

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 557 411**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2007** **E 12154342 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.11.2015** **EP 2484782**

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

30 Prioridad:

05.01.2006 US 756585 P

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

25.01.2016

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 557 411 T3

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

DESCRIPCIÓN

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

5 **Apoyo del gobierno**

La presente invención fue apoyada, en su totalidad o en parte, por las Subvenciones del Proyecto de Programa N° P01CA76259, P01CA81534 y P30CA56036 del National Cancer Institute. EL gobierno tiene determinados derechos sobre esta invención.

10

Antecedentes de la invención

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

15

20

25

30

35

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

40

45

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

50

55

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

60

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

65

En los Estados Unidos, se diagnostica a más de 20.000 individuos cáncer de estómago (gástrico) cada año. La Sociedad Americana del Cáncer estima que habrá 22.710 casos nuevos de cáncer colorrectal diagnosticados en los

Estados Unidos en 2004 (Cancer Facts and Figures 2004. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2004. Disponible en www.cancer.org/docroot/STT/stt_0_2004.asp, accedida el 21 de agosto de 2005). Debido a que el cáncer de estómago puede aparecer sin síntomas, puede estar en estadios avanzados en el momento en que se realice el diagnóstico. Después el tratamiento se dirige a aumentar la comodidad del paciente y mejorar su calidad de vida.

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

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

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

30 Los microARN son una clase de ARN no codificantes, pequeños que controlan la expresión génica hibridando con y desencadenando la represión de la traducción o, menos frecuentemente, la degradación de una diana de ARN mensajero (ARNm). El descubrimiento y estudio de los miARN ha revelado mecanismos reguladores de genes mediados por miARN que desempeñan papeles importantes en el desarrollo de los organismos y diversos procesos celulares, tales como diferenciación celular, crecimiento celular y muerte celular (Cheng, A. M., *et al.*, Nucleic Acids Res. 33: 1290-1297 (2005)). Estudios recientes sugieren que la expresión aberrante de los miARN particulares puede estar implicada en enfermedades humanas, tales como trastornos neurológicos (Ishizuka, A., *et al.*, Genes Dev. 16: 2497-2508 (2002)) y cáncer. En particular, se ha descubierto expresión errónea de miR-16-1 y/o miR-15a en leucemias linfocíticas crónicas humanas (Calin, G. A., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99: 15524-15529 (2002)). Lu J *et al.* (Nature 435 7043: 834-838 (2005)) describen el uso de un método de elaboración de un perfil de expresión de miARN para presentar un análisis de expresión sistemático de 217 miARN de mamífero a partir de 334 muestras, incluyendo múltiples cánceres humanos. Lu J *et al.* descubrieron que los perfiles de miARN reflejaron el linaje del desarrollo y el estado de diferenciación de los tumores y observaron una regulación negativa general de los miARN en tumores, en comparación con tejidos normales. Además, Lu J *et al.* fueron capaces de clasificar satisfactoriamente tumores poco diferenciados usando perfiles de expresión de miARN.

50 El documento WO 2005/118806 divulga métodos y composiciones para aislar, enriquecer y/o marcar moléculas de miARN y para preparar y usar matrices u otras técnicas de detección para el análisis de miARN. Además, el documento WO 2005/118806 se refiere a métodos y composiciones para generar perfiles de miARN y emplear dichos perfiles para aplicaciones terapéuticas, diagnósticas y pronósticas.

55 Ciafré *et al.* (Biochem Bioph Res Co 334, 4: 1351-1358 (2005)) examinan los niveles de expresión globales de 245 microARN en glioblastoma multiforme e identifican la sobreexpresión de miR-25 como marcador de leucemia y glioblastoma.

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

Sumario de la invención

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

En consecuencia, la invención abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer de estómago. De acuerdo con los métodos de la invención, el nivel de al menos miR-25 en una muestra de ensayo del sujeto se compara con el nivel de miR-25 en una muestra de control. Un aumento en el nivel de miR-25 en la muestra de ensayo, en relación al nivel de miR-25 en una muestra de control, es indicativo de que el sujeto tiene cáncer de estómago.

5 También se divulgan métodos para diagnosticar si el sujeto tiene un cáncer sólido en los que el nivel de al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo del sujeto se compara con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control. Una alteración (por ejemplo, un aumento, una reducción) en el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo, en relación con el nivel del producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer sólido. El cáncer sólido puede ser cualquier cáncer que surja en órganos y tejidos sólidos. En determinadas realizaciones, el cáncer sólido es cáncer de estómago, cáncer de mama, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer de pulmón o cáncer de próstata.

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

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

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

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

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

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

50 También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer pancreático y el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-103-1, miR-103-2, miR-155, miR-204 y combinaciones de los mismos. Como alternativa, el cáncer sólido es cáncer pancreático y el producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-103-2, miR-103-1, miR-24-2, miR-107, miR-100, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-24-1, miR-191, miR-23a, miR-26a-1, miR-125a, miR-130a, miR-26b, miR-145, miR-221, miR-126*, miR-16-2, miR-146, miR-214, miR-99b, miR-128b, miR-155, miR-29b-2, miR-29a, miR-25, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-92-2, miR-199a-1, miR-223, miR-29c, miR-30b, miR-129-1/2, miR-197, miR-17-5p, miR-30c, miR-7-1, miR-93-1, miR-140, miR-30a-5p, miR-132, miR-181b-1, miR-152 prec, miR-23b, miR-20a, miR-222, miR-27a, miR-92-1, miR-21, miR-129-1/2 prec, miR-150, miR-32, miR-106a, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos.

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

mismos.

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

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

La presente divulgación también abarca métodos para inhibir tumorigénesis en un sujeto que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon), en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado negativamente, regulado positivamente) en las células de cáncer del sujeto. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado negativamente en las células de cáncer, el método comprende administrar una cantidad eficaz de un producto génico de miR aislado, una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del producto génico de miR o variante, de modo que se inhiba la proliferación de células cancerosas en el sujeto. El al menos un producto génico de miR aislado puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos. El producto génico de miR no puede ser miR-15a o miR-16-1. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado positivamente en las células cancerosas, el método puede comprender administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR (denominado en la presente memoria un "compuesto de inhibición de la expresión de miR"), de modo que se inhibe la proliferación de células cancerosas en el sujeto. El al menos un compuesto de inhibición de la expresión de miR puede ser específico para un producto génico de miR seleccionado del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

Los métodos para inhibir la tumorigénesis en un sujeto pueden comprender adicionalmente la etapa de determinar la cantidad de al menos un producto génico de miR en células cancerosas del sujeto, y comparar ese nivel del producto génico de miR en las células con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en células de control. Si la expresión del producto génico de miR está desregulada (por ejemplo, regulada negativamente, regulada positivamente) en células cancerosas, los métodos comprenden además alterar la cantidad del al menos un producto génico de miR expresado en las células cancerosas. La cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas puede ser menor que la cantidad de producto génico de miR expresado en una célula de control (por ejemplo, células de control), y se administra al sujeto una cantidad eficaz del producto génico de miR regulado negativamente, variante aislada o fragmento biológicamente activo del producto génico de miR o variante. Los productos génicos de miR adecuados incluyen miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos, entre otros. El producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. La cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas puede ser mayor que la cantidad del producto génico de miR expresado en la célula de control (por ejemplo, células de control), y puede administrarse al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR regulado positivamente. Los compuestos adecuados para inhibir la expresión del al menos un producto génico de miR incluyen, pero sin limitación, compuestos que inhiben la expresión de miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

La presente divulgación proporciona además composiciones farmacéuticas para tratar cánceres sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon). Las composiciones farmacéuticas pueden comprender al menos un producto génico de miR aislado y un vehículo farmacéuticamente aceptable. El al menos un producto génico de miR puede corresponder a un producto génico de miR que tenga una nivel reducido de expresión en células cancerosas en relación con las células de control. El producto génico de miR aislado puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

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

También se desvelan métodos para identificar un inhibidor de tumorigénesis, que comprenden proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR en la célula. El método puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión reducidos en cánceres sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de colon). Un aumento en el nivel del producto génico de miR en la célula, en relación con una célula de control adecuada, es indicativo de que el agente de ensayo es un inhibidor de tumorigénesis. El al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión reducidos en células de cáncer sólido pueden seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

El método puede comprender proporcionar un agente de ensayo a una célula y medir el nivel de al menos un producto génico de miR asociado con aumento de los niveles de expresión en cánceres sólidos. Una reducción en el nivel del producto génico de miR en la célula, en relación con una célula de control adecuada, es indicativa de que el agente de ensayo es un inhibidor de tumorigénesis. El al menos un producto génico de miR asociado con niveles de expresión aumentados en células de cáncer sólido puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

Breve descripción de los dibujos

La patente o archivo de solicitud contiene al menos una ilustración ejecutada en color. Las copias de esta patente o publicación de solicitud de patente con ilustraciones en color se proporcionarán por la Oficina tras su solicitud y pago de la tasa necesaria.

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

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

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

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

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

La FIGURA 6A representa gráficas de barra que indican que las UTR 3' de diferentes genes que codifican

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

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

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

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

Descripción detallada de la invención

La presente invención se basa, en parte, en la identificación de microARN particulares cuya expresión está alterada en células cancerosas asociadas con diferentes cánceres sólidos, tales como cáncer de colon, de estómago, pancreático, de pulmón, de mama y de próstata, en relación con células de control normales.

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

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

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

Tabla 1a- Secuencias precursoras de microARN humano

Nombre del Precursor	Secuencia (5' a 3')	SEC ID N°
<i>let-7a-1</i>	CACUGUGGGAUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGGGUCAC ACCCACCACUGGGAGUAACUAUACAAUCUACUGUCUUCCU AACGUG	1
<i>let-7a-2</i>	AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUUACAUCAAG GGAGAUAAACUGUACAGCCUCCUAGCUUCCU	2
<i>let-7a-3</i>	GGGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUGGGGCUCUGCCCUGCU AUGGGAUAACUAUACAAUCUACUGUCUUCCU	3

<i>let-7a-4</i>	GUGACUGCAUGCUCCAGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU UAGAAUUACACAAGGGAGAUAAACUGUACAGCCUCCUAGCUUU CCUUGGGUCUUGCACUAAACAAC	4
<i>let-7b</i>	GGCGGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUUCAGGGCAGUGA UGUUGCCCCUCGGAAGAUAAACUAUACAACCUACUGCCUUCCC UG	5
<i>let-7c</i>	GCAUCCGGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUUUAGAGUUACA CCCUGGGAGUUAACUGUACAACCUUCUAGCUUCCUUGGAGC	6
<i>let-7d</i>	CCUAGGAAGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUUUUAGGGCAGGGAU UUUGCCCACAAGGAGGUAAACUAUACGACCUGCUGCCUUUCU AGG	7
<i>let-7d-v1</i>	CUAGGAAGAGGUAGUAGUUUGCAUAGUUUAGGGCAAAGAU UUUGCCCACAAGUAGUUAGCUAUACGACCUGCAGCCUUUGU AG	8
<i>let-7d-v2</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACA UUGCCCUGCUGGGAGAUAAACUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUA G	9
<i>let-7e</i>	CCCGGGCUGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUUAGAGGAGGACACCC AAGGAGAUACUAUACGGCCUCCUAGCUUJCCCCAGG	10
<i>let-7f-1</i>	UCAGAGUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUUGUGGGGUAGUGAU UUUACCCUGUUCAGGAGAUAAACUAUACAUAUCUAUUGCCUCC CUGA	11
<i>let-7f-2-1</i>	CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUUGUGGGGUAGUG AUUUUACCCUGUUCAGGAGAUAAACUAUACAUAUCUAUUGCCU CCCUGA	12
<i>let-7f-2-2</i>	CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUUUAGGGUCAUA CCCCAUUCUUGGAGAUAAACUAUACAGUCUACUGUCUUUCCCAC GG	13
<i>let-7g</i>	UUGCCUGAUUCCAGGCUGAGGUAGUAGUUUGUACAGUUUGAG GGUCUAUGAUACCACCCGGUACAGGAGAUAAACUGUACAGGCC ACUGCCUUGCCAGGAACAGCGCGC	14
<i>let-7i</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACA UUGCCCUGCUGGGAGAUAAACUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUA G	15
<i>miR-1b-1-1</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCAUAUGAACA UACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAG GC	16
<i>miR-1b-1-2</i>	CAGCUAACAACUAGUAAUACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCU UUUUGUACCCAUAUGAACAUAACAUGCUAUGGAAUGUAAAGA AGUAUGUAUUUUUGGUAGGCAUA	17

<i>miR-1b-2</i>	GCCUGCUUGGGAAACAUAUCUUCUUUAUAUGCCCAUAUGGACC UGCUAAGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCAGGCCGG G	18
<i>miR-1b</i>	UGGGAAACAUAUCUUCUUUAUAUGCCCAUAUGGACCUGCUAAG CUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCA	19
<i>miR-1d</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCAUUGAACA UACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAG GC	20
<i>miR-7-1a</i>	UGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUGU UGUUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAACAAAUCACAGUCUGCCA UAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACA	21
<i>miR-7-1b</i>	UUGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUG UUGUUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAACAAAUCACAGUCUGCC AUAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACAG	22
<i>miR-7-2</i>	CUGGAUACAGAGUGGACCGGCUGGCCCAUCUGGAAGACUAG UGAUUUUGUUGUUGUCUACUGCGCUCAACAACAAAUCCCAG UCUACCUAAUGGUGCCAGCCAUCGCA	23
<i>miR-7-3</i>	AGAUUAGAGUGGCUGUGGUCUAGUGCUGUGUGGAAGACUAGU GAUUUUGUUGUUCUGAUGUACUACGACAACAAGUCACAGCCG GCCUCAUAGCGCAGACUCCCUUCGAC	24
<i>miR-9-1</i>	CGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGG UGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAUAA CCCCA	25
<i>miR-9-2</i>	GGAAGCGAGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGU AUUGGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAACUCCU UCA	26
<i>miR-9-3</i>	GGAGGCCCGUUUCUCUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGC CACAGAGCCGUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAGAAAUGA UUCUCA	27
<i>miR-10a</i>	GAUCUGUCUGUCUUCUGUAUAUACCCUGUAGAUCCGAAUUUG UGUAAGGAAUUUUGUGGUCACAAAUUCGUAUCUAGGGGAAUA UGUAGUUGACAUAACACUCCGCUCU	28
<i>miR-10b</i>	CCAGAGGUUGUAACGUUGUCUUAUAUACCCUGUAGAACCGA AUUUGUGUGGUUAUCCGUUAAGUCACAGAUUCGAUUCUAGGGG AAUAUAUGGUCGAUGCAAAAACUUCA	29
<i>miR-15a-2</i>	GCGCGAAUGUGUGUUUAAAAAAAAUAAAACCUUGGAGUAAAG UAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUGAAAAGGUGCAGGC CAUAUUGUGCUGCCUCAAAAUAUC	30
<i>miR-15a</i>	CCUUGGAGUAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUG AAAAGGUGCAGGCCAUUUGUGCUGCCUCAAAAUAACAAGG	31

<i>miR-15b-1</i>	CUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAUGCUACAGUCAAGAUGC GAAUCAUUAUUUGCUGCUCUAG	32
<i>miR-15b-2</i>	UUGAGGCCUAAAAGUACUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAU GCUACAGUCAAGAUGCGAAUCAUUAUUUGCUGCUCUAGAAAU UUAAGGAAAUCAU	33
<i>miR-16-1</i>	GUCAGCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUAAGAU UCUAAAUAUUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGUAAGG UUGAC	34
<i>miR-16-2</i>	GUUCCACUCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUAGUGAAAUAU AUUAUAAACACCAAUAUUACUGUGCUGCUCUUAGUGUGAC	35
<i>miR-16-13</i>	GCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUAAGAUUCUA AAAUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGUAAGGU	36
<i>miR-17</i>	GUCAGAAUAAUGUCAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAUAU GUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGAC	37
<i>miR-18</i>	UGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAUUAGC AUCUACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGGCA	38
<i>miR-18-13</i>	UUUUUGUUCUAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAU UAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGGCAUAAGAA	39
<i>miR-19a</i>	GCAGUCCUCUGUUAGUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAA UGUAGUUGUGCAAUUCUAUGCAAACUGAUGGUGGCCUGC	40
<i>miR-19a-13</i>	CAGUCCUCUGUUAGUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAAU GUAGUUGUGCAAUUCUAUGCAAACUGAUGGUGGCCUG	41
<i>miR-19b-1</i>	CACUGUUCUAUGGUUAGUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUG UGAUAUUCUGCUGUGCAAUCCAUGCAAACUGACUGUGGUA GUG	42
<i>miR-19b-2</i>	ACAUUGCACUACUACAUAUAGUUUGCAGGUUUGCAUUCAGC GUAUAUAUGUAUAUGUGGCUGUGCAAUCCAUGCAAACUGA UUGUGAUAAUGU	43
<i>miR-19b-13</i>	UUCUAUGGUUAGUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUGUGAUA UUCUGCUGUGCAAUCCAUGCAAACUGACUGUGGUAG	44
<i>miR-19b-X</i>	UUACAAUUAGUUUGCAGGUUUGCAUUCAGCGUAUAUAUGU AUAUGUGGCUGUGCAAUCCAUGCAAACUGAUUGUGAU	45
<i>miR-20 (miR-20a)</i>	GUAGCACUAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUUUAGUUAUC UACUGCAUUAUGAGCACUAAAGUACUGC	46
<i>miR-21</i>	UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCA UGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA	47
<i>miR-21-17</i>	ACCUUGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAU CUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACAUUUUG	48

