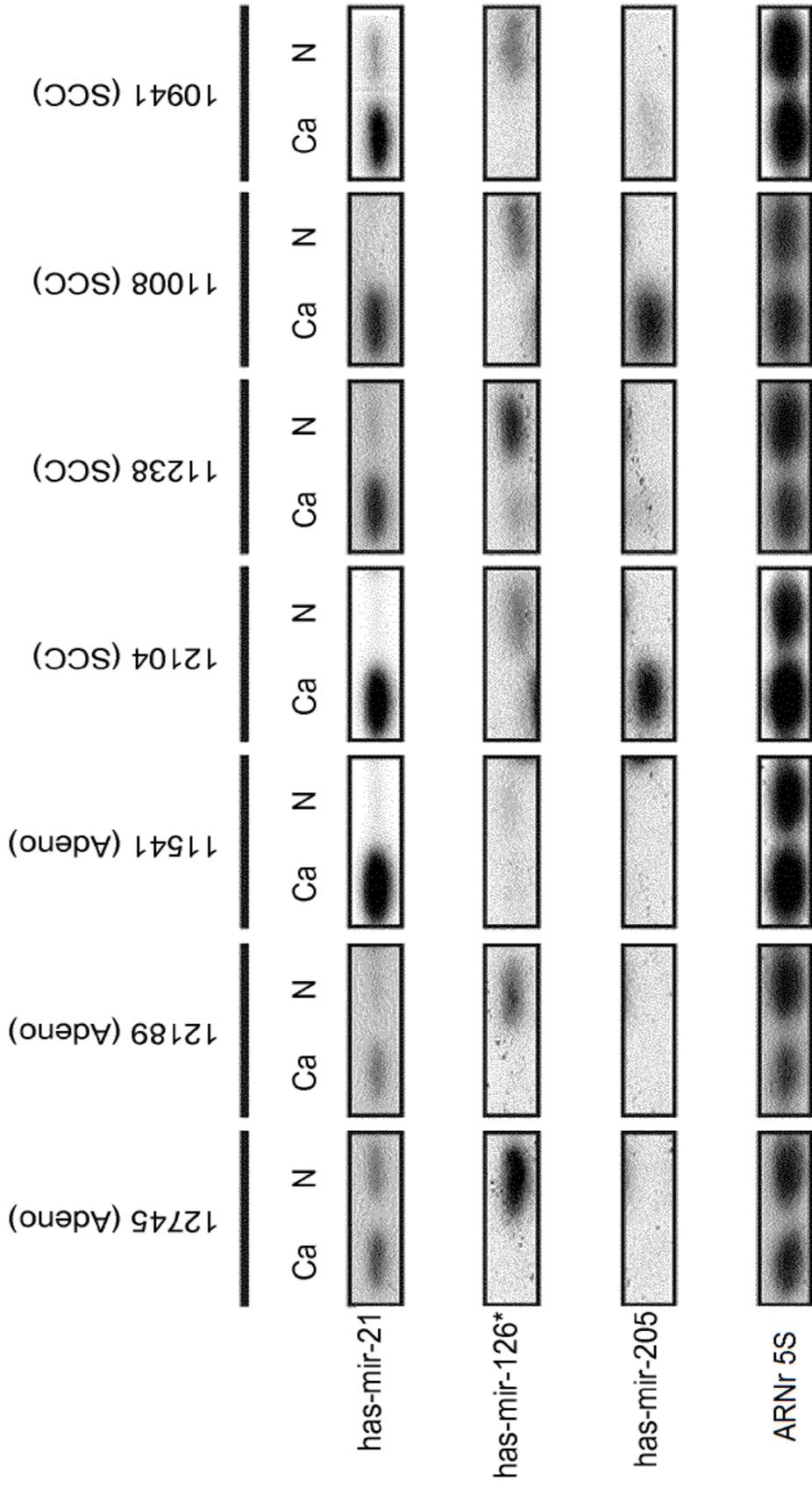


FIG. 2

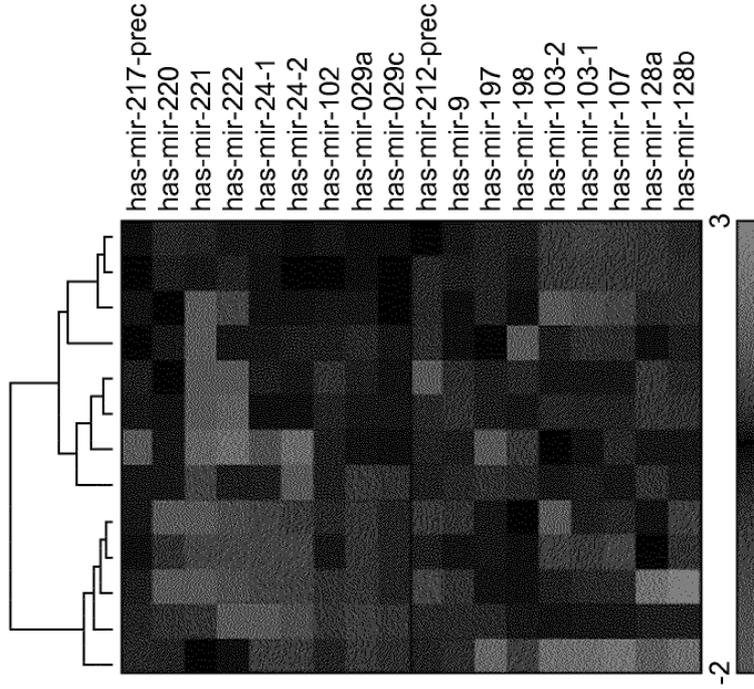


FIG. 3B