ES 2 557 411 T3

<i>miR-22</i>	GGCUGAGCCGCAGUAGUUCUUCAGUGGCAAGCUUU AUGUCCU GACCCAGCUAAAGCUGCCAGUUGAAGAACUGUUGCCCUCUGC C	49
<i>miR-23a</i>	GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUGUCAC AAAUACAUUGCCAGGGAUUCCAACCGACC	50
<i>miR-23b</i>	CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGGUCCUGGCAUGCUGAUUUG UGACUUAAGAUUAAAUCACAUUGCCAGGGAUUACCACGCAA CCACGACCUUGGC	51
<i>miR-23-19</i>	CCACGGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUG UCACAAAUCACAUUGCCAGGGAUUCCAACCGACCCUGA	52
<i>miR-24-1</i>	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUUCAGUUCUCAUUUUACACA CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	53
<i>miR-24-2</i>	CUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGUUGGUUUG UGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGG	54
<i>miR-24-19</i>	CCCUGGGCUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGU UGGUUUGUGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGGG	55
<i>miR-24-9</i>	CCCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUUUCAGUUCUCAUUUUACA CACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGCAUC	56
<i>miR-25</i>	GGCCAGUGUUGAGAGGCGGAGACUUGGGCAAUUGCUGGACGC UGCCUUGGGCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACAGUGCCGGCC	57
<i>miR-26a</i>	AGGCCGUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAG GUCCCAAUGGCCUAUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGCGGGC CU	58
<i>miR-26a-1</i>	GUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAGGUCCC AAUGGGCCUAUUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGC	59
<i>miR-26a-2</i>	GGCUGUGGCUGGAUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUUUCCA UCUGUGAGGCCUAUUCUUGAUUACUUGUUUCUGGAGGCAGCU	60
<i>miR-26b</i>	CCGGGACCCAGUUCAAGUAAUUCAGGAUAGGUUGUGUGCUGU CCAGCCUGUUCUCCAUUACUUGGCUCGGGGACCGG	61
<i>miR-27a</i>	CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACC AAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCCAG	62
<i>miR-27b-1</i>	AGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAGUGAUUGGUUUC GCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACCU	63
<i>miR-27b-2</i>	ACCUCUCUAACAAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAG UGAUUGGUUCCGCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACC UGAAGAGAAGGUG	64
<i>miR-27-19</i>	CCUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACAC CAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCCAGG	65

<i>miR-28</i>	GGUCCUUGCCCUC <u>AAGGAGCUCACAGUCUAUUGAGUUACCUU</u> UCUGACUUUCCCACUAGAUUGUGAGCUCCUGGAGGGCAGGCA CU	66
<i>miR-29a-2</i>	CCUUCUGUGACCCCUAGAGGAUGACUGAUUUUCUUUUGGUGU UCAGAGUCAAUUAUUUUUCUAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA UAAUGAUUGGGGAAGAGCACCAUG	67
<i>miR-29a</i>	AUGACUGAUUUUCUUUUGGUGUUCAGAGUCAAUUAUUUUUCU AGCACCAUCUGAAAUCGGUUAU	68
<i>miR-29b-1</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUUAGGUGGUUUAGAUUUAAAUAG UGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGGG	69
<i>miR-29b-2</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCUUAGAUUUUUCCA CUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUUUAGGAG	70
<i>miR-29c</i>	ACCACUGGCCCAUCUCUACACAGGCUGACCGAUUUUCUCCUG GUGUUCAGAGUCUGUUUUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCGGU UAUGAUGUAGGGGGAAAAGCAGCAGC	71
<i>miR-30a</i>	GCGACUGUAAACA <u>UCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCACAGA</u> UGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGC	72
<i>miR-30b-1</i>	AUGUAAACA <u>UCCUACACUCAGCUGUAAUACAUGGAUUGGCUG</u> GGAGGUGGAUGUUUACGU	73
<i>miR-30b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUC <u>UGUAAACAUCCUACACUCAGCUGUAA</u> UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	74
<i>miR-30c</i>	AGAUACUGUAAACA <u>UCCUACACUCUCAGCUGUGGAAAGUAAG</u> AAAGCUGGGAGAAGGCUGUUUACUCUUUCU	75
<i>miR-30d</i>	GUUGU <u>UGUAAACAUCCCGACUGGAAGCUGUAAAGACACAGCU</u> AAGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC	76
<i>miR-30e</i>	CUGUAAACA <u>UCCUUGACUGGAAGCUGUAAAGGUGUUCAGAGGA</u> GCUUUCAGUCGGAUGUUUACAG	77
<i>miR-31</i>	GGAGAGGAGGCAAGAU <u>GCUGGCAUAGCUGUUGAACUGGGAAC</u> CUGCUAUGCCAACAUAUUGCCAUCUUUCC	78
<i>miR-32</i>	GGAGAU <u>AUUGCACAUAUAAGUUGCAUGUUGUCACGGCCUC</u> AAUGCAAUUUAGUGUGUGUGAUUUUUC	79
<i>miR-33b</i>	GGGGGCCGAGAGAGGCGGGCGGCCCGCGGUGCAU <u>UGCUGUU</u> GCAU <u>UGCACGUGUGUGAGGCGGGUGCAGUGCCUCGGCAGUGC</u> AGCCCGGAGCCGGCCCCUGGCACCAC	80
<i>miR-33b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUC <u>UGUAAACAUCCUACACUCAGCUGUAA</u> UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	81
<i>miR-33</i>	CUGUGGUGCAU <u>UGUAGUUGCAUUGCAUGUUCUGGUGGUACCC</u> AUGCAAUGUUUCCACAGUGCAUCACAG	82

<i>miR-34-a</i>	<u>GGCCAGCUGUGAGUGUUUCUUUGGCAGUGUCUUAGCUGGUUG</u> <u>UUGUGAGCAAUAGUAAGGAAGCAAUCAGCAAGUAUACUGCCC</u> UAGAAGUGCUGCACGUUGUGGGGCC	83
<i>miR-34-b</i>	GUGCUCGGUUUGU <u>AGGCAGUGUCAUUAGCUGAUUGUACUGUG</u> GUGGUUACAAUCACUAACUCCACUGCCAUCAAAACAAGGCAC	84
<i>miR-34-c</i>	AGUCUAGUUACU <u>AGGCAGUGUAGUUAGCUGAUUGCUAAUAGU</u> ACCAAUCACUAACCACACGGCCAGGUA AAAAGAUU	85
<i>miR-91-13</i>	UCAGAAUAAUGUCAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAU AUG UGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGA	86
<i>miR-92-1</i>	CUUUCUACACAGGUUGGGAUCCGGUUGCAAUGCUGUGUUUCUG UAUGGUAAUUGCACUUGUCCCCGGCCUGUUGAGUUUGG	87
<i>miR-92-2</i>	UCAUCCCUGGGUGGGGAUUUGUUGCAUUA CUUGUGUUCUAUA UAAAGUAUUGCACUUGUCCCCGGCCUGUGGAAGA	88
<i>miR-93-1 (miR-93-2)</i>	CUGGGGGCUCCAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAGUGUGAUUAC CCAACCUACUGCUGAGCUAGCACUUCCCCGAGCCCCCGG	89
<i>miR-95-4</i>	AACACAGUGGGCACUCAUAAAUGUCUGUUGAAUUGAAAUGC GUUACAUUAACGGGUAAUUUAUUGAGCACCCACUCUGUG	90
<i>miR-96-7</i>	UGGCCGAUUUUGGCACUAGCACAUUUUUGCUUGUGUCUCUCC GCUCUGAGCAAUCAUGUGCAGUGCCAUAUUGGGAAA	91
<i>miR-97-6 (miR-30*)</i>	GUGAGCGACUGUAAACAUCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCA CAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGCCUACU	92
<i>miR-98</i>	<u>GUGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUUGUGGGGUAGGGUAUUAG</u> GCCCAAUUAGAAGAUAAUAUACAACUACUACUUCC	93
<i>miR-99b</i>	GGCACCCACCCGUAGAACCGACCUUGCGGGGCCUUCGCCGCAC ACAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCGUGUC	94
<i>miR-99a</i>	CCCAUUGGCAUAAACCCGUAGAUCCGAUUCUUGUGGUGAAGUG GACCGCACAAAGCUCGCUUCUAUGGGUCUGUGUCAGUGUG	95
<i>miR-100-1/2</i>	AAGAGAGAAGAUUUGAGGCCUGUUGCCACAAACCCGUAGAU CCGAACUUGUGGUAAUAGUCCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGG UAUGUGUCUGUAGGCAAUCUCAC	96
<i>miR-100-11</i>	CCUGUUGCCACAAACCCGUAGAUCCGAACUUGUGGUAAUAGU CCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGGUUAUGUGUCUGUUAGG	97
<i>miR-101-1/2</i>	AGGCUGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCUAU UCUAAAGGUACAGUACUGUGAUAAACUGAAGGAUGGCAGCCAU CUUACCUUCCAUCAGAGGAGCCUCAC	98
<i>miR-101</i>	UCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCCAUUCUAAAGGUACAG <u>UACUGUGAUAAACUGA</u>	99
<i>miR-101-1</i>	UGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCUAUUCUA AAGGUACAGUACUGUGAUAAACUGAAGGAUGGCA	100

<i>miR-101-2</i>	ACUGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUAUCU GAAAGGUACAGUACUGUGAUAAACUGAAGAAUGGUGGU	101
<i>miR-101-9</i>	UGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUAUCUGA AAGGUACAGUACUGUGAUAAACUGAAGAAUGGUG	102
<i>miR-102-1</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCCUUAGAUUUUUCCA CUUUGUAUCUAGCACCAUUGAAAUCAGUGUUUUAGGAG	103
<i>miR-102-7.1</i> (<i>miR-102-7.2</i>)	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUUAUGGUGGUUAGAUUUAAAUA UGAUUGUCUAGCACCAUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGGG	104
<i>miR-103-2</i>	UUGUGCUUUCAGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUAGCAUUA GGUCAAGCAACAUUGUACAGGGCUAUGAAAGAACCA	105
<i>miR-103-1</i>	UACUGCCCUCGGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUUGCAUAUG GAUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGAAGGCAUUG	106
<i>miR-104-17</i>	AAAUGUCAGACAGCCCAUCGACUGGUGUUGCCAUGAGAUUCA ACAGUCAACAUCAGUCUGAUAAAGCUACCCGACAAGG	107
<i>miR-105-1</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU CAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUACGGUGUCUA	108
<i>miR-105-2</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU UAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUAUGGUGUCUA	109
<i>miR-106-a</i>	CCUUGGCCAUGUAAAAGUGC UUACAGUGCAGGUAGCUUUUUG AGAUCUACUGCAAUGUAAGCACUUCUUACAUUACCAUGG	110
<i>miR-106-b</i>	CCUGCCGGGGCUAAAAGUGCUGACAGUGCAGAUAGUGGUCCUC UCCGUGCUACCGCACUGUGGGUACUUGCUGCUCCAGCAGG	111
<i>miR-107</i>	CUCUCUGCUUUCAGCUUCUUACAGUGUUGCCUUGUGGCAUG GAGUUAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCAAAGCACAGA	112
<i>miR-108-1- pequeño</i>	ACACUGCAAGAACAUAAGGAUUUUUAGGGGCAUUAUGACUG AGUCAGAAAACACAGCUGCCCCUGAAAGUCCCUCAUUUUUCU UGCUGU	113
<i>miR-108-2- pequeño</i>	ACUGCAAGAGCAAUAAGGAUUUUUAGGGGCAUUAUGAUAGUG GAAUGGAAACACAUCUGCCCCAAAAGUCCCUCAUUUU	114
<i>miR-122a-1</i>	CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCUA AACUAUCAACGCCAUUAUCACACUAAAUAAGCUACUGCUAGG C	115
<i>miR-122a-2</i>	AGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCCAAACUAUCAA ACGCCAUUAUCACACUAAAUAAGCU	116
<i>miR-123</i>	ACAUUAUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUCAAACUCGU ACCGUGAGUAAUAAUGCGC	117
<i>miR-124a-1</i>	AGGCCUCUCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAAUG UCCAUAACAUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAAUGGGGCU G	118

ES 2 557 411 T3

<i>miR-124a-2</i>	AUCAAGAUUAGAGGCUCUGCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCU UGAUUUAAUGUCAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAG AGCGGAGCCUACGGCUGCACUUGAAG	119
<i>miR-124a-3</i>	UGAGGGCCCCUCUGCUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUG UCUAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAGAGGGCGCC UCC	120
<i>miR-124a</i>	CUCUGCUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCUAUACAA UUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG	121
<i>miR-124b</i>	CUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCAUACAAU UAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG	122
<i>miR-125a-1</i>	UGCCAGUCUCUAGGUGCCUGAGACCCUUAACCUGUGAGGAC AUCCAGGGUCACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGGGCUCUGG CC	123
<i>miR-125a-2</i>	GGUCCUGAGACCCUUAACCUGUGAGGACAUCCAGGGUCAC AGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGG	124
<i>miR-125b-1</i>	UGCUCUCCUCUCAGUCCUGAGACCCUAACUUGUGAUGUUUA CCGUUUAAAUCCACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCUCGCGAGUCG UGCU	125
<i>miR-125b-2</i>	ACCAGACUUUCCUAGUCCUGAGACCCUAACUUGUGAGGUA UUUUAGUAAACAUCACAAGUCAGGCUCUUGGGACCUAGGCGGA GGGGA	126
<i>miR-126-1</i>	CGCUGGCGACGGGACAUUUAUUACUUUUGGUACGCGCUGUGAC ACUUCAAAACUCGUACCGUGAGUAAUAAUGCGCCGUCCACGGC A	127
<i>miR-126-2</i>	ACAUUAUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUUCAAACUCGU ACCGUGAGUAAUAAUGCGC	128
<i>miR-127-1</i>	UGUGAUCACUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUG AUUCAGAAAGAUCAUCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG AAGUCUCAUCAUC	129
<i>miR-127-2</i>	CCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAAAGAUCA UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG	130
<i>miR-128a</i>	UGAGCUGUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUU ACAUUUCUCACAGUGAACCGGUCUCUUUUUCAGCUGCUUC	131
<i>miR-128b</i>	GCCCCGCAGCCACUGUGCAGUGGGAAGGGGGGCCGAUACACU GUACGAGAGUGAGUAGCAGGUCUCACAGUGAACCGGUCUCUU UCCCUACUGUGUCACACUCCUAAUGG	132
<i>miR-128</i>	GUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUUACAUUU CUCACAGUGAACCGGUCUCUUUUUCAGC	133
<i>miR-129-1</i>	UGGAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGUCCUCUCAACAGU AGUCAGGAAGCCCUUACCCCAAAAAGUAUCUA	134

<i>miR-129-2</i>	UGCCCUUCGCGAAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGUACAU AACUCAAUAGCCGGAAGCCCUUACCCCAAAAAGCAUUUGCGG AGGGCG	135
<i>miR-130a</i>	UGCUGCUGGCCAGAGCUCUUUUCACAUUGUGCUACUGUCUGC ACCUGUCACUAGCAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAUUGGCCGUG UAGUG	136
<i>miR-131-1</i>	GCCAGGAGGCGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUG UAUGAGUGGUGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAG UAAAAUAACCCCAUACACUGCGCAG	137
<i>miR-131-3</i>	CACGGCGCGGCAGCGGCACUGGCUAAGGGAGGCCCGUUUCUC UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGCCACAGAGCCGUCAUA AAGCUAGAUAAACCGAAAGUAGAAAUG	138
<i>miR-131</i>	GUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGUAUUGGUCU UCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAAC	139
<i>miR-132-1</i>	CCGCCCCGCGUCUCCAGGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUAC UGUGGGAACUGGAGGUAAACAGUCUACAGCCAUGGUCGCCCG CAGCACGCCACGCGC	140
<i>miR-132-2</i>	GGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUACUGUGGGAACUGGAGGU AACAGUCUACAGCCAUGGUCGCC	141
<i>miR-133a-1</i>	ACAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAUUGCCU CUUCAAUGGAUUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGCUAUGCA UUGA	142
<i>miR-133a-2</i>	GGGAGCCAAUUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAA UCCAGUCUCCAAUGGAUUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGC UGUGCAUUGAUGGCGCCG	143
<i>miR-133</i>	GCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAUUGCCUCUCAAUGGA UUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGC	144
<i>miR-133b</i>	CCUCAGAAGAAAGAUGCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGA ACCAAGUCCGUCUCCUGAGAGGUUUGGUCCCCUUAACCAG CUACAGCAGGGCUGGCAAUGCCCAGUCCUUGGAGA	145
<i>miR-133b-pequeño</i>	GCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUCCGUCUCC UGAGAGGUUUGGUCCCCUUAACCAGCUACAGCAGGG	146
<i>miR-134-1</i>	CAGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACUGUGUU CACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAACCCUC	147
<i>miR-134-2</i>	AGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACUGUGUUC ACCCUGUGGGCCACCUAGUCACCAACCCU	148
<i>miR-135a-1</i>	AGGCCUCGCGUUCUCUAUGGCUUUUUUAUUCUUAUGUGAUUC UACUGCUCACUCAUAUAGGGAUUGGAGCCGUGGCGCACGGCG GGGACA	149

ES 2 557 411 T3

<i>miR-135a-2</i> (<i>miR-135-2</i>)	AGAUAAAUUCACUCUAGUGCUUUAUGGCCUUUUUAU <u>UCCUAUG</u> <u>UGAUAGUAAUAAAGUCUCAUGUAGGGAUGGAAGCCAUGAAAU</u> ACAUUGUGAAAAUCA	150
<i>miR-135</i>	CUAUGGCCUUUUUAU <u>UCCUAUGUGAUUCUACUGCUCACUCAUA</u> UAGGGAUUGGAGCCGUGG	151
<i>miR-135b</i>	CACUCUGCUGUGGCCUAUGGCCUUUCAU <u>UCCUAUGUGAUUGC</u> UGUCCCAAACUCAUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGGCUACAGUG AGGGGCGAGCUCC	152
<i>miR-136-1</i>	UGAGCCCUCGGAGGACUCCA <u>UUUGUUUGAUGAUGGAUUCUU</u> AUGC <u>UCCAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCUUCAGAGGGUUCU</u>	153
<i>miR-136-2</i>	GAGGACUCCA <u>UUUGUUUGAUGAUGGAUUCUUAUGCUCCAUC</u> AUCGUCUCAAAUGAGUCUUC	154
<i>miR-137</i>	CUUCGGUGACGGGUAAUUCUUGGGUGGAUAAUACGGAUUACGU UGUU <u>AUUGC</u> UAAAGAAUACGCGUAGUCGAGG	155
<i>miR-138-1</i>	CCCUGGCAUGGUGUGGGGGCAGCUGGUGUUGUGAAUCAGG CCGUUGCCAAUCAGAGAACGGCUACUUCACAACACCAGGGCC ACACCACACUACAGG	156
<i>miR-138-2</i>	CGUUGCUGCAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCG CAUCCUCUUAACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGUUGCAUCA	157
<i>miR-138</i>	CAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCGCAUCCUCU UACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGUUG	158
<i>miR-139</i>	GUGUAUUCUACAGUGCACGUGUCUCCAGUGUGGCUCGGAGGC UGGAGACGCGGCCCGUUGGAGUAAAC	159
<i>miR-140</i>	UGUGUCUCUCUCUGUGUCCUGCCAGUGGGUUUUACCCUAUGGU AGGUUACGUCAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGAC AGGAUACCGGGGCACC	160
<i>miR-140as</i>	UCCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUG UUCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGGA	161
<i>miR-140s</i>	CCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUGU UCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGG	162
<i>miR-141-1</i>	CGGCCGGCCUGGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGU CUAAUUGUGAAGCUCCUAACACUGUCUGGUAAAGAUGGCUCC CGGGUGGGUUC	163
<i>miR-141-2</i>	GGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUCUAAUUGUGAA GCUCCUAACACUGUCUGGUAAAGAUGGCC	164
<i>miR-142</i>	ACCAUAAAGUAGAAAGCACUACUAACAGCACUGGAGGGUGU AGUGUUCCUACUUUAUGGAUG	165
<i>miR-143-1</i>	GCGCAGCGCCUGUCUCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUC UCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGG AAGAGAGAAGUUGUUCUGCAGC	166

<i>miR-143-2</i>	CCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGA GAUGAAGCACUGUAGCUCAGG	167
<i>miR-144-1</i>	UGGGGCCUGGCUGGGAUAUCAUCAUAUACUGUAAGUUUGCG AUGAGACACUACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUCCGGGCACCC CC	168
<i>miR-144-2</i>	GGCUGGGAUUCAUCAUAUACUGUAAGUUUGCGAUGAGACAC UACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUC	169
<i>miR-145-1</i>	CACCUUGUCCUCACGGUCCAGUUUUCCCAGGAAUCCCUUAGA UGCUAAGAUGGGGAUUCUGGAAAUACUGUUCUUGAGGUCAU GGUU	170
<i>miR-145-2</i>	CUCACGGUCCAGUUUUCCCAGGAAUCCCUUAGAUGCUAAGAU GGGGAUUCUGGAAAUACUGUUCUUGAG	171
<i>miR-146-1</i>	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUUGAGAACUGAAUCCAUGGGUU GUGUCAGUGUCAGACCUCUGAAAUUCAGUUCUUCAGCUGGGA UAUCUCUGUCAUCGU	172
<i>miR-146-2</i>	AGCUUUGAGAACUGAAUCCAUGGGUUUGUGUCAGUGUCAGAC CUGUGAAAUUCAGUUCUUCAGCU	173
<i>miR-147</i>	AAUCUAAAAGACAACAUUUCUGCACACACACCAGACUAUGGAA GCCAGUGUGUGGAAAUGCUCUGCUAGAUU	174
<i>miR-148a (miR-148)</i>	GAGGCAAAGUUCUGAGACACUCCGACUCUGAGUAUGAUAGAA GUCAGUGCACUACAGAACUUUGUCUC	175
<i>miR-148b</i>	CAAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUC AGGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAUCACAGAACUUUGU CUCGAAAGCUUUCUA	176
<i>miR-148b-pequeño</i>	AAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUCA GGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAU	177
<i>miR-149-1</i>	GCCGGCGCCCAGCUCUGGCUCGUGUCUUCACUCCCGUGCUU GUCCGAGGAGGGAGGGAGGGACGGGGGCUGUGCUGGGGCAGC UGGA	178
<i>miR-149-2</i>	GCUCUGGCUCGUGUCUUCACUCCCGUGCUUGUCCGAGGAGG GAGGGAGGGAC	179
<i>miR-150-1</i>	CUCCCCAUGGCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGC UCAGACCCUGGUACAGGCCUGGGGGACAGGGACCUGGGGAC	180
<i>miR-150-2</i>	CCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGCUCAGACCCUG GUACAGGCCUGGGGGACAGGG	181
<i>miR-151</i>	UUUCCUGCCUCGAGGAGCUCACAGUCUAGUAUGUCUCAUCC CCUACUAGACUGAAGCUCCUUGAGGACAGG	182
<i>miR-151-2</i>	CCUGUCCUCAAGGAGCUUCAGUCUAGUAGGGGAUGAGACAU CUAGACUGUGAGCUCCUCGAGGGCAGG	183

<i>miR-152-1</i>	UGUCCCCCCCCGGCCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGC UCUGGAGCAGUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCCGGAAGGA CC	184
<i>miR-152-2</i>	GGCCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGCUCUGGAGCA GUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCCGG	185
<i>miR-153-1-1</i>	CUCACAGCUGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUCUGCAGCUAGUAU UCUCACUCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGCAGG UGUGGC	186
<i>miR-153-1-2</i>	UCUCUCUCUCCCUCACAGCUGCCAGUGUCAUUGUCACAAAAG UGAUCAUUGGCAGGUGUGGCUGCUGCAUG	187
<i>miR-153-2-1</i>	AGCGGUGGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAU AUGAGCCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGAAACU GUG	188
<i>miR-153-2-2</i>	CAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAUAUGAGCCCA GUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUG	189
<i>miR-154-1</i>	GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUAU UUGUGACGAAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUUCAGUACCAA	190
<i>miR-154-2</i>	GAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUAAUUUGUGACGA AUCAUACACGGUUGACCUAUUUUU	191
<i>miR-155</i>	CUGUAAAUGC U AUCCGUGAUAGGGGUUUUUGCCUCCAACUGA CUCCUACAUAUUAGCAUUAACAG	192
<i>miR-156 = miR-157 = solapamiento con miR-141</i>	CCUAACACUGUCUGGUAAAAGAUGGCUCCCGGGUGGGUUCUCU CGGCAGUAACCUUCAGGGAGCCUGAAGACCAUGGAGGAC	193
<i>miR-158-pequeño = miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAG CCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUCCAUAAGGUCA CAGGUAUGUUCGCCUCAAUUGCCAGC	194
<i>miR-159-1-pequeño</i>	UCCCGCCCCUGUAACAGCAACUCCAUGUGGAAGUGCCCACUG GUUCCAGUGGGGCUGCUGUUAUCUGGGGCGAGGGCCA	195
<i>miR-161-pequeño</i>	AAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGUGACUGGUC UGGGCUACGCUAUGCUGCGGGCGCUCGGG	196
<i>miR-163-1b-pequeño</i>	CAUUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCCACC CGGGUAAAAGAAAGGCCGAAU	197
<i>miR-163-3-pequeño</i>	CCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCCACUUGGGGUAGA GGUGAAAGUCCUUUUACGGAAUUUUUU	198
<i>miR-162</i>	CAAUGUCAGCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUA AGAUUCUAAAUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGU AAGGUUGACCAUACUCUACAGUUG	199
<i>miR-175-pequeño = miR-224</i>	GGGCUUUCAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUGAUUGU GCAUUGUUUCAAAAUGGGGCCCUAGUGACUACAAAGCCC	200

<i>miR-177-pequeño</i>	ACGCAAGUGUCCUAAGGUGAGCUCAGGGAGCACAGAAACCUC CAGUGGAACAGAAGGGCAAAAGCUCAUU	201
<i>miR-180-pequeño</i>	CAUGUGUCACUUUCAGGUGGAGUUUCAAGAGUCCCUUCCUGG UUCACCGUCUCCUUUGCUCUUCACAAAC	202
<i>miR-181a</i>	AGAAGGGCUAUCAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCCAAGGAACA <u>UUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGGAUUUGAAAAACCACUGA</u> CCGUUGACUGUACCUUGGGGUCCUUA	203
<i>miR-181b-1</i>	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUAAAAGGUCACAAUCA <u>ACAUUC</u> <u>AUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA</u> CAAUGAAUGCAACUGUGGCCCCGCUU	204
<i>miR-181b-2</i>	CUGAUGGCUGCACUCA <u>ACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGUUUGA</u> GUCUGAAUCAACUCACUGAUCAAUGAAUGCAACUGCGGACC AAACA	205
<i>miR-181c</i>	CGGAAAAUUUGCCAAGGGUUUGGGGA <u>ACAUUCAACCUGUCG</u> <u>GUGAGUUUGGGCAGCUCAGGCAAACCAUCGACCGUUGAGUGG</u> ACCCUGAGGCCUGGAAUUUGCCAUCU	206
<i>miR-182-as</i>	GAGCUGCUUGCCUCCCCCGUUUUUGGCAAUGGUAGAACUCA <u>CACUGGUGAGGUAACAGGAUCCGGUGGUUCUAGACUUGCCAA</u> <u>CUAUGGGGCGAGGACUCAGCCGGCAC</u>	207
<i>miR-182</i>	UUUUUGGCAAUGGUAGAACUCACACUGGUGAGGUAACAGGAU CCGGUGGUUCUAGACUUGCCAACUAUGG	208
<i>miR-183</i>	CCGCAGAGUGUGACUCCUGUUCUGUGUAUGGCACUGGUAGAA <u>UUCACUGUGAACAGUCUCAGUCAGUGAAUUACCGAAGGGCCA</u> UAAACAGAGCAGAGACAGAUCCACGA	209
<i>miR-184-1</i>	CCAGUCACGUCCCCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGAC UGUAAGUGUUGGACGGAGAACUGAUAAAGGGUAGGUGAUUGA	210
<i>miR-184-2</i>	CCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGACUGUAAGUGUUG GACGGAGAACUGAUAAAGGGUAGG	211
<i>miR-185-1</i>	AGGGGGCGAGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGU <u>UCCUGAUGGUCC</u> CCUCCCCAGGGGCUGGCUUCCUCUGGUCCU <u>UCCCUCCCA</u>	212
<i>miR-185-2</i>	AGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGU <u>UCCUGAUGGUCCCUCCCA</u> GGGGCUGGCUUCCUCUGGUCCU	213
<i>miR-186-1</i>	UGCUUGUAACUUCCAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGG UUUUUUUUUAAGCCCAAAGGUGAAUUUUUUGGGAAGUUUGA GCU	214
<i>miR-186-2</i>	ACUUCCAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGGUUUUAUUU UAAGCCCAAAGGUGAAUUUUUUGGGAAGU	215

ES 2 557 411 T3

miR-187	GGUCGGGCUCACCAUGACACAGUGUGAGACUCGGGCUACAAC ACAGGACCCGGGGCGCUGCUCUGACCCUCGUGUCUUGUGUU <u>GCAGCCGGAGGGACGCAGGUCCGCA</u>	216
miR-188-1	UGCUC <u>CCUCUCUCACA</u> UCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUU UCUGAAAACCCCUCCCAUGCAGGGUUUGCAGGAUGGCGAG CC	217
miR-188-2	UCUCACA <u>UCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUU</u> UCUGAAAAC CCCUCCCAUGCAGGGUUUGCAGGA	218
miR-189-1	CUGUCGAUUGGACCCGCCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAU <u>AU</u> <u>CAGUUCUCAUUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGG</u> AGUCGAGCCCUUGAGCAA	219
miR-189-2	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAU <u>AUCAGUUCUCAUUUUACACA</u> CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	220
miR-190-1	UGCAGGCCUCUGUG <u>UGAU</u> AUGUUUGAU <u>AUAUUAGGUUGUUAU</u> UAAAUCCAACUAUAUAUCAAAACUAU <u>UCCUACAGUGUCUUGC</u> C	221
miR-190-2	CUGUGUGAU <u>AUGUUUGAU</u> AUAUUAGGUUGUUAUUUAAUCCA ACUAUAUAUCAAAACUAU <u>UCCUACAG</u>	222
miR-191-1	CGGCUGGACAGCGGG <u>CAACGGAAUCCCAA</u> AGCAGCUGUUGU CUCCAGAGCAU <u>UCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCUC</u> UCCUGCCU	223
miR-191-2	AGCGGGCAACGGAAUCCCAAAGCAGCUGUUGUCUCCAGAGC AU <u>UCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCU</u>	224
miR-192-2/3	CCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUG <u>ACCUAUGAAUUGACAGC</u> <u>CAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCA</u> AUCCAUAGGUCAC AGGUAUGUUCGCCUCA <u>AUGCCAG</u>	225
miR-192	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUG <u>ACCUAUGAAUUGACAG</u> <u>CCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCA</u> AUCCAUAGGUCA CAGGUAUGUUCGCCUCA <u>AUGCCAGC</u>	226
miR-193-1	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGA GGGUGUCGGAUCAACUGGCCUACA <u>AGUCCCAGUUCUCGGCC</u> CCCG	227
miR-193-2	GCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCA <u>ACUGG</u> <u>CCUACAAAGUCCCAGU</u>	228
miR-194-1	AUGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGU ACCAAUUUCCAGUGGAGAU <u>GCUGUUACUUUGAUGGUUACCA</u> A	229
miR-194-2	GUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAAUUUCCAGU GGAGAUGCUGUUACUUUUGAU	230

ES 2 557 411 T3

<i>miR-195-1</i>	AGCUUCCCUGGCUCU <u>UAGCAGCACAGAAAUAUUGGCACAGGGA</u> AGCGAGUCUGCCAAUAUUGGCUGUGCUGCUCCAGGCAGGGUG GUG	231
<i>miR-195-2</i>	<u>UAGCAGCACAGAAAUAUUGGCACAGGGAAGCGAGUCUGCCAA</u> <u>UAUUGGCUGUGCUGCU</u>	232
<i>miR-196-1</i>	CUAGAGC'UUGAAUUGGAACUGCUGAGUGAAU <u>UAGGUAGUUUC</u> <u>AUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAACACAACAACAUAAACC</u> ACCCGAUUCACGGCAGUUACUGCUCC	233
<i>miR-196a-1</i>	GUGAAU <u>UAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAA</u> CACAACAACAUA <u>AAACCACCCGAUUCAC</u>	234
<i>miR-196a-2</i> (<i>miR-196-2</i>)	UGCUCGCUCAGCUGAUCUGUGGC <u>UAGGUAGUUUCAUGUUGU</u> <u>UGGGAUUGAGUUUGAACUCGGCAACAAGAAACUGCCUGAGU</u> UACAUCAGUCGGUUUUCGUCGAGGGC	235
<i>miR-196</i>	GUGAAU <u>UAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAA</u> CACAACAACAUA <u>AAACCACCCGAUUCAC</u>	236
<i>miR-196b</i>	ACUGGUCGGUGAUU <u>UAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGAUCCAC</u> CUUUCUCUCGACAGCAGCAGACACUGCCUUCAUUACUUCAGUUG GGCUGUGCCGGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAAGAGCUCUU	237
<i>miR-197</i>	GGCUGUGCCGGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAAGAGCUCUU CACCCUUCACCACCUUCUCCACCCAGCAUGGCC	238
<i>miR-197-2</i>	GUGCAUGUGUAUGUAUGUGUGCAUGUGCAUGUGUAUGUGUA UGAGUGCAUGCGUGUGUGC	239
<i>miR-198</i>	UCAUUGGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUCCUGUGAUUUUCCU CUUCUCUAUAGAAUAAAUGA	240
<i>miR-199a-1</i>	GCCAACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAU GUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGC	241
<i>miR-199a-2</i>	AGGAAGCUUCUGGAGAUCUGCUCGCGCCAGUGUUCAG <u>ACUACCUGUUCAGGACAUGCCGUUGUACAGUAGUCUGCACA</u> <u>UUGGUUAGACUGGGCAAGGGAGAGCA</u>	242
<i>miR-199b</i>	CCAGAGGACACCUCCACUCCGUCUACCCAGUGUUUAGACUAU <u>CUGUUCAGGACUCCCAAUUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGU</u> <u>UAGGCUGGGCUGGGUUAGACCCUCGG</u>	243
<i>miR-199s</i>	GCCAACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAU GUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGC	244
<i>miR-200a</i>	GCCGUGGCCAUCUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCAGGUC UCUAAUACUGCCUGGUAUUGAUGACGGC	245
<i>miR-200b</i>	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUCUACUGGGCAGCAUUGGA UGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAUUGAUGACGGCGG AGCCUCGCACG	246