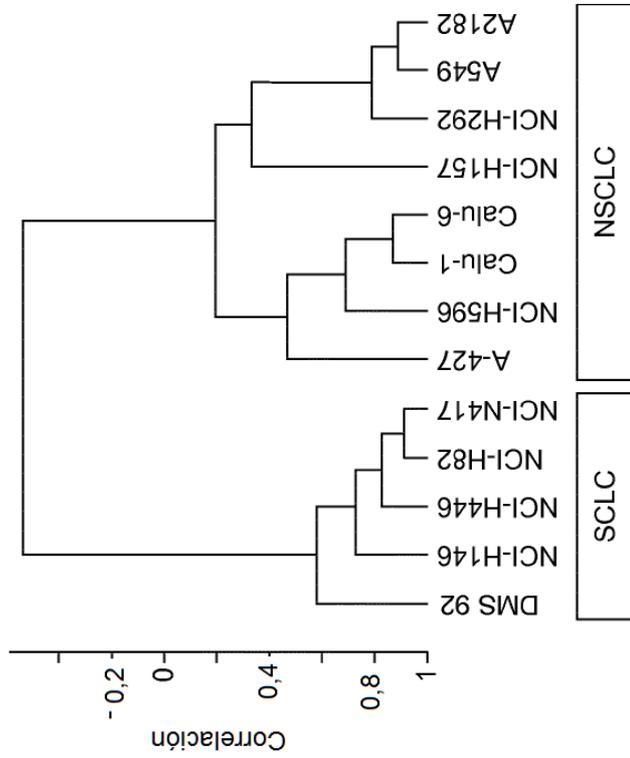


FIG. 3A

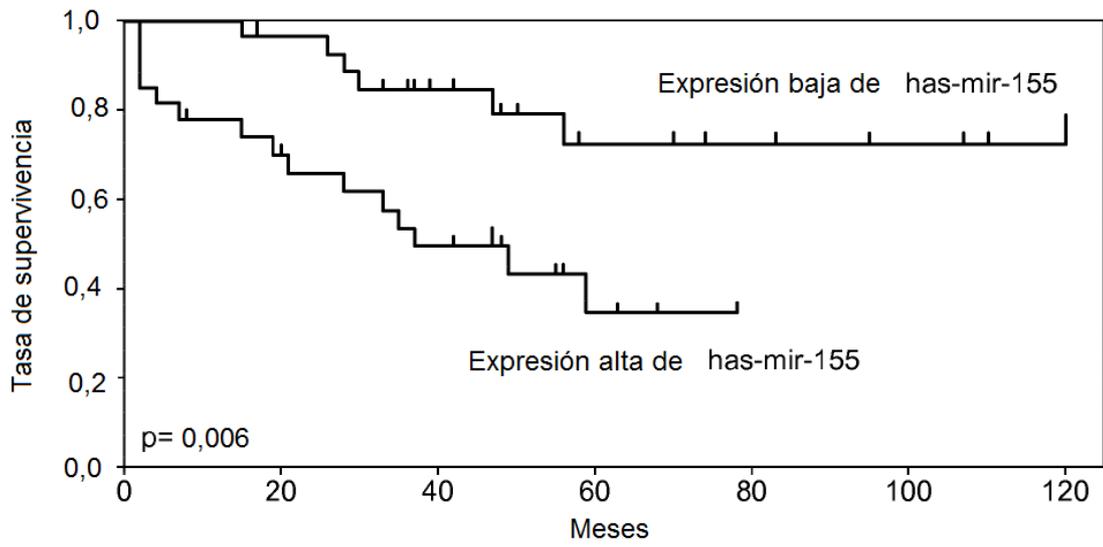


FIG. 4