<i>miR-200c</i>	CCCUCGUCUUACCCAGCAGUGUUUGGGUGCGGUUGGGAGUCU CUAAUACUGCCGGGUAUAUGAUGGAGG	247
<i>miR-202</i>	GUUCCUUUUUCCUAUGCAUAUACUUCUUUGAGGAUCUGGCCU AAAGAGGUUAUAGGGCAUGGGAAUGAUGGAGC	248
<i>miR-203</i>	GUGUUGGGGACUCGCGCGCUGGGUCCAGUGGUUCUUAACAGU UCAACAGUUCUGUAGCGCAAUUGUGAAAUGUUUAGGACCACU AGACCCGGCGGGCGCGGCACAGCGA	249
<i>miR-204</i>	GGCUACAGUCUUUCUUAUGUGACUCGUGGACU <u>UCCCUUUGU</u> <u>CAUCCUAUGCCUGAGAAUAUAUGAAGGAGGCUGGGAAAGCAA</u> AGGGACGUUCAAUUGUCAUCACUGGC	250
<i>miR-205</i>	AAAGA <u>UCCUCAGACA</u> AUCCAUGUGCUUCUCUUG <u>UCCUUCAU</u> <u>CCACCGGAGUCUGUCUCAUACCCAACCAGAUUUCAGUGGAGU</u> GAAGUUCAGGAGGCAUGGAGCUGACA	251
<i>miR-206-1</i>	UGC <u>UCCCGAGGCCACA</u> UGCUUCUUUAUAUCCCAUAUGGAU UACUUUGCUAUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUCGGCAAG UG	252
<i>miR-206-2</i>	AGGCCACAUGCUUCUUUAUAUCCCAUAUGGAU <u>UACUUUGCU</u> AUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUU	253
<i>miR-208</i>	UGACGGGCGAGCUUUUGGCCCGGGUUAUACCUGAUGCUCACG UAUAAGACGAGCAAAAAGCUUGUUGGUCA	254
<i>miR-210</i>	ACCCGGCAGUGCCUCCAGGCGCAGGGCAGCCCCUGCCCACCGC ACACUGCGCUGCCCCAGACCCACUGUGCGUGUGACAGCGGCU <u>GAUCUGUGCCUGGGCAGCGCGACCC</u>	255
<i>miR-211</i>	UCACCUGGCCAUGUGACUUGUGGGCU <u>UCCCUUUGUCAUCCU</u> <u>CGCCUAGGGCUCUGAGCAGGGCAGGGACAGCAAAGGGGUGCU</u> CAGUUGUCACU <u>UCCACAGCACGGAG</u>	256
<i>miR-212</i>	CGGGGACCCCCGCCCGGACAGCGCGCCGGCACCUUGGCUCUAG ACUGCUUACUGCCCCGGGCGCCUCAGUAACAGUCUCCAGUCA <u>CGGCCACCGACGCCUGGCCCGCC</u>	257
<i>miR-213-2</i>	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUAAAAGGUCACAAUCA <u>ACAUUC</u> <u>AUUGCUGUCGGUGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA</u> CAAUGAAUGCAACUGUGGCCCGCUU	258
<i>miR-213</i>	GAGUUUUGAGGUUGCUUCAGUGAACAUUCAACGCUGUCGGUG AGUUUGGAAUUA <u>AAAUCAAAACCAUCGACCGUUGAUUGUACC</u> CUAUGGCUA <u>ACCAUCAUCUACUCC</u>	259
<i>miR-214</i>	GGCCUGGCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUCUACAC UUGCUGUGCAGAA <u>CAUCCGCUCACCGUACAGCAGGCACAGA</u> <u>CAGGCAGUCACAUGACAACCCAGCCU</u>	260

ES 2 557 411 T3

<i>miR-215</i>	AUCAUUCAGAAAUGGUAUACAGGAAA <u>AUGACCUAUGAAUUGA</u> <u>CAGACA</u> AUAUAGCUGAGUUUGUCUGUCAUUUCUUUAGGCCAA UAUUCUGUAUGACUGUGCUACUCAA	261
<i>miR-216</i>	GAUGGCUGUGAGUUGGCU <u>UAAUCUCAGCUGGCAACUGUGAGA</u> UGUUCAUACAAUCCCUCACAGUGGUCUCUGGGAUUAUGC ^{AA} ACAGAGCAAUUCCUAGCCCUCACGA	262
<i>miR-217</i>	AGUAUAAUUAUACA <u>UAGUUUUGAUGUCGCAGA</u> <u>UACUGCAU</u> <u>CAGGAACUGAUUGGAUA</u> AAGAAUCAGUCACCAUCAGUCCUAA UGCAUUGCCUUCAGCAUCUAAACAAG	263
<i>miR-218-1</i>	GUGAUA <u>AUGUAGCGAGAUUUUCUGUUGUGCUUGAUCUAACCA</u> <u>UGUGGUUGCGAGGUAUGAGUAAAACAUGGUUCCGUCAAGCAC</u> CAUGGAACGUCACGCAGCUUUCUACA	264
<i>miR-218-2</i>	GACCAGUCGCUGCGGGGCU <u>UCCUUUGUGCUUGAUCUAACCA</u> <u>UGUGGUGGAACGAUGGAAACGGAACAUGGUUCUGUCAAGCAC</u> CGCGGAAAGCACCGUGCUCUCCUGCA	265
<i>miR-219</i>	CCGCCCCGGGCCGCGGC <u>UCCUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCG</u> AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAG CCGCCGCCCCCAAACCUCGAGCGGG	266
<i>miR-219-1</i>	CCGCCCCGGGCCGCGGC <u>UCCUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCG</u> AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAG CCGCCGCCCCCAAACCUCGAGCGGG	267
<i>miR-219-2</i>	ACUCAGGGGCUUCGCCAC <u>UGAUUGUCCAAACGCAAUUCUUGU</u> ACGAGUCUGCGGCCAACCGAGAAUUGUGGCUGGACAUCUGUG GCUGAGCUCCGGG	268
<i>miR-220</i>	GACAGUGUGGCAUUGUAGGGC <u>UCCACACCGUAUCUGACACUU</u> <u>UGGGCGAGGGCACCAUGCUGAAGGUGUUCAUGAUGCGGUCUG</u> GGAACUCCUCACGGAUCUUAUGAUG	269
<i>miR-221</i>	UGAACAUCCAGGUCUGGGGCAUGAACCUGGCAUACAAUGUAG AUUUCUGUGUUCGUUAGGCAAC <u>AGCUACA</u> UUGUCUGCUGGGU <u>UUCAGGCUACCUGGAAACAUGUUCUC</u>	270
<i>miR-222</i>	GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCA <u>AUGGCUCAGUAGCCAG</u> UGUAGAUCUGUCUUCGUAAUCAGCAGCUACAUCUGGCUAC <u>UGGGUCUCUGAUGGCAUCUUCUAGCU</u>	271
<i>miR-223</i>	CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGC <u>UCCGUGUAUUUGACAAGCU</u> GAGUUGGACACUCCAUGUGGUAGAGUGUCAGUUUGUCAAAUA <u>CCCCAAGUGCGGCACAUGCUUACCAG</u>	272
<i>miR-224</i>	GGGCUUUC <u>AAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUGAUUGU</u> GCAUUGUUUCAAAAUGGUGCCCUAGUGACUACAAAGCCC	273

ES 2 557 411 T3

Nombre del Precursor	Secuencia (5' a 3')*	SEC ID N°:
<i>miR-294-1</i> (chr16)	CAAUCUUCCUUUAUCAUGGUAUUGAUUUUUCAGUGCUUCCCU UUUGUGUGAGAGAAGUA	274
<i>miR-296</i>	AGGACCCUUCAGAGGGCCCCCCUCAUCCUGUUGUGCCUAA UUCAGAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCCUGAAGGGCUCU	275
<i>miR-299</i>	AAGAAUGGUUUACCGUCCCACAUACAUUUUGAAUAUGUAUG UGGGAUGGUAAACCGCUUCU	276
<i>miR-301</i>	ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUUAUUGCACUACUGUACUUU ACAGCUAGCAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAAGCAUCUGAAAGCA GG	277
<i>miR-302a</i>	CCACCACUUAACGUGGAUGUACUUGCUUUGAAACUAAAGAA GUAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGAUGG	278
<i>miR-302b</i>	GCUCCCUUCAACUUUAACAUGGAAGUGCUUUCUGUGACUUUA AAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUAGUAGGAGU	279
<i>miR-302c</i>	CCUUUGC <u>UUUAACAUGGGGGUACCU</u> GCUGUGUGAAACAAAAG UAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGGAGG	280
<i>miR-302d</i>	CCUCUACUUUAACAUGGAGGCACUUGCUGUGACAUGACAAAA AUAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGUGG	281
<i>miR-320</i>	GCUUCGCUCCCCUCCGCCUUCUCUUC <u>CCGGUUCU</u> CCCCGGAGU CGGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGU	282
<i>miR-321</i>	UUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCACCCG GGGUAAAGAAAGGCCGA	283
<i>miR-323</i>	UUGGUACUUGGAGAGAGGUGGUCCGUGGCGCGUUCGCUUUAU UUAUGGCGCACAUACACGGUCGACCUCUUUGCAGUAUCUAA UC	284
<i>miR-324</i>	CUGACUAUGCCUCCCCGCAUCC <u>CCUAGGGCAU</u> UGGUGUAAAG CUGGAGACCCACUGCCCCAGGUGCUGCUGGGGGUUGUAGUC	285
<i>miR-325</i>	AUACAGUGCUUGGUUCCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGUUUGU GACAUAAUUGUUUAUUGAGGACCUCUAUCAAUCAAGCACU GUGCUAGGCUCUGG	286
<i>miR-326</i>	CUCAUCUGUCUGUUGGGCUGGAGGCAGGGCCUUGUGAAGGC GGGUGGUGCUCAGAUCCUCUGGGCCCUUCCUCCAGCCCCGA GGCGGAUUCA	287
<i>miR-328</i>	UGGAGUGGGGGGGCAGGAGGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAUAC AGCCCCUGGCCCUUCUGCCCUUCCGUC <u>CCCCUG</u>	288
<i>miR-330</i>	CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGCUCU GCAAGAUAACCGAGCAAAGCACACGGCCUGCAGAGAGGCAG CGCUCUGCCC	289

<i>miR-331</i>	GAGUUUGGUUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGUAUGGUCCCAGG GAUCCCAGAUCAAACCAGGCCCCUGGGCCUAUCCUAGAACCAA CCUAAGCUC	290
<i>miR-335</i>	UGUUUUGAGCGGGGGUCAAGAGCAAUAACGAAAAUGUUUGU CAUAAACCGUUUUUCAUUAUUGCUCUCCUGACCUCUCUUAUU GCUAUUAUCA	291
<i>miR-337</i>	GUAGUCAGUAGUUGGGGGUGGGAACGGCUUCAUACAGGAGU UGAUGCACAGUUAUCCAGCUCUUAUAUGAUGCCUUUCUUCAU CCCCUCAA	292
<i>miR-338</i>	UCUCCAACAUAUCCUGGUGCUGAGUGAUGACUCAGGCGACU CCAGCAUCAGUGAUUUUGUUGAAGA	293
<i>miR-339</i>	CGGGGCGGCCGCUCUCCUGUCCUCCAGGAGCUCACGUGUGCC UGCCUGUGAGCGCCUCGACGACAGGCCGGCGCCUGCCCCAGU GUCUGCGC	294
<i>miR-340</i>	UUGUACCUGGUGUGAUUAUAAAGCAAUGAGACUGAUUGUCAU AUGUCGUUUGUGGGAUCCGUCUCAGUUACUUUAUAGCCAUAC CUGGUAUCUUA	295
<i>miR-342</i>	GAAACUGGGCUCAAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUUGAGGG ACAUGGUUAAUGGAAUUGUCUCACACAGAAAUCGCACCCGUC ACCUUGGCCUACUUA	296
<i>miR-345</i>	ACCCAAACCCUAGGUCUGCUGACUCCUAGUCCAGGGCUCGUG AUGGCUGGUGGGCCCUGAACGAGGGGUCUGGAGGCCUGGGUU UGAAUAUCGACAGC	297
<i>miR-346</i>	GUCUGUCUGCCCCGAUGCCUGCCUCUCUGUUGCUCUGAAGGA GGCAGGGGCUGGGCCUGCAGCUGCCUGGGCAGAGCGGCUCU GC	298
<i>miR-367</i>	CCAUUACUGUUGC UAAUAUGCAACUCUGUUGAAUAUAAUUG GAAUUGCACUUUAGCAAUGGUGAUGG	299
<i>miR-368</i>	AAAAGGUGGAUAUCCUUCUAUGUUUAUGUUUAUUUAUGGUUA AACAUAGAGGAAAUCCACGUUUU	300
<i>miR-369</i>	UUGAAGGGAGAUCGACCGUGUUAUAUUCGCUUUUAUUGACUUC GAAUAAUACAUGGUUGAUCUUUCUCAG	301
<i>miR-370</i>	AGACAGAGAAGCCAGGUACGUCUCUGCAGUACACAGCUCA CGAGUGCCUGCUGGGGUGGAACCUGGUCUGUCU	302
<i>miR-371</i>	GUGGCACUCAACUGUGGGGGCACUUUCUGCUCUCUGGUGAA AGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUAC	303
<i>miR-372</i>	GUGGGCCUCAAAUGUGGAGCACUAUUCUGAUGUCCAAGUGGA AAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCAC	304
<i>miR-373</i>	GGGAUACUCAAAAUGGGGGCGCUUCCUUUUUGUCUGUACUG GGAAGUCUUCGAUUUUGGGGUGUCCC	305

<i>miR-374</i>	UACAUCGGCCA <u>UUUAUAUACA</u> ACCUGAUAAAGUGUUUAUAGCAC UUUAUCAGAUUGUAUUUGUAAUUGUCUGUGUA	306
<i>miR-hes1</i>	AUGGAGCUGCUCACCCUGUGGGCCUCAAAUGUGGGAGGAACUA UUCUGAUGUCCAAGUGGAAAGUGCUGCGACA <u>UUUGAGCGUCA</u> CCGGUGACGCCCAUAUCA	307
<i>miR-hes2</i>	GCAUCCCCUCAGCCUGUGGCACUCAAAACUGUGGGGGCACUUU CUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUACCG CUUGAGAAGACUCAACC	308
<i>miR-hes3</i>	CGAGGAGCUCAUACUGGGAUACUCAAAAUGGGGGCGCUUCC UUUUUGUCUGUUACUGGGAAGUGCUCGAUUUUUGGGGUGUCC CUGUUUGAGUAGGGCAUC	309

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

Tabla 1b- Secuencias de microARN maduro humano.

Nombre de miARN Maduro	Secuencia de miARN Maduro (5' a 3')	SEC ID N°	microARN precursor correspondiente; véase Tabla 1a
<i>let-7a</i>	ugagguaguagguuguauagu	310	<i>let-7a-1; let-7a-2; let-7a-3; let-7a-4</i>
<i>let-7b</i>	ugagguaguagguuguguguu	311	<i>let-7b</i>
<i>let-7c</i>	ugagguaguagguuguauuguu	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>	ugagguaguagauuguauagu	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>	ugagguaguaguuuugucu	317	<i>let-7i</i>
<i>miR-1</i>	uggaauguaaagaagua	318	<i>miR-1b; miR-1b-1; miR-1b-2</i>
<i>miR-7</i>	uggaagacuaguguuuuuuuu	319	<i>miR-7-1; miR-7-1a; miR-7-2; miR-7-3</i>
<i>miR-9</i>	ucuuugcuuauucugcuuauaga	320	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-9*</i>	uaaagcuagauaaccgaaagu	321	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-10a</i>	uaccucguuagauccgaaauugug	322	<i>miR-10a</i>
<i>miR-10b</i>	uaccucguuagaaccgaaauugu	323	<i>miR-10b</i>
<i>miR-15a</i>	uagcagcacauaauguuuuugug	324	<i>miR-15a; miR-15a-2</i>
<i>miR-15b</i>	uagcagcacaucauuguuuaca	325	<i>miR-15b</i>
<i>miR-16</i>	uagcagcacguaaauauuggcg	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>	uaaagugcuuauagugcagguua	332	<i>miR-20 (miR-20a)</i>
<i>miR-21</i>	uagcuuauucagacugauguuga	333	<i>miR-21; miR-21-17</i>
<i>miR-22</i>	aagcugccaguugaagaacugu	334	<i>miR-22</i>
<i>miR-23a</i>	aucacauugccagggauuuucc	335	<i>miR-23a</i>
<i>miR-23b</i>	aucacauugccagggauuaccac	336	<i>miR-23b</i>
<i>miR-24</i>	uggcucaguucagcaggaacag	337	<i>miR-24-1; miR-24-2; miR-24-19; miR-24-9</i>
<i>miR-25</i>	cauugcacuugucucggucuga	338	<i>miR-25</i>
<i>miR-26a</i>	uucaaguaauccaggauaggu	339	<i>miR-26a; miR-26a-1; miR-26a-2</i>
<i>miR-26b</i>	uucaaguaauccaggauaggu	340	<i>miR-26b</i>
<i>miR-27a</i>	uucacaguggcuaaguuccgcc	341	<i>miR-27a</i>
<i>miR-27b</i>	uucacaguggcuaaguucug	342	<i>miR-27b-1; miR-27b-2</i>
<i>miR-28</i>	aaggagcucacagucuuuugag	343	<i>miR-28</i>
<i>miR-29a</i>	cuagcaccuucugaaucgguu	344	<i>miR-29a-2; miR-29a</i>
<i>miR-29b</i>	uagcaccuuugaaucagug	345	<i>miR-29b-1; miR-29b-2</i>
<i>miR-29c</i>	uagcaccuuugaaucgguua	346	<i>miR-29c</i>

ES 2 557 411 T3

<i>miR-30a-5p</i>	uguaaacauccucgacuggaagc	347	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30a-3p</i>	cuuucagucggauuuugcagc	348	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30b</i>	uguaaacauccuacacucagc	349	<i>miR-30b-1; miR-30b-2</i>
<i>miR-30c</i>	uguaaacauccuacacucagc	350	<i>miR-30c</i>
<i>miR-30d</i>	uguaaacaucgccgacuggaag	351	<i>miR-30d</i>
<i>miR-30e</i>	uguaaacauccuugacugga	352	<i>miR-30e</i>
<i>miR-31</i>	ggcaagaugcuggcauagcug	353	<i>miR-31</i>
<i>miR-32</i>	uauugcacauuacuagaugc	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>	aggcaguguaguugcugauug	358	<i>miR-34c</i>
<i>miR-92</i>	uauugcacuugucccgccugu	359	<i>miR-92-2; miR-92-1</i>
<i>miR-93</i>	aaagucgucguucgugcaggag	360	<i>miR-93-1; miR-93-2</i>
<i>miR-95</i>	uucacggguuuuuuugagca	361	<i>miR-95</i>
<i>miR-96</i>	uuuggcacuagcacauuuuugc	362	<i>miR-96</i>
<i>miR-98</i>	ugagguaguaaguuguuuuuu	363	<i>miR-98</i>
<i>miR-99a</i>	aacccguagaucggaucuuug	364	<i>miR-99a</i>
<i>miR-99b</i>	cacccguagaaccgaccuugcg	365	<i>miR-99b</i>
<i>miR-100</i>	uacaguacugugauaacugaag	366	<i>miR-100</i>
<i>miR-101</i>	uacaguacugugauaacugaag	367	<i>miR-101-1; miR-101-2</i>
<i>miR-103</i>	agcagcauuuacagggcuaua	368	<i>miR-103-1</i>
<i>miR-105</i>	ucaaauugcucagacuccugu	369	<i>miR-105</i>
<i>miR-106-a</i>	aaaagugcuuacagucagguagc	370	<i>miR-106-a</i>
<i>miR-106-b</i>	uaaagugcugacagucagau	371	<i>miR-106-b</i>
<i>miR-107</i>	agcagcauuuagcagggcuauca	372	<i>miR-107</i>
<i>miR-122a</i>	uggagugugacaauugguuguu	373	<i>miR-122a-1; miR-122a-2</i>
<i>miR-124a</i>	uuaaaggcacgcgguuauugcca	374	<i>miR-124a-1; miR-124a-2; miR-124a-3</i>
<i>miR-125a</i>	ucccugagaccuuuuuaccugug	375	<i>miR-125a-1; miR-125a-2</i>
<i>miR-125b</i>	ucccugagaccuuuuuaccuguga	376	<i>miR-125b-1; miR-125b-2</i>
<i>miR-126*</i>	cauuuuuuuuuuuugucagcg	377	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-126</i>	ucguaccgugaguuuuuauugc	378	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-127</i>	ucggauccgucugagcuuggcu	379	<i>miR-127-1; miR-127-2</i>
<i>miR-128a</i>	ucacagugaaccggucucuuuu	380	<i>miR-128; miR-128a</i>
<i>miR-128b</i>	ucacagugaaccggucucuuuu	381	<i>miR-128b</i>
<i>miR-129</i>	cuuuuugcggucuggguugc	382	<i>miR-129-1; miR-129-2</i>
<i>miR-130a</i>	cagugcauuuuuuuuuuuuuuuu	383	<i>miR-130a</i>
<i>miR-130b</i>	cagugcauuuuuuuuuuuuuuuu	384	<i>miR-130b</i>
<i>miR-132</i>	uaacagucuaaccgcaugucg	385	<i>miR-132-1</i>
<i>miR-133a</i>	uuggucccuuuaaccagcugu	386	<i>miR-133a-1; miR-133a-2</i>
<i>miR-133b</i>	uuggucccuuuaaccagcua	387	<i>miR-133b</i>
<i>miR-134</i>	ugugacugguugaccagaggg	388	<i>miR-134-1; miR-134-2</i>
<i>miR-135a</i>	uauggcuuuuuuuuuuuuuuuuu	389	<i>miR-135a; miR-135a-2 (miR-135-2)</i>
<i>miR-135b</i>	uauggcuuuuuuuuuuuuuuuuu	390	<i>miR-135b</i>
<i>miR-136</i>	acuccauuuuuuuuuuuuuuuuu	391	<i>miR-136-1; miR-136-2</i>
<i>miR-137</i>	uauugcuuaagaauacgcuag	392	<i>miR-137</i>
<i>miR-138</i>	agcugguguuugugaau	393	<i>miR-138-1; miR-138-2</i>
<i>miR-139</i>	ucuacagucacgugucu	394	<i>miR-139</i>
<i>miR-140</i>	agugguuuuuuuuuuuuuuuuuu	395	<i>miR-140; miR-140as; miR-140s</i>
<i>miR-141</i>	aacacugucugguuaaagaugg	396	<i>miR-141-1; miR-141-2</i>
<i>miR-142-3p</i>	uguaguguuuuuuuuuuuuuuuuu	397	<i>miR-142</i>
<i>miR-142-5p</i>	cauaaaguagaagacacuac	398	<i>miR-142</i>
<i>miR-143</i>	ugagaugaagcacugucucu	399	<i>miR-143-1</i>
<i>miR-144</i>	uacagauuagaugauuacuag	400	<i>miR-144-1; miR-144-2</i>
<i>miR-145</i>	guccaguuuuuuuuuuuuuuuuuu	401	<i>miR-145-1; miR-145-2</i>
<i>miR-146</i>	ugagaacugaauuuuuuuuuuuuu	402	<i>miR-146-1; miR-146-2</i>
<i>miR-147</i>	guguguggaaugcuucugc	403	<i>miR-147</i>
<i>miR-148a</i>	ucagugcacuacagaacuuugu	404	<i>miR-148a (miR-148)</i>
<i>miR-148b</i>	ucagugcaucacagaacuuugu	405	<i>miR-148b</i>
<i>miR-149</i>	ucuggcuccgugucuucacucc	406	<i>miR-149</i>
<i>miR-150</i>	ucucccaaccuuuuuuuuuuuuuu	407	<i>miR-150-1; miR-150-2</i>

ES 2 557 411 T3

miR-151	acuagacugaagcuccuugagg	408	miR-151
miR-152	ucagugcaugacagaacuugg	409	miR-152-1; miR-152-2
miR-153	uugcauagucacaaaaguga	410	miR-153-1-1; miR-153-1-2; miR-153-2-1; miR-153-2-2
miR-154	uagguuaucgguguugccuucg	411	miR-154-1; miR-154-2
miR-154*	aaucacuacacggugaccuauu	412	miR-154-1; miR-154-2
miR-155	uuaaugcuaaucgugauagggg	413	miR-155
miR-181a	aacauucaacgcugcggugagu	414	miR-181a
miR-181b	aacauucauugcugcgguggguu	415	miR-181b-1; miR-181b-2
miR-181c	aacauucaaccugcggugagu	416	miR-181c
miR-182	uuuggcaaugguagaacucaca	417	miR-182; miR-182as
miR-182*	ugguucucagacuugccaacua	418	miR-182; miR-182as
miR-183	uauggcacugguagaauccacug	419	miR-183
miR-184	uggacggagaacugauaagggg	420	miR-184-1; miR-184-2
miR-185	uggagagaaaggcaguuc	421	miR-185-1; miR-185-2
miR-186	caaagaauucuccuuugggcuu	422	miR-186-1; miR-186-2
miR-187	ucgugucuuuguguugcagccg	423	miR-187
miR-188	caucccuugcaugguggagggg	424	miR-188
miR-189	gugccuacugagcugauaucagu	425	miR-189-1; miR-189-2
miR-190	ugauauguuugauauuuaggu	426	miR-190-1; miR-190-2
miR-191	caacggaaucacaaaagcagcu	427	miR-191-1; miR-191-2
miR-192	cugaccuauagaauugacagcc	428	miR-192
miR-193	aacuggccuacaaagucccag	429	miR-193-1; miR-193-2
miR-194	uguaacagcaacuccaugugga	430	miR-194-1; miR-194-2
miR-195	uagcagcacagaaauuuggc	431	miR-195-1; miR-195-2
miR-196a	uagguaguuucauguuugg	432	miR-196a; miR-196a-2 (miR196-2)
miR-196b	uagguaguuuuccguugg	433	miR-196b
miR-197	uucaccaccuuccaccaccagc	434	miR-197
miR-198	gguccagaggggagauagg	435	miR-198
miR-199a	cccaguguucagacuaccguuc	436	miR-199a-1; miR-199a-2
miR-199a*	uacaguagucugcacauugguu	437	miR-199a-1; miR-199a-2; miR-199s; miR-199b
miR-199b	cccaguguuuagacuauucguuc	438	miR-199b
miR-200a	uaacacugucugguaaccgaugu	439	miR-200a
miR-200b	cucuaauacugccugguaaugaug	440	miR-200b
miR-200c	aaucacugccgguaaugaugga	441	miR-200c
miR-202	agagguauagggcaguggaaga	442	miR-202
miR-203	gugaaauguuuaggaccacuag	443	miR-203
miR-204	uucccuuugucauccuauugccu	444	miR-204
miR-205	uccuucuuuccaccggagucug	445	miR-205
miR-206	uggaauguaaggaugugugg	446	miR-206-1; miR-206-2
miR-208	auaagacgagcaaaaagcuugu	447	miR-208
miR-210	cugugcgugagacagcggcug	448	miR-210
miR-211	uucccuuugucauccuucgccu	449	miR-211
miR-212	uaacagucuccagucacggcc	450	miR-212
miR-213	accaucgaccguugauuguacc	451	miR-213
miR-214	acagcaggcacagacaggcag	452	miR-214
miR-215	augaccuauagaauugacagac	453	miR-215
miR-216	uaaucucagcuggcaacugug	454	miR-216
miR-217	uacugcaucaggaacugauuggau	455	miR-217
miR-218	uugugcuugaucuaaccaugu	456	miR-218-1; miR-218-2
miR-219	ugauuguccaaacgcauuucu	457	miR-219; miR-219-1; miR-219-2
miR-220	ccacaccguauucgacacuuu	458	miR-220
miR-221	agcuacauugucugcggguuuc	459	miR-221
miR-222	agcuacauucggcuacugggucuc	460	miR-222
miR-223	ugucaguuugucaaaauacccc	461	miR-223
miR-224	caagucacuagugguuccguuuu	462	miR-224
miR-296	agggccccccucaauccugu	463	miR-296
miR-299	ugguuuaccguccacauacau	464	miR-299
miR-301	cagugcaauaguauugucuaaagc	465	miR-301
miR-302a	uaagugcuuccauguuuugguga	466	miR-302a

<i>miR-302b*</i>	acuuuaacauggaagugcuuuu	467	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302b</i>	uaagugcuuccauguuuuaguag	468	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302c*</i>	uuuaacauggggguaccugcug	469	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302c</i>	uaagugcuuccauguuucagugg	470	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302d</i>	uaagugcuuccauguuugagugu	471	<i>miR-302d</i>
<i>miR-320</i>	aaaagcuggguugagagggcgaa	472	<i>miR-320</i>
<i>miR-321</i>	uaagccagggauuguggguuc	473	<i>miR-321</i>
<i>miR-323</i>	gcacauuacacggucgaccucu	474	<i>miR-323</i>
<i>miR-324-5p</i>	cgcauccccuagggcgauuggugu	475	<i>miR-324</i>
<i>miR-324-3p</i>	ccacugccccaggugcugcugg	476	<i>miR-324</i>
<i>miR-325</i>	ccuaguagguguccaguaagu	477	<i>miR-325</i>
<i>miR-326</i>	ccucuggggccuuccuccag	478	<i>miR-326</i>
<i>miR-328</i>	cuggcccucucugcccuuccgu	479	<i>miR-328</i>
<i>miR-330</i>	gcaaagcacacggccugcagaga	480	<i>miR-330</i>
<i>miR-331</i>	gccccugggcuauccuagaa	481	<i>miR-331</i>
<i>miR-335</i>	ucaagagcaauaacgaaaaaugu	482	<i>miR-335</i>
<i>miR-337</i>	uccagcuccuauaugaugccuuu	483	<i>miR-337</i>
<i>miR-338</i>	uccagcaucagugauuuuguuga	484	<i>miR-338</i>
<i>miR-339</i>	uccuguccuccaggagcuca	485	<i>miR-339</i>
<i>miR-340</i>	uccgucucaguuuuuuuagcc	486	<i>miR-340</i>
<i>miR-342</i>	ucucacacagaaucgcacccguc	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>	aaauugcacuuuagcaaugguga	490	<i>miR-367</i>
<i>miR-368</i>	acaauagaggaauuccacguuu	491	<i>miR-368</i>
<i>miR-369</i>	aaauaauacaugguugaucuuu	492	<i>miR-369</i>
<i>miR-370</i>	gccugcuggggguggaaccugg	493	<i>miR-370</i>
<i>miR-371</i>	gugccgcccaucuuuugagugu	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>	gaagugcuuccgauuuuggggugu	497	<i>miR-373</i>
<i>miR-374</i>	uuauaauacaaccugauagug	498	<i>miR-374</i>

La presente invención abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer de estómago, que comprenden medir el nivel de al menos miR-25 en una muestra de ensayo del sujeto y comparar el nivel de miR-25 en la muestra de ensayo con el nivel del correspondiente producto génico de miR en una muestra de control. Como se usa en la presente memoria un "sujeto" puede ser cualquier mamífero que tenga, o se sospeche que tiene cáncer de estómago. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer de estómago.

5

También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el al menos un producto génico de miR medido en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR es miR-21, miR-191 o miR-17-5p. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1.

15 También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-159-1 o miR-192. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-15a, miR-16-1, miR-182, miR-181, miR-30, miR-15a, miR-16-1, miR-15b, miR-16-2, miR-195, miR-34, miR-153, miR-21, miR-217, miR-205, miR-204, miR-211, miR-143, miR-96, miR-103, miR-107, miR-129, miR-9, miR-137, miR-217, miR-186.

15

20

25

Los cánceres sólidos pueden ser cualquier cáncer que surja de órganos y tejidos sólidos. Dichos cánceres se asocian normalmente con la formación y/o presencia de masas tumorales y pueden ser carcinomas, sarcomas y linfomas. Los ejemplos específicos de cánceres sólidos que pueden diagnosticarse por los métodos desvelados en la presente memoria incluyen, pero sin limitación, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de estómago (gástrico),

30

5 cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer bronquial, cáncer testicular, cáncer ovárico, cáncer uterino, cáncer peniano, melanoma y otros cánceres de la piel, cáncer de hígado, cáncer esofágico, cánceres de la cavidad oral y faringe (por ejemplo, cáncer de lengua, cáncer de boca), cánceres del sistema digestivo (por ejemplo, cáncer intestinal, cáncer de la vesícula biliar), cánceres de huesos y articulaciones, cánceres del sistema endocrino (por ejemplo, cáncer tiroideo), cáncer de cerebro, cáncer de ojo, cánceres del sistema urinario (por ejemplo, cáncer de riñón, cáncer de la vejiga urinaria), enfermedad de Hodgkin y linfoma no de Hodgkin. Los cánceres sólidos pueden no ser uno o más de cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer pancreático o cáncer gastrointestinal.

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

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

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

45 También se desvelan en el presente documento métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de colon y el al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-24-1, miR-29b-2, miR-20a, miR-10a, miR-32, miR-203, miR-106a, miR-17-Sp, miR-30c, miR-223, miR-126*, miR-128b, miR-21, miR-24-2, miR-99b prec, miR-155, miR-213, miR-150, miR-107, miR-191, miR-221, miR-9-3 y combinaciones de los mismos. Como alternativa el cáncer sólido puede ser cáncer de colon y el producto génico de miR puede no ser miR-159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de colon y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de colon y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de colon y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de colon y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

65 También se desvelan en el presente documento métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de pulmón y el producto génico de miR en una muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-205, miR-200b, miR-9-1, miR-210, miR-148, miR-141, miR-132, miR-215, miR-128b, let-7g, miR-16-2, miR-129-1/2 prec, miR-126*, miR-142-as, miR-30d, miR-30a-5p, miR-7-2, miR-199a-1, miR-127, miR-34a prec, miR-34a, miR-136, miR-202,

miR-196-2; miR-199a-2, let-7a-2, miR-124a-1, miR-149, miR-17-Sp, miR-196-1 prec, miR-10a, miR-99b prec, miR-196-1, miR-199b, miR-191, miR-195, miR-155 y combinaciones de los mismos.