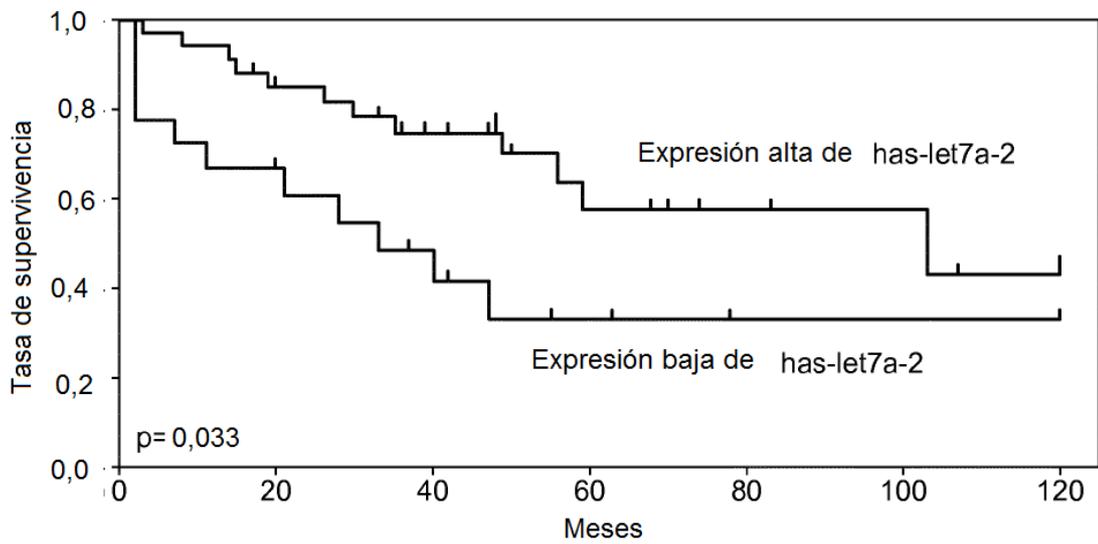


FIG. 5

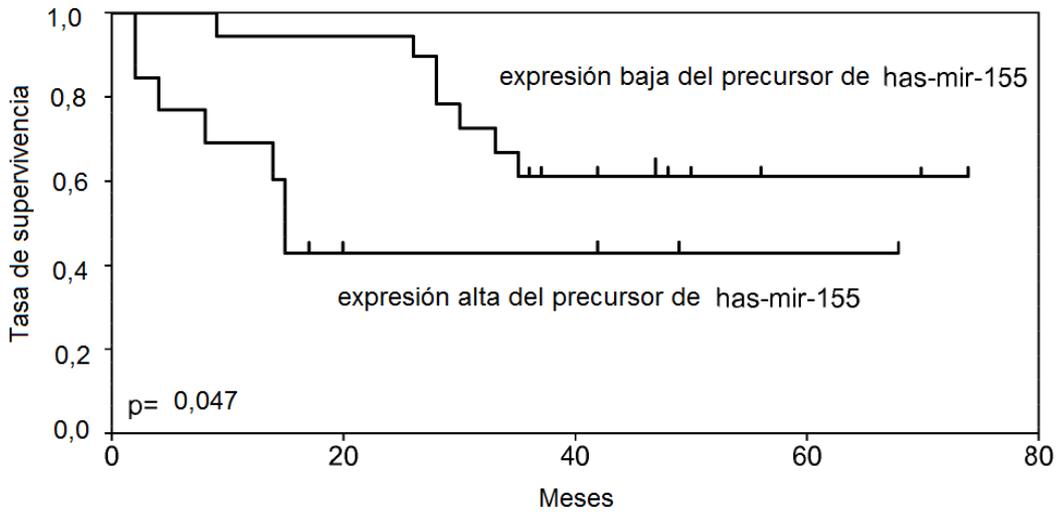


FIG. 6