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

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

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

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

55 También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR en la muestra de ensayo se selecciona del grupo que consiste en let-7d, miR-128a prec, miR-195, miR-203, let-7a-2 prec, miR-34a, miR-20a, miR-218-2, miR-29a, miR-25, miR-95, miR-197, miR-135-2, miR-187, miR-196-1, miR-148, miR-191, miR-21, let-7i, miR-198, miR-199a-2, miR-30c, miR-17-Sp, miR-92-2, miR-146, miR-181b-1 prec, miR-32, miR-206, miR-184 prec, miR-29a prec, miR-29b-2, miR-149, miR-181b-1, miR-196-1 prec, miR-93-1, miR-223, miR-16-1, miR-101-1, miR-124a-1, miR-26a-1, miR-214, miR-27a, miR-24-1, miR-106a, miR-199a-1 y combinaciones de los mismos. Como alternativa, el que el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR 159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301,

miR=142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de próstata y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

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

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

El nivel de al menos un producto génico de miR puede medirse en una muestra biológica (por ejemplo, células, tejidos) obtenida del sujeto. Por ejemplo, puede retirarse una muestra tisular (por ejemplo, de un tumor) de un sujeto que se sospecha que tiene un cáncer sólido por técnicas de biopsia convencionales. Como alternativa, puede retirarse una muestra sanguínea del sujeto, y pueden aislarse células sanguíneas (por ejemplo, glóbulos blancos) para extracción de ADN por técnicas convencionales. La muestra de sangre o tejido se obtiene preferentemente del sujeto antes del inicio de la radioterapia, quimioterapia u otro tratamiento terapéutico. Puede obtenerse una muestra de tejido o sangre de control correspondiente de tejidos no afectados del sujeto, de un individuo humano normal o población de individuos normales, o de células cultivadas correspondientes a la mayoría de las células en la muestra del sujeto. La muestra de tejido o sangre de control se procesa después junto con la muestra del sujeto, de modo que los niveles de producto génico de miR producido a partir de un gen de miR dado en células de la muestra del sujeto puede compararse con los niveles de producto génico de miR correspondientes de células de la muestra de control. Puede usarse también un patrón de expresión de miR de referencia para la muestra biológica como un control.

Una alteración (por ejemplo, un aumento o reducción) del nivel de un producto génico de miR en la muestra obtenida del sujeto, en relación con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en la muestra de control, es indicativa de la presencia de un cáncer sólido en el sujeto. El nivel del al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser mayor que el nivel del producto génico de miR correspondiente en la muestra de control (es decir, la expresión del producto génico de miR está "regulada positivamente"). Como se usa en la presente memoria, la expresión de un producto génico de miR está "regulada positivamente" cuando la cantidad de producto génico de miR en una muestra celular o tisular de un sujeto es mayor que la cantidad del mismo producto génico en una muestra celular o tisular de control. El nivel del al menos un producto génico de miR en una muestra de ensayo puede ser menor que el nivel del producto génico de miR correspondiente en la muestra de control (es decir, la expresión del producto génico de miR está "regulada negativamente"). Como se usa en la presente memoria, la expresión de un gen de miR está "regulada negativamente" cuando la cantidad de producto génico de miR producida de ese gen en una muestra celular o tisular de un sujeto es menor que la cantidad producida del mismo gen en una muestra celular o tisular de control. La expresión génica de miR relativa en las muestras de control y normales puede determinarse con respecto a uno o más patrones de expresión de ARN. Los patrones pueden comprender, por ejemplo, un nivel de expresión génica de miR cero, el nivel de expresión génica de miR en una línea celular convencional, el nivel de expresión génica de miR en tejidos no afectados del sujeto, o el nivel medio de expresión génica de miR previamente obtenido para una población de controles humanos normales.

El nivel de un producto génico de miR en una muestra puede medirse usando cualquier técnica que sea adecuada para detectar los niveles de expresión de ARN en una muestra biológica. Se conocen bien por los expertos en la materia técnicas adecuadas (por ejemplo, análisis de transferencia de Northern, RT-PCR, hibridación *in situ*) para determinar los niveles de expresión de ARN en una muestra biológica (por ejemplo, células, tejidos). El nivel de al menos un producto génico de miR puede detectarse usando análisis de transferencia de Northern. Por ejemplo, puede purificarse ARN celular total de células por homogeneización en presencia de tampón de extracción de ácidos

nucleicos, seguido de centrifugación. Los ácidos nucleicos se precipitan, y el ADN se retira por tratamiento con DNasa y precipitación. Las moléculas de ARN se separan después por electroforesis en gel en geles de agarosa de acuerdo con técnicas convencionales, y se transfieren a filtros de nitrocelulosa. Después se inmoviliza el ARN en los filtros por calentamiento. Se consigue detección y cuantificación de ARN específico usando sondas de ADN o ARN marcadas de forma apropiada complementarias del ARN en cuestión. Véase, por ejemplo, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, J. Sambrook *et al.*, eds., 2ª edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Capítulo 7.

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

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

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

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

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

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

En algunos casos, puede ser deseable determinar simultáneamente el nivel de expresión de una pluralidad de productos génicos de miR diferentes en una muestra. En otros casos, puede ser deseable determinar el nivel de expresión de los transcritos de todos los genes de miR conocidos correlacionados con cáncer. La evaluación de los niveles de expresión específicos de cáncer para cientos de genes o productos génicos de miR consume tiempo y requiere una gran cantidad de ARN total (por ejemplo, al menos 20 μg para cada transferencia de Northern) y técnicas autorradiográficas que requieren isótopos radiactivos.

Para superar estas limitaciones, puede construirse una oligobiblioteca, en formato de microplaca (es decir, una

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

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

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

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

La micromatriz puede fabricarse usando técnicas conocidas en este campo. Por ejemplo, los oligonucleótidos sonda de una longitud apropiada, por ejemplo, 40 nucleótidos, se modifican con amina 5' en la posición C6 y se imprimen usando sistemas de micromatrices disponibles en el mercado, por ejemplo, el Microarrayer GeneMachine OmniGrid™ 100 y portaobjetos activados Amersham CodeLink™. El oligómero de ADNc marcado correspondiente a los ARN diana se prepara por transcripción inversa del ARN diana con cebador marcado. Después de la síntesis de primera cadena, los híbridos de ARN/ADN se desnaturalizan para degradar los moldes de ARN. Los ADNc diana marcados preparados de este modo se hibridan después con la microplaca de micromatriz en condiciones de hibridación, por ejemplo, SSPE 6X/formamida 30 % a 25 °C durante 18 horas, seguido de lavado en TNT 0,75X (Tris HCl/NaCl/Tween 20) a 37 °C durante 40 minutos. En las posiciones de la serie en las que el ADN sonda inmovilizado reconoce un ADNc diana complementario en la muestra, se produce hibridación. El ADNc diana marcado marca la posición exacta en la serie donde se produce unión, permitiendo la detección y cuantificación automática. El resultado consiste en una lista de acontecimientos de hibridación, que indican la abundancia relativa de secuencias de ADNc específicas, y por lo tanto la abundancia relativa de los miR complementarios correspondientes, en la muestra del paciente. El oligómero de ADNc marcado puede ser un ADNc marcado con biotina, preparado a partir

de un cebador marcado con biotina. La micromatriz se procesa después por dirección directa de los transcritos que contienen biotina usando, por ejemplo, conjugado de estreptavidina-Alexa 647, y se explora utilizando métodos de exploración convencionales. Las intensidades de la imagen de cada punto en la serie son proporcionales a la abundancia del miR correspondiente en la muestra del paciente.

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

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

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

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

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

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

En consecuencia, la presente divulgación abarca métodos para inhibir la tumorigénesis en un sujeto que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado positivamente, regulado negativamente) en las células cancerosas del sujeto. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado negativamente en las células cancerosas (por ejemplo, miR-145, miR-155, miR-218-2), el método comprende administrar una cantidad eficaz del al menos un producto génico de miR aislado o una variante aislada o fragmento biológicamente activo de los mismos, de modo que se inhiba la
60 proliferación de células cancerosas en el sujeto. El producto génico de miR aislado que se administra puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR 159-1 o miR-192. Como

alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR=182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-9 y miR-137. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-145, miR-21, miR-155, miR-10b, miR-125b-1, miR-125b-2, let7a-2, let7a-3, let-7d, miR-122a, miR-191, miR-206, miR-210, let-7i, miR-009-1 (miR131-1), miR-34 (miR-170), miR-102 (miR-29b), miR-123 (miR-126), miR-140-as, miR-125a, miR-194, miR-204, miR-213, let-7f-2, miR-101, miR-128b, miR-136, miR-143, miR-149, miR-191, miR-196-1, miR-196-2, miR-202, miR-103-1 o miR-30c. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-125b-1, let-7a-2, let-7i, miR-100, let-7g, miR-31, miR-32a-1, miR-33b, miR-34a-2, miR-101-1, miR-135-1, miR-142as, miR-142s, miR-144, miR-301, miR-29c, miR-30c, miR-106a o miR-29b-1.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Yang *et al.*).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

65

- Como alternativa, puede administrarse al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto que inhibe la expresión de miR. Como se usa en la presente memoria, “inhibir la expresión de miR” significa que la producción del precursor y/o la forma madura, activa del producto génico de miR después del tratamiento es menor que la cantidad producida antes del tratamiento. Un experto en la materia puede determinar fácilmente si se ha inhibido la expresión
- 5 de miR en una célula cancerosa, usando, por ejemplo, las técnicas para determinar el nivel de transcrito de miR analizadas anteriormente para el método de diagnóstico. La inhibición puede producirse al nivel de la expresión génica (es decir, inhibiendo la transcripción de un gen de miR que codifica el producto génico de miR) o el nivel de procesamiento (por ejemplo, inhibiendo el procesamiento de un precursor de miR en un miR activo, maduro).
- 10 Como se usa en la presente memoria, una “cantidad eficaz” de un compuesto que inhibe la expresión de miR es una cantidad suficiente para inhibir la proliferación de una célula cancerosa en un sujeto que padece un cáncer (por ejemplo, un cáncer sólido). Un experto en la materia puede determinar fácilmente una cantidad eficaz de un compuesto de inhibición de la expresión de miR para administrar a un sujeto dado, teniendo en cuenta factores tales como la talla y el peso del sujeto; el alcance de la penetración de la enfermedad; la edad, salud y sexo del sujeto; la
- 15 vía de administración; y si la administración es regional o sistémica.
- Por ejemplo, una cantidad eficaz del compuesto de inhibición de la expresión puede basarse en el peso aproximado de una masa tumoral para tratar, como se describe en la presente memoria. Una cantidad eficaz de un compuesto que inhibe la expresión de miR también puede basarse en el peso corporal aproximado o estimado de un sujeto para
- 20 tratar, como se describen en la presente memoria.
- Un experto en la materia también puede determinar fácilmente un régimen de dosificación apropiado para administrar un compuesto que inhibe la expresión de miR a un sujeto dado.
- 25 Los compuesto adecuados para inhibir la expresión génica de miR incluyen ARN bicatenario (tal como ARN de interferencia corto o pequeño o “ARNip”), ácidos nucleicos antisentido y moléculas de ARN enzimático, tales como ribozimas. Cada uno de estos compuestos puede dirigirse a un producto génico de miR dado e interferir con la expresión (por ejemplo, inhibir la traducción, inducir la escisión o destrucción) del producto génico de miR diana.
- 30 Por ejemplo, la expresión de un gen de miR dado puede inhibirse induciendo la interferencia de ARN del gen de miR con una molécula de ARN bicatenario (“ARNbc”) aislada que tiene al menos 90 %, por ejemplo al menos 95 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de homología de secuencia con al menos una parte del producto génico de miR. La molécula de ARNbc puede ser un “ARN de interferencia corto o pequeño” o “ARNip”.
- 35 El ARNip útil en los presentes métodos comprende ARN bicatenario corto de aproximadamente 17 nucleótidos a aproximadamente 29 nucleótidos de longitud, preferentemente de aproximadamente 19 a aproximadamente 25 nucleótidos de longitud. El ARNip comprende una cadena de ARN con sentido y una cadena de ARN antisentido complementaria, hibridadas entre sí por interacción de formación de pares de bases de Watson-Crick convencionales (en lo sucesivo en la presente memoria “con formación de pares de bases”). La cadena con sentido
- 40 comprende una secuencia de ácido nucleico que es sustancialmente idéntica a una secuencia de ácido nucleico contenida dentro del producto génico de miR diana.
- Como se usa en la presente memoria, una secuencia de ácido nucleico en un ARNip que es “sustancialmente idéntico” a una secuencia diana contenida dentro del ARNm diana es una secuencia de ácido nucleico que es
- 45 idéntica a la secuencia diana, o que difiere de la secuencia diana en uno o dos nucleótidos. Las cadenas con sentido y antisentido del ARNip pueden comprender dos moléculas de ARN monocatenarias, complementarias, o pueden comprender una única molécula en la que dos partes complementarias forman pares de bases y están ligadas covalentemente por un área de “horquilla” monocatenaria.
- 50 El ARNip también puede ser ARN alterado que difiere del ARN de origen natural por la adición, delección, sustitución y/o alteración de uno o más nucleótidos. Dichas alteraciones pueden incluir la adición de material no nucleotídico, tal como en el extremo o los extremos del ARNip o en uno o más nucleótidos internos del ARNip, o modificaciones que hacen al ARNip resistente a la digestión por nucleasa, o la sustitución de uno o más nucleótidos en el ARNip con desoxirribonucleótidos.
- 55 Una o ambas cadenas del ARNip también puede comprender un saliente 3'. Como se usa en la presente memoria, un “saliente 3'” se refiere a al menos un nucleótido no emparejado que se extiende desde el extremo 3' de una cadena de ARN bicatenaria. Por lo tanto, el ARNip puede comprender al menos un saliente 3' de 1 a aproximadamente 6 nucleótidos (que incluye ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos) de longitud, de 1 a
- 60 aproximadamente 5 nucleótidos de longitud, de 1 a aproximadamente 4 nucleótidos de longitud, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 nucleótidos de longitud. El saliente 3' puede estar presente en ambas cadenas del ARNip, y es de 2 nucleótidos de longitud. Por ejemplo, cada cadena del ARNip puede comprender salientes 3' de ácido ditimidílico (“TT”) o ácido diuridílico (“uu”).
- 65 El ARNip puede producirse de forma química o biológica, o puede expresarse a partir de un plásmido recombinante o vector viral, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR aislados. Se describen métodos

ejemplares para producir y ensayar moléculas de ARNbc o ARNip en la Solicitud de Patente Publicada de Estados Unidos N° 2002/0173478 de Gewirtz y en la Solicitud de Patente Publicada de Estados Unidos N° 2004/0018176 de Reich *et al.*

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

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

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

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

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

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

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

El tamaño de una masa tumoral puede determinarse por observación visual directa, o por métodos de formación de imágenes de diagnóstico, tales como rayos X, formación de imágenes por resonancia magnética, ultrasonidos y escintigrafía. Pueden emplearse métodos de formación de imágenes de diagnóstico usados para determinar el
60 tamaño de la masa tumoral con o sin agentes de contraste, como se conoce en la técnica. El tamaño de una masa tumoral también puede determinarse por medios físicos, tales como palpación de la masa tisular o medición de la masa tisular con un instrumento de medición, tal como un calibrador.

Los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR pueden administrarse a un
65 sujeto por cualquier medio adecuado para suministrar estos compuestos a células cancerosas del sujeto. Por ejemplo, los productos génicos de miR o compuestos de inhibición de la expresión de miR pueden administrarse por

métodos adecuados para transfectar células del sujeto con estos compuestos, o con ácidos nucleicos que comprenden secuencias que codifican estos compuestos. Las células se transfectan con un vector plasmídico o viral que comprende secuencias que codifican al menos un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR.

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

10 Por ejemplo, las células pueden transfectarse con un compuesto de transferencia liposómico, por ejemplo, DOTAP (N-[1-(2,3-dioleoiloxi)propil]-N,N,N-trimetil-amonio metilsulfato, Boehringer-Mannheim) o un equivalente, tal como LIPOFECTINA. La cantidad de ácido nucleico usada no es crítica; pueden conseguirse resultados aceptables con 0,1-100 microgramos de ácido nucleico/10⁵ células. Por ejemplo, puede usarse una relación de aproximadamente 15 0,5 microgramos de vector plasmídico en 3 microgramos de DOTAP por cada 10⁵ células.

También puede administrarse un producto génico de miR o compuesto de inhibición de la expresión génica de miR a un sujeto por cualquier vía de administración entérica o parenteral adecuada. Las vías de administración entéricas adecuadas para los presentes métodos incluyen, por ejemplo, suministro oral, rectal o intranasal. Las vías de 20 administración parenterales adecuadas incluyen, por ejemplo, administración intravascular (por ejemplo, inyección de embolada intravenosa, infusión intravenosa, inyección de embolada intraarterial, infusión intraarterial e instilación por catéter en la vasculatura); inyección peri e intratísular (por ejemplo, inyección peritumoral e intratumoral, inyección intrarretinal o inyección subretinal); inyección o deposición subcutánea, incluyendo infusión subcutánea (tal como por bombas osmóticas); aplicación directa al tejido de interés, por ejemplo por un catéter y otro dispositivo de 25 colocación (por ejemplo, un gránulo retinal o un supositorio o un implante que comprenda un material poroso, no poroso o gelatinoso); e inhalación. Son vías de administración particularmente adecuadas inyección, infusión e inyección directa en el tumor.

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

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

40 Se usan liposomas para suministrar un producto génico de miR o compuestos de inhibición de la expresión génica de miR (o ácidos nucleicos que comprenden secuencias que los codifican) a un sujeto. Los liposomas también pueden aumentar la semivida en sangre de los productos génicos o ácidos nucleicos. Pueden formarse liposomas adecuados a partir de lípidos formadores de vesículas convencionales, que generalmente incluyen fosfolípidos neutros o cargados negativamente y un esteroles, tal como colesterol. La selección de lípidos generalmente se guía 45 por la consideración de factores, tales como el tamaño de liposoma deseado y la semivida de los liposomas en el torrente sanguíneo. Se conocen diversos métodos para preparar liposomas, por ejemplo, como se describe en Szoka *et al.* (1980), Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9: 467; y Patentes de Estados Unidos N° 4.235.871, 4.501.728, 4.837.028 y 5.019.369.