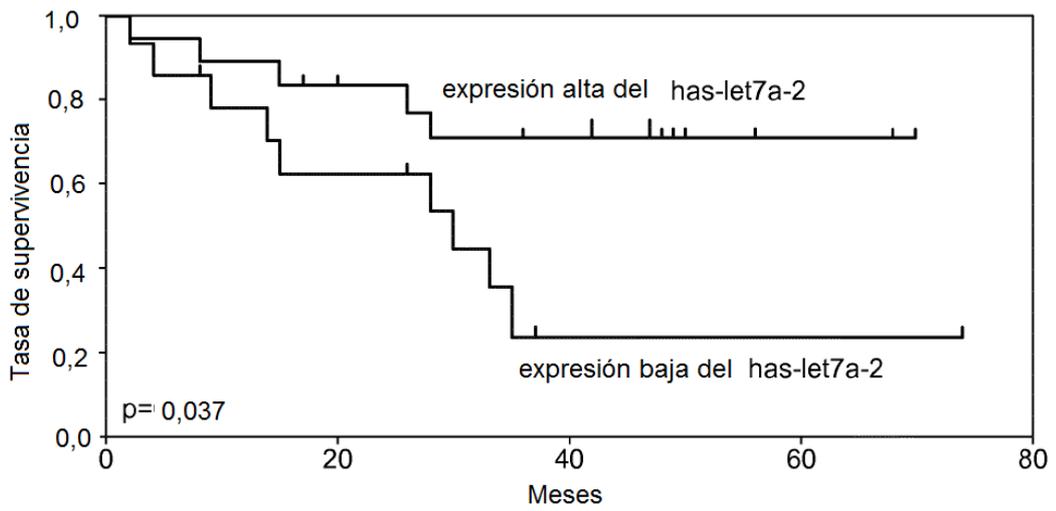


FIG. 7

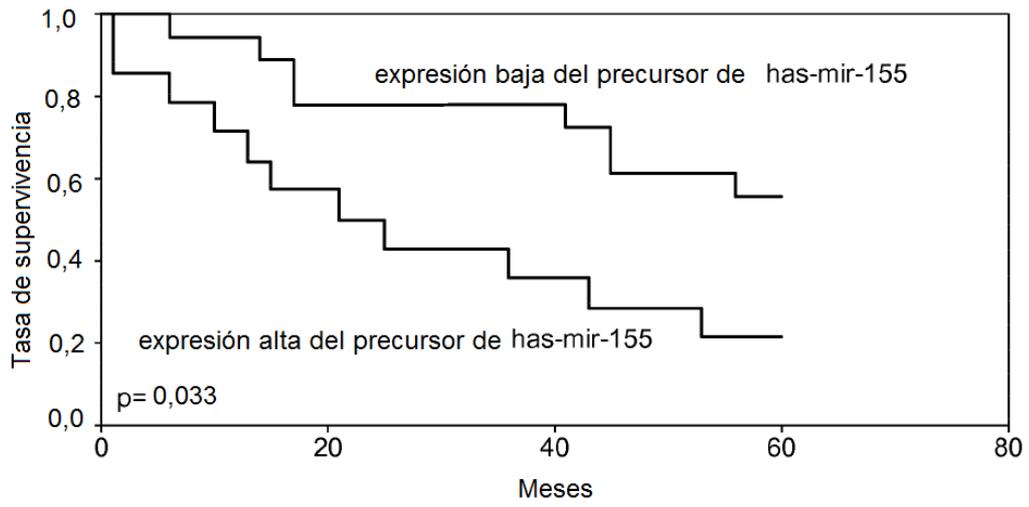


FIG. 8