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

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

60 Los restos inhibidores de la opsonización para su uso en la preparación de los liposomas son normalmente polímeros hidrófilos grandes que se unen a la membrana del liposoma. Como se usa en la presente memoria, un resto inhibidor de opsonización está "unido" a una membrana del liposoma cuando está química o físicamente unido a la membrana, por ejemplo, por la intercalación de un anclaje soluble en lípidos en la membrana en sí misma, o por unión directamente con grupos activos de lípidos de membrana. Estos polímeros hidrófilos inhibidores de opsonización forman una capa superficial protectora que reduce significativamente la captación de los liposomas por 65 el MMS y RES; por ejemplo, como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.920.016.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ejemplificación

Los siguientes Materiales y Métodos se usaron en los Ejemplos:

15

Muestras

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

25

Micromatrices de microARN

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

40

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

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

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

Análisis computacional

Se analizaron imágenes de micromatrices usando GenePix Pro (Axon). De los valores medios de los puntos repetidos de cada miARN se restó el fondo, se normalizaron y se sometieron a análisis adicional. Se realizó normalización usando un método de normalización de mediana por microplaca, usando la mediana de la serie como una referencia. Finalmente, se seleccionaron los miARN medidos como presentes en al menos la menor de la dos clases en un conjunto de datos. Las ausencias tuvieron un umbral de 4,5 antes del análisis estadístico. Este nivel es el nivel de intensidad mínimo medio detectado en los experimentos. La nomenclatura de microARN fue de acuerdo con el Buscador del Genoma (www.genome.ucsc.edu) y la base de datos de microARN en el Centro Sanger (Griffiths-Jones, S., Nucleic Acids Res 32: D109-11(2004)); en caso de discrepancias los inventores siguieron la base de datos de microARN. Se identificaron microARN expresados diferencialmente usando el procedimiento de ensayo de t dentro de análisis significativo de micromatrices (SAM) (Tusher, V. G., *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 98:

50

5116-21 (2001). SAM calcula una puntuación para cada gen basándose en el cambio de la expresión en relación con la desviación típica de todas las mediciones. Dentro de SAM, se usó el ensayo de t. Los distintivos de microARN se determinaron aplicando el método de centroides hundidos más cercanos. Este método identifica un subgrupo de genes que caracteriza mejor cada cáncer sólido de su homólogo normal respectivo. Se calculó el error de predicción por medio de validación cruzada 10 veces, y para cada cáncer se obtuvo el distintivo de miR que daba como resultado el error mínimo de predicción. Se realizó un ensayo de nueva toma de muestras por análisis de permutación aleatoria para calcular el p valor del distintivo compartido.

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

Estadística

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

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

Resultados

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

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

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

miR	ID	Media Cáncer	de Media Normal	Estadística ensayo	de p sin procesar	p Aj
miR-21	Nº 47	11,538663	9,648338	7,861136	2,00E-06	2,00E-06
miR-141	Nº 137	9,024091	7,905398	6,238014	2,00E-06	2,00E-06
miR-212	Nº 208	13,540651	14,33617	-6-57942	2,00E-06	2,00E-06
miR-128u prec	Nº 113	12,32588	13,522675	-6,76388	2,00E-06	2,00E-06
miR-138-2	Nº 133	11,739557	13,144746	-7,01204	2,00E-06	2,00E-06
miR-218-2	Nº 221	11,279787	12,539366	-7,40557	2,00E-06	2,00E-06
miR-23b	Nº 51	14,169748	15,949736	-8,37744	2,00E-06	2,00E-06
miR-195	Nº 184	10,343991	9,172985	5,763262	2,00E-06	1,00E-05
miR-212 prec	Nº 209	12,686966	13,661763	-5,83132	4,00E-06	1,00E-05

ES 2 557 411 T3

miR-29b-2	Nº 95	11,27556	9,940731	5,660854	2,00E-06	1,40E-05
miR-199a-1	Nº 191	10,032008	8,920183	5,528849	2,00E-06	3,00E-05
miR-9-3	Nº 28	11,461922	12,570412	-5,43006	2,00E-06	4,60E-05
miR-128a	Nº 114	13,024235	13,856624	-5,35102	6,00E-06	7,20E-05
let-7a-1	Nº 1	12,616569	13,455246	-5,35346	2,00E-06	7,20E-05
let-7b	Nº 5	13,42636	14,068521	-5,17701	1,00E-05	0,000146
miR-16-2	Nº 39	10,460707	9,305895	5,048375	4,00E-06	0,000224
miR-199a-2	Nº 192	9,714225	8,759237	4,862553	1,00E-05	0,000494
miR-152 prec	Nº 151	11,388676	12,357529	-4,83716	2,00E-06	0,00053
miR-16-1	Nº 38	10,443169	9,338182	4,755238	1,00E-05	0,00071
miR-30d	Nº 72	13,982017	14,775206	-4,5707	1,50E-05	0,001476
miR-34n	Nº 78	10,675566	9,63769	4,467301	2,60E-05	0,00217
miR-17-5p	Nº 41	11,567244	10,281468	4,341834	3,80E-05	0,0034
miR-128b	Nº 115	10,930395	9,947746	4,304764	3,80E-05	0,03912
miR-20a	Nº 46	11,409852	10,19284	4,304678	3,20E-05	0,003912
miR-181b-1 prec	Nº 211	9,577504	8,804394	4,285968	4,580E-05	0,004126
miR-132	Nº 121	9,599947	8,775966	4,254737	5,60E-05	0,004126
miR-200b	Nº 195	9,475221	8,527243	4,221511	4,00E-05	0,0052
let-7a-3	Nº 4	10,436089	9,511546	4,08952	0,0000104	0,008242
miR-138-1	Nº 132	8,299613	9,200253	-4,05204	5,60E-05	0,00931
miR-29c	Nº 65	11,291005	10,326912	4,019385	0,000144	0,010312
miR-29a	Nº 62	11,381359	10,461075	4,013697	0,00015	0,010398
miR-96	Nº 86	11,37218	12,136636	-3,94825	0,000138	0,012962
miR-191	Nº 177	13,498207	12,729872	3,817228	0,000158	0,02015
miR-27a	Nº 59	10,399338	9,548582	3,715048	0,000344	0,028096
let-7g	Nº 15	10,819688	10,01157	3,653239	0,000426	0,033874
miR-9-1	Nº 24	10,102819	9,212988	3,651886	0,000388	0,033874
miR-125a	Nº 107	10,960998	10,005312	3,651356	0,000452	0,033874
miR-95	Nº 84	9,435733	8,751331	3,59406	0,000478	0,039594
miR-155	Nº 157	12,505359	13,231221	-3,58369	0,000614	0,040394
miR-199b	Nº 194	9,755066	9,082751	3,55934	0,000588	0,04314
miR-24-2	Nº 54	12,611696	11,612557	3,518774	0,00087	0,048278
let-7c	Nº 11	12,197795	13,055093	-3,51589	0,00054	0,048354
miR-92-1	Nº 81	16,081074	16,592426	-3,50446	0,000928	0,49828

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

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

miR	ID	Valor d.	devtip	Valor p	Valor q	Factor de R
miR-21	Nº 47	3,156	0,24	0	0	2,593
miR-23b	Nº 51	3,117	0,212	0	0	0,443
miR-138-2	Nº 133	-2,514	0,2	0	0	0,402
miR-218-2	Nº 221	-2,383	0,17	0	0	0,384
miR-29b-2	Nº 95	2,246	0,236	0	0	1,868
miR-128a prec	Nº 113	-2,235	0,177	0	0	0,368
miR-195	Nº 184	2,085	0,203	0	0	1,695
miR-141	Nº 137	2,08	0,179	0	0	2,459
miR-199a-1	Nº 191	1,987	0,201	0	0	1,945
miR-9-3	Nº 28	-1,97	0,204	0	0	0,433
miR-16-2	Nº 39	1,966	0,229	0	0	1,788
miR-17-5p	Nº 41	1,964	0,296	0	0	0,725

ES 2 557 411 T3

miR-20a	Nº 46	1,898	0,283	0	0	0,969
miR-16-1	Nº 38	1,87	0,232	0	0	1,447
miR-212	Nº 209	-1,854	0,167	0	0	0,509
prec						
miR-34a	Nº 78	1,756	0,232	0	0	1,219
miR-152	Nº 151	-1734	0,2	0	0	0,46
prec						
miR-199a-2	Nº 192	1,721	0,196	0	0	1,838
miR-128b	Nº 115	1,674	0,238	0	0	1,266
miR-212	Nº 208	-1,659	0,121	0	0	0,627
let-7a-1	Nº 1	-1,628	0,157	0	0	0,461
miR-200b	Nº 195	1,626	0,225	0	0	1,432
miR-128a	Nº 114	-1,619	0,156	0	0	0,511
miR-29c	Nº 65	1,611	0,24	0	0	1,225
let-7a-3	Nº 4	1,581	0,226	0	0	1,109
miR-29a	Nº 62	1,565	0,229	0	0	1,706
miR-24-2	Nº 54	1,555	0,284	0	0	0,831
miR-138-1	Nº 132	-1,551	0,222	0	0	0,432
miR-125a	Nº 107	1,541	0,262	0	0	1,164
miR-106a	Nº 99	1,514	0,275	0	0	0,952
miR-132	Nº 121	1,496	0,192	0	0	2,158
miR-30d	Nº 72	-1,491	0,174	0	0	0,424
miR-9-1	Nº 24	1,478	0,244	0	0	0,763
miR-27a	Nº 59	1,448	0,229	0	0	1,174
miR-181b-1	Nº 21	1,435	0,18	0	0	1,525
prec						
let-7g	Nº 15	1,394	0,221	0	0	1,072
miR-96	Nº 86	-1,384	0,194	0	0	0,519
miR-191	Nº 177	1,372	0,201	0	0	1,165
miR-93-1	Nº 83	1,363	0,266	0	0	0,775
miR-136	Nº 130	-1,355	0,267	0	0	0,364
miR-205	Nº 201	1,343	0,309	0	0	1,281
miR-185	Nº 170	1,287	0,222	0,001	0,001	0,609
miR-125b-1	Nº 109	1,262	0,283	0,001	0,001	1,215
miR-10a	Nº 30	1,252	0,227	0,001	0,001	1,643
miR-95	Nº 84	1,247	0,19	0,001	0,001	1,509
miR-199b	Nº 194	1,228	0,189	0,001	0,001	1,246
miR-10b	Nº 32	1,219	0,232	0,002	0,001	1,342
let-7i	Nº 10	1,216	0,203	0,002	0,001	1,026
miR-210	Nº 205	1,213	0,237	0,002	0,001	1,088

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

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

miR	ID	Puntuación de cáncer sólido	Puntuación de tejidos normales
miR-21	Nº 47	0,0801	-0,2643
miR-138-2	Nº 133	-0,055	0,1815
miR-218-2	Nº 221	-0,0535	0,1765
miR-23b	Nº 51	-0,0516	0,17
miR-128a prec	Nº 113	-0,0498	0,1642
miR-29b-2	Nº 95	0,0457	-0,1508
miR-195	Nº 184	0,0404	-0,1333
miR-17-5p	Nº 41	0,0383	-0,1263

ES 2 557 411 T3

miR-9-3	Nº 28	-0,0357	0,1176
miR-212 prec	Nº 209	-0,0342	0,1129
miR-20a	Nº 46	0,0322	-0,1061
miR-141	Nº 191	0,0322	-0,1061
miR-199a-1	Nº 39	0,0319	-0,1053
miR-16-2	Nº 151	0,0315	-0,1037
miR-152 prec	Nº 8	-0,0283	0,0933
miR-16-1	Nº 78	0,0277	-0,0913
miR-34a	Nº 208	0,0269	-0,0886
miR-212	Nº 1	-0,0265	0,0875
let-7a-1	Nº 114	-0,0264	0,0872
miR-128a	Nº 15	-0,0259	0,0855
miR-128b	Nº 4	0,0254	-0,0839
miR-24-2	Nº 65	0,0244	-0,0803
miR-29e	Nº 192	0,0224	-0,0738
miR-199a-2	Nº 4	0,0223	-0,0736
let-7a-3	Nº 177	0,0221	-0,073
miR-191	Nº 107	0,0188	-0,062
miR-125a	Nº 72	0,0186	-0,0613
miR-30d	Nº 62	-0,0185	0,061
miR-29a	Nº 99	0,0184	-0,0608
miR-106a	Nº 83	0,0177	-0,0584
miR-93-1	Nº 195	0,0163	-0,0537
miR-200b	Nº 15	0,0159	-0,0524
let-7g	Nº 59	0,0158	-0,0521
miR-27a	Nº 86	0,0157	-0,0518
miR-96	Nº 5	-0,0156	0,0514
let-7b	Nº 132	-0,0152	0,0501
miR-138-1	Nº 24	-0,0151	0,0499
miR-9-1	Nº 211	0,0136	-0,0448
miR-181b-1 prec	Nº 157	0,0134	-0,0442
miR-155	Nº 121	-0,0128	0,0423
miR-132	Nº 130	0,0127	-0,0418
miR-136	Nº 10	-0,0112	0,037
let-7i	Nº 205	0,0103	-0,034
miR-210	Nº 205	0,0074	-0,0245
miR-205	Nº 201	0,0073	-0,024
*. miR-185		0,0071	-0,0234
miR-24-1	Nº 52	0,007	-0,023
miR-199b	Nº 194	0,0064	-0,021
miR-125b-1	Nº 109	0,006	-0,0199
miR-206 prec	Nº 203	-0,005	0,0166
miR-10a	Nº 30	0,0045	-0,015
miR-95	Nº 84	0,0045	-0,0149
let-7c	Nº 11	-0,0039	0,013
miR-124a-3	Nº 106	-0,0028	0,0091
miR-10b	Nº 32	0,002	-0,0066
miR-185 prec.	Nº 171	-0,0014	0,0047
miR-92-1	Nº 81	-2,00E-04	5,00E-04

* - T=1,5 y error de clasificación equivocada = 0,176. Treinta y seis miR sobreexpresados en cáncer están indicados por puntuaciones de cáncer positivas; 21 miR regulados negativamente están indicados por puntuaciones de cáncer negativas.

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

humanos.

Resultados

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

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

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

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

Tabla 7. microARN desregulados en cánceres comunes sólidos*.

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

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

20

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-21 (Nº 47)		0,0331
miR-29b-2 (Nº 95)		-0,4364
miR-146 (Nº 144)		0,0263
miR-125b-2 (Nº 111)		-0,2391
miR-125b-1 (Nº 109)		-0,0174
miR-10b (Nº 32)		0,2286
miR-145 (Nº 143)		-0,0169
miR-181a (Nº 158)		0,222
miR-140 (Nº 136)		-0,0164
miR-213 (Nº 160)		-0,0158
miR-29a prec (Nº 63)		0,0153
miR-181b-1 (Nº 210)		-0,201
miR-199b (Nº 194)		-0,0122
miR-29b-1 (Nº 64)		0,0116
		-0,1527
		0,0109
		-0,1441
		0,0098
		-0,1284
		0,0089
		-0,1172
		0,0084
		-0,1111

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

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

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

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

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-21 (Nº 47)	0,175	-0,175
miR-205 (Nº 201)	0,1317	-0,1317
miR-200b (Nº 195)	0,1127	-0,1127
miR-9-1 (Nº 24)	0,1014	-0,1014
miR-210 (Nº 205)	0,0994	-0,0994
miR-148 (Nº 146)	0,0737	-0,0737

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

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-103-2 (Nº 96)	0,4746	-1,582
miR-103-1 (Nº 97)	0,4089	-1,3631
miR-24-2 (Nº 54)	0,4059	-1,3529
miR-107 (Nº 100)	0,3701	-1,2336
miR-100 (Nº 91)	0,3546	-1,182
miR-125b-2 (Nº 111)	0,3147	-1,0489
miR-125b-1 (Nº 109)	0,3071	-1,0237
miR-24-1 (Nº 52)	0,2846	-0,9488
miR-191 (Nº 177)	0,2661	-0,887
miR-23a (Nº 50)	0,2586	-0,8619
miR-26a-1 (Nº 56)	0,2081	-0,6937
miR-125a (Nº 107)	0,1932	-0,644
miR-130a (Nº 120)	0,1891	-0,6303
miR-26b (Nº 58)	0,1861	-0,6203
miR-145 (Nº 143)	0,1847	-0,6158
miR-221 (Nº 224)	0,177	-0,59
miR-126* (Nº 102)	0,1732	-0,5772

miR-16-2 (Nº 39)	0,1698	-0,5659
miR-146 (Nº 144)	0,1656	-0,552
miR-214 (Nº 212)	0,1642	-0,5472
miR-99b (Nº 89)	0,1636	-0,5454
miR-128b (Nº 115)	0,1536	-0,512
miR-155 (Nº 157)	-0,1529	0,5098
miR-29b-2 (Nº 95)	0,1487	-0,4956
miR-29a (Nº 62)	0,1454	-0,4848
miR-25 (Nº 55)	0,1432	-0,4775
miR-16-1 (Nº 38)	0,1424	-0,4746
miR-99a (Nº 90)	0,1374	-0,4581
miR-224 (Nº 228)	0,1365	-0,4549
miR-30d (Nº 72)	0,1301	-0,4336
miR-92-2 (Nº 82)	0,116	-0,3865
miR-199a-1 (Nº 191)	0,1158	-0,3861
miR-223 (Nº 227)	0,1141	-0,3803
miR-29c (Nº 65)	0,113	-0,3768
miR-30b (Nº 68)	0,1008	-0,3361
miR-129-112 (Nº 117)	0,1001	-0,3337
miR-197 (Nº 189)	0,0975	-0,325
miR-17-5p (Nº 41)	0,0955	-0,3185
miR-30c (Nº 70)	0,0948	-0,316
miR-7-1 (Nº 19)	0,0933	-0,311
miRs-93-1 (Nº 83)	0,0918	-0,3061
miR-140 (Nº 136)	0,0904	-0,3015
miR-30a-5p (Nº 66)	0,077	-0,2568
miRs-132 (Nº 121)	0,0654	-0,2179
miR-181b-1 (Nº 210)	0,0576	-0,1918
miR-152 prec (Nº 151)	-0,0477	0,1591
miR-23b (Nº 51)	0,0469	-0,1562
miR-20a (Nº 46)	0,0452	-0,1507
miRs-222 (Nº 225)	0,0416	-0,1385
miR-21a (Nº 59)	0,0405	-0,1351
miRs-92-1 (Nº 81)	0,0332	-0,1106
miRs-21 (Nº 47)	0,0288	-0,0959
miR-129-112 prec (Nº 118)	0,0282	-0,0939
miR-150 (Nº 148)	0,0173	-0,0578
miR-32 (Nº 75)	0,0167	-0,0558
miR-106a (Nº 99)	0,0142	-0,0473
miR-29b-1 (Nº 64)	0,0084	-0,028