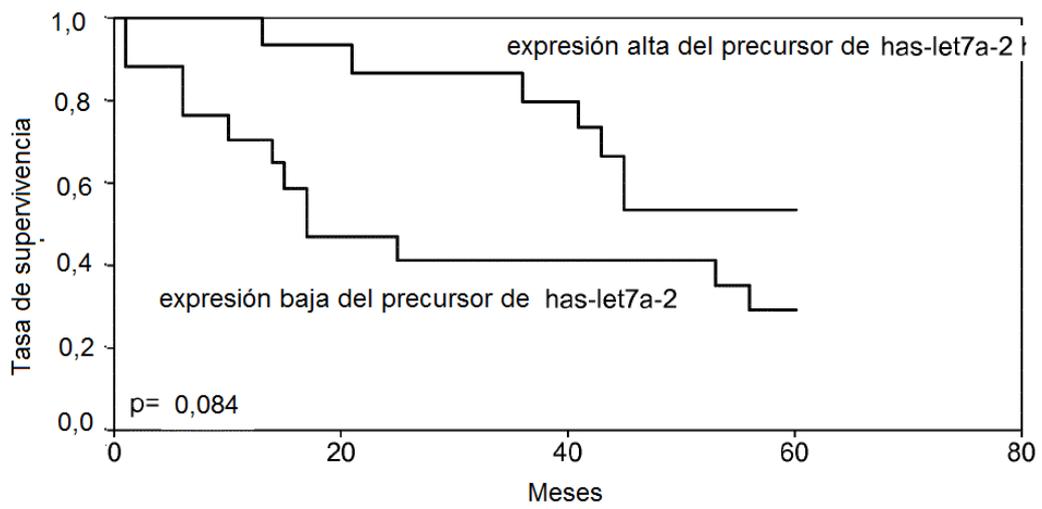


FIG. 9

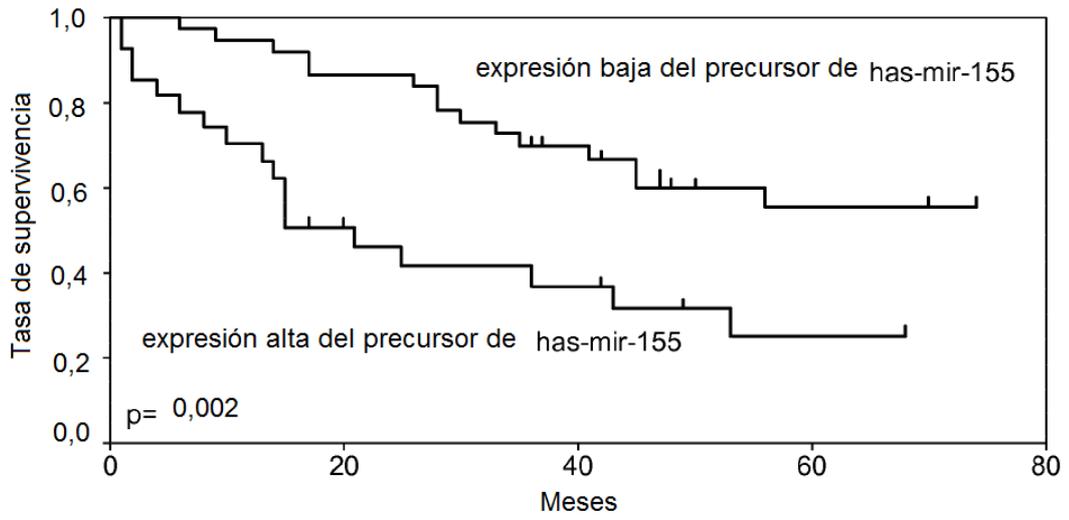


FIG. 10

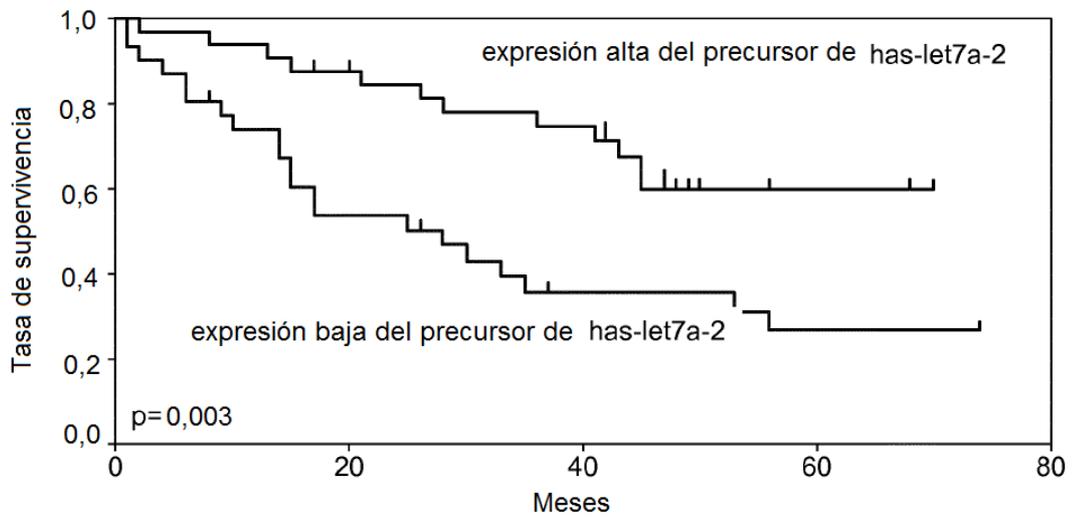


FIG. 11

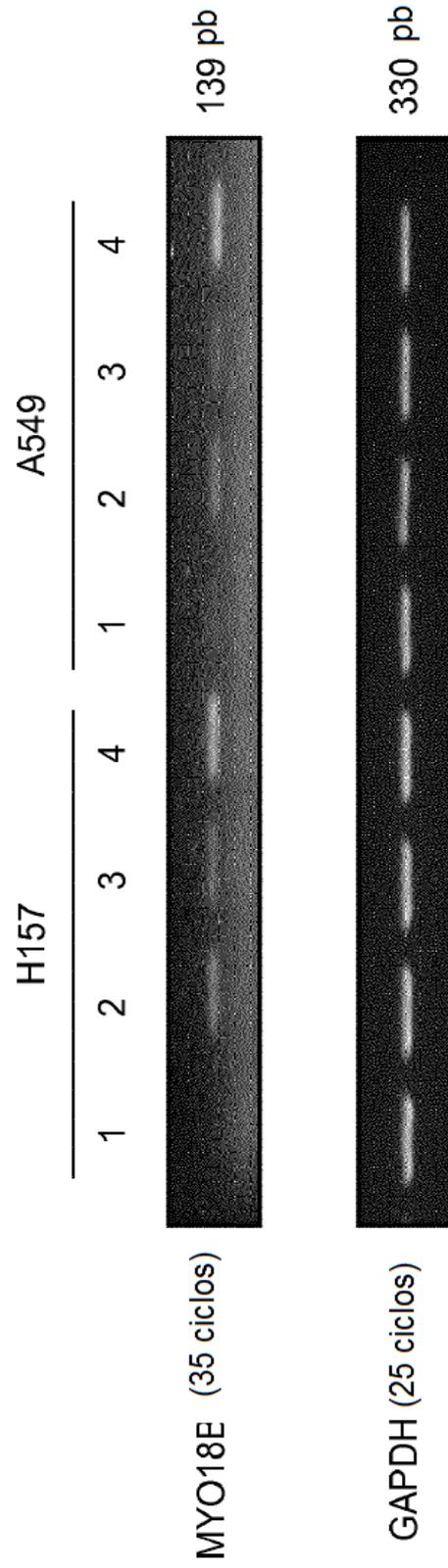


FIG. 12