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
let-7d (Nº 8)	0,0528	-0,4227
miR-128a prec (Nº 113)	-0,0412	0,3298
miR-195 (Nº 184)	0,04	-0,3199
miR-203 (Nº 197)	0,0356	-0,2851
let-7a-2 prec (Nº 2)	-0,0313	0,2504
miR-34a (Nº 78)	0,0303	-0,2428
miR-20a (Nº 46)	0,029	-0,2319
miR-218-2 (Nº 221)	-0,0252	0,2018

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

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-223 (Nº 227)	0,1896	-0,1806
miR-21 (Nº 47)	0,1872	-0,1783
miR-218-2 (Nº 221)	-0,1552	0,1478
miR-103-2 (Nº 96)	0,1206	-0,1148
miR-92-2 (Nº 82)	0,1142	-0,1088
miR-25 (Nº 55)	0,1097	-0,1045
miR-136 (Nº 130)	-0,1097	0,1045
miR-191 (Nº 177)	0,0946	-0,0901
miR-221 (Nº 224)	0,0919	-0,0876
miR-125b-2 (Nº 111)	0,0913	-0,0869
miR-103-1 (Nº 97)	0,0837	-0,0797
miR-214 (Nº 212)	0,0749	-0,0713
miR-222 (Nº 225)	0,0749	-0,0713
miR-212 prec (Nº 209)	-0,054	0,0514
miR-125b-1 (Nº 109)	0,0528	-0,0503
miR-100 (Nº 91)	0,0526	-0,0501
miR-107 (Nº 100)	0,0388	-0,0369
miR-92-1 (Nº 81)	0,0369	-0,0351
miR-96 (Nº 86)	-0,0306	0,0291
miR-192 (Nº 178)	0,0236	-0,0224

miR-23a (Nº 50)	0,022	-0,021
miR-2.15 (Nº 213)	0,0204	-0,0194
miR-7-2 (Nº 21)	0,0189	-0,018
miR-138-2 (Nº 133)	-0,0185	0,0176
miR-24-1 (Nº 52)	0,0151	-0,0144
miR-99b (Nº 89)	0,0098	-0,0093
miR-33b (Nº 76)	-0,0049	0,0046
miR-24-2 (Nº 54)	0,0041	-0,0039

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

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

miR	N	Tipo de Tumor
miR-21	6	Mama Colon Pulmón Páncreas Próstata Estómago
miR-17-5p	5	Mama Colon Pulmón Páncreas Próstata
miR-191	5	Colon Pulmón Páncreas Próstata Estómago
miR-29b-2	4	Mama Colon Páncreas Próstata
miR-223	4	Colon Páncreas Próstata Estómago
miR-128b	3	Colon Pulmón Páncreas
miR-199a-1	3	Pulmón Páncreas Próstata
miR-24-1	3	Colon Páncreas Estómago
miR-24-2	3	Colon Páncreas Estómago
miR-146	3	Mama Páncreas Próstata
miR-155	3	Mama Colon Pulmón
miR-181b-1	3	Mama Páncreas Próstata
miR-20a	3	Colon Páncreas Próstata
miR-107	3	Colon Páncreas Estómago
miR-32	3	Colon Páncreas Próstata
miR-92-2	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-214	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-30c	3	Colon Páncreas Próstata
miR-25	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-221	3	Colon Páncreas Estómago
miR-106a	3	Colon Páncreas Próstata

* - La lista incluye 21 microARN regulados positivamente habitualmente en 3 o más (N) tipos de cánceres sólidos (p valor = $2,5 \times 10^{-3}$).

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

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

15 Sorprendentemente, miR-21, miR-191 y miR-17-5p están significativamente sobreexpresados en todos, o en 5 de 6, de los tipos tumorales que se consideraron. Se indicó que miR-21 estaba sobreexpresado en glioblastoma y que tenía propiedades antiapoptóticas (Chan, J. A., *et al.*, Cancer Res. 65: 6029-6033 (2005)). El cáncer de pulmón comparte una parte de su distintivo con el cáncer de mama y una parte con los otros tumores sólidos, incluyendo miR-17/20/92, los tres de los cuales son miembros del grupo de microARN que coopera activamente con c-Myc para acelerar la linfomagénesis (He, L., *et al.*, Nature 435: 828-833 (2005)). La identificación de estos microARN como sobreexpresados es una excelente confirmación del enfoque de los inventores. Un segundo grupo de miARN que está activado incluye miR-210 y miR-213, junto con miR-155, que ya se había indicado que estaba amplificado en linfomas de células grandes (Eis, P. S., *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 3627-3632 (2005)), niños con linfoma de Burkitt (Metzler, M., *et al.*, Genes Chromosomes Cancer 39: 167-169 (2004)) y diversos linfomas de linfocitos B

(Kluiver, J, *et al.*, J. Pathol., publicado digitalmente en línea, 22 de julio de 2005). Estos microARN son los únicos regulados positivamente en cáncer de mama y pulmón. miR-218-2 está uniformemente regulado negativamente en cánceres de colon, estómago, próstata y páncreas, pero no en carcinomas de pulmón y mama.

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

15

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

Materiales y métodos:

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

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

30 *Ensayos in vitro de diana*

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

45 *Transferencia de Western para RB1*

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

50 *Resultados*

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

(P<0,0001 en ensayo exacto de Fisher).

Las predicciones informáticas para tres genes de cáncer diferentes, Retinoblastoma (Rb), receptor de TGF-beta-2 (TGFB2) y gen de adenoma pleiomórfico 1 (PLAG1), se confirmaron experimentalmente por ensayos *in vitro*. Usando un ensayo de indicador de luciferasa, tres microARN ensayados (miR-106a, miR-20a y miR-26a-1) provocaron una reducción significativa de la traducción de proteínas en relación con los oligoARN de control mezclados en células MEG-01 transfectadas (FIGURA 6). Se descubrió, por ejemplo, que las UTR 3' de retinoblastoma interactuaban funcionalmente con miR-106a. La importancia biológica de esta interacción miARN:ARNm se refuerza por informes previos que muestran que el gen de Rb1 se transcribe de forma normal en cánceres de colon, mientras que diversas fracciones de células no expresan proteína Rb1 (Ali, A.A., *et al.*, FASEB J. 7: 931-937 (1993)). Este hallazgo sugiere la existencia de un mecanismo postranscripcional para regular Rb1 que podría explicarse por sobreexpresión de miR-106a conjunta en carcinoma de colon (FIGURA 4). Además, mir-20a está regulado negativamente en cáncer de mama (FIGURA 4) y la proteína TGFB2 se expresa en el epitelio de células de cáncer de mama (Buck, M. B., *et al.*, Clin. Cancer Res. 10: 491-498 (2004)). Por el contrario, la sobreexpresión de mir-20a en cáncer de colon puede representar un mecanismo nuevo para regular negativamente TGFB2, además de inactivación mutacional (Biswas, S., *et al.*, Cancer Res. 64: 687-692 (2004)).

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

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

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

Gen de miARN	Nombre del gen	Descripción del gen
miR-26a, miR-146 miR-107	ABL2 ABL2 AF5q31	homólogo de oncogén viral de leucemia murina de Abelson v-abl 2 (arg, gen relacionado con Abelson) gen fusionado con ALL1 de 5q31
miR-20, miR-125b miR-26a, miR-155 miR-125b	AKT3 APC	homólogo de oncogén viral de timoma murino v-akt 3 poliposis adenomatosa de colon
miR-26a, miR-218	ARHGEF12	factor de intercambio de nucleótidos de guanina de RHO (GEF) 12 (LARG)
miR-107, miR-221 miR-192 miR-26a	ARNT ATF1 ATM	translocador nuclear de receptores de hidrocarburos de arilo factor de transcripción activador 1 ataxia telangiectasia mutada (incluye grupos de complementación A, C y D)
miR-24 miR-26a, miR-107, miR-146, miR-155 miR-138, miR-92 miR-20 miR-21 miR-26a, miR-26a miR-20, miR-92 miR-26a, miR-223 miR-221, miR-125b miR-218	AXL BCL11A BCL11B BCL2 BCL6 CBF9 CBFB CCND6	tirosina quinasa receptora de AXL CLL de linfocitos B/linfoma 11A CLL de linfocitos B/linfoma 11B (CTIP2) CLL de linfocitos B/linfoma 2 CLL de linfocitos B/linfoma 6 (proteína de dedo de cinc 51) CLL de linfocitos B/linfoma 9 subunidad beta del factor de unión al núcleo Dominio superenrollado que contiene 6 ciclinas D1 (PRAD1:adenomatosis paratiroidea 1)
miR-20 miR-26a, miR-20 miR-26a, miR-107, miR-92 miR-20	CCND1 CCND2 CDK6 CDKN1A	 ciclina D2 quinasa dependiente de ciclina 6 inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1A (p21, Cip1)

ES 2 557 411 T3

miR-221, miR-92	CDKN1C	inhibidor de quinasa dependiente de ciclina 1C (p57, Kip2)
miR-24	CDX2	factor de transcripción de caja homeótica de tipo caudal 2
miR-92	CEBPA	CCAAT/proteína de unión potenciadora (C/EBP), alfa
miR-26a	CLTC	clatrina, polipéptido pesado (Hc)
miR-218	COL1A1	colágeno, tipo I, alfa 1
miR-26a	CREBBP	proteína de unión a CREB (CBP)
miR-20	CRK	homólogo del oncogén CT10 del virus del sarcoma aviar v-crk
miR-20	CSF1	factor estimulante de colonias 1 (macrófagos)
miR-221, miR-192	DDX6	polipéptido 6 de la caja DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) (helicasa de ARN, 54 kD)
miR-138	DEK E2F1	oncogén DEK (unión a ADN)
miR-20		factor de transcripción de E2F 1
miR-20	ELK3	ELK3, proteína de dominio ETS (proteína accesoria de SRF 2)
miR-24	ELL	gen de ELL (gen de leucemia rica en lisina 11-19)
miR-26a, miR-138	ERBB4	tipo homólogo de oncogén viral de leucemia eritroblástica aviar v-erb-a 4
miR-221, miR-155, miR-125b		homólogo 1 del oncogén E26 de virus de eritroblastosis aviar v-ets
miR-20	ETS1	
miR-125b	ETV1	gen variante de ets 1
miR-223	ETV6	gen variante de ets 6 (oncogén TEL)
miR-223, miR-125b, miR-218	FAT	homólogo de supresor de tumores FAT (<i>Drosophila</i>)
miR-92	FGFR2	receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 2
miR-24, miR-20	FLI1	integración de virus de leucemia de Friend 1
	FLT1	tirosina quinasa 1 relacionada con fins (factor de crecimiento endotelial vascular/receptor de factor de permeabilidad vascular)
miR-221	FOS	homólogo del oncogén viral de osteosarcoma murino v-fos FBJ
miR-92	FOXG1B	G1B de caja forkhead
miR-223	FOXO3A	O3A de caja forkhead box
miR-125b	GOLGA5	autoantígeno de golgi, subfamilia a de golgina, 5 (PTC5)
miR-138	GPHN	gefirina (GPH)
miR-107, miR-223, miR-20, miR-218	HLF	factor de leucemia hepática
miR-26a, miR-107	HMGA1	gancho AT de grupo de alta movilidad 1
miR-20	HOXA13	A13 de caja homeótica
miR-92	HOXA9	A9 de caja homeótica
miR-125b	IRF4	factor regulador de interferón 4
miR-146, miR-20, miR-138	JAZF1	yuxtapuesto con otro gen de dedo de cinc 1
miR-92	JUN	homólogo del oncogén 17 del virus de sarcoma aviar v-jun
miR-155	KRAS	homólogo del oncogén viral de sarcoma de rata de Kirsten 2 v-Ki-ras 2
miR-218	LASP1	proteína LIM y SH3 1
miR-218	LHFP	compañero de fusión de HMGIC de lipoma
miR-125b, miR-218	LIFR	receptor de factor inhibidor de leucemia
miR-223	LMO2	dominio de LIM solamente 2 (tipo rombotina 1) (RBTN2)
miR-223, miR-155, miR-125b, miR-92	MAF	homólogo del oncogén de fibrosarcoma musculoponeurótico (aviar) v-maf
miR-92	MAP2K4	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 4
miR-146, miR-20	MAP3K8	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 8
miR-125b	MAX	proteína MAX
miR-218	MCC	mutada en cánceres colorrectales
miR-24	MEN1	neoplasia endocrina múltiple I
miR-138	MLLT6	leucemia mielóide/linfóide o de linaje mixto (homólogo de trithorax, <i>Drosophila</i>) translocado a 6 (AF17)
miR-192	MSN	moesina
miR-24	MYB	homólogo del oncogén viral de mieloblastosis aviar v-myb
miR-107, miR-223, miR-146, miR-221, miR-155, miR-218	MYBL1	tipo homólogo de oncogén viral de mieloblastosis aviar v-myb 1
miR-107, miR-20	MYCN	derivado de neuroblastoma de oncogén relacionado con virus de mielocistomatosis aviar v-myc
miR-107, miR-92	MYH9	miosina, polipéptido pesado 9, no muscular
miR-24	MYST4	histona acetiltransferasa MYST (leucemia monocítica) 4 (MORF)
miR-20	NBL1	neuroblastoma, supresión de tumorigenicidad 1
miR-125b	NIN	nineína (proteína que interacciona con GSK3B)
miR-26a, miR-107	NKTR	secuencia de reconocimiento de tumor de citolítica natural
miR-92	NOTCH1	homólogo de Notch 1, asociado a translocación (<i>Drosophila</i>) (TAN1)

miR-24	NTRK3	tirosina quinasa neurotrófica, receptor, tipo 3
miR-125b	PCSK7	subtilisina de proproteína convertasa/quexina tipo 7
miR-24, miR-146	PER1	homólogo de periodo 1 (<i>Drosophila</i>)
miR-146, miR-125b. miR-138,	PHOX2B	homeocaja de tipo emparejado 2b
miR-155	PICALM	proteína de ensamblaje de clatrina de unión a fosfatidilinositol (CALM)
miR-24, miR-26a	PIM1	oncogén pim-1
miR-24, miR-26a, miR-21,	PLAG1	gen de adenoma pleiomórfico 1
miR-107, miR-20, miR-155		
miR-218	RAB8A	RAB8A, miembro de la familia de oncogén RAS
miR-24, miR-221	RALA	homólogo A del oncogén viral de leucemia de simio v-ral (relacionado con ras)
miR-138	RARA	receptor de ácido retinoico, alfa
miR-20, miR-192	RB1	retinoblastoma 1 (incluyendo osteosarcoma)
miR-20,	RBL1	tipo retinoblastoma 1 (p107)
miR-20	RBL2	tipo retinoblastoma 2 (p130)
miR-155, miR-138	REL	homólogo de oncogén viral de reticuloendoteliosis aviar v-rel
miR-20, miR-138	RHOC	familia del gen homólogo de ras, miembro C
miR-20, miR-192	RUNX1	factor de transcripción relacionado con runt 1 (AML1)
miR-107, miR-223	SEPT6	septina 6
miR-146, miR-20, miR-125b	SET	translocación de SET
miR-21, miR-20, miR-155,	SKI	homólogo de oncogén viral de sarcoma aviar v-ski
miR-218		
miR-26a, miR-146	SMAD4	SMAD, homólogo 4 de madres contra DPP (<i>Drosophila</i>)
miR-155	SPI1	oncogén de integración proviral de virus formador de focos de bazo (SFFV) spi1
miR-125b	SS18	translocación de sarcoma sinovial, cromosoma 18
miR-107, miR-155	SUFU	supresor de homólogo fusionado (<i>Drosophila</i>)
miR-92	TAF15	ARN polimerasa II TAF15, factor asociado a proteína de unión a caja TATA (TBP), 68 kDa
miR-26a, miR-221, miR-138	TCF12	factor de transcripción 12 (HTF4, factores de transcripción de hélice-bucle-hélice 4)
miR-21, miR-20	TGFBR2	factor de crecimiento transformante, receptor beta II (70-80 kD)
miR-24, miR-26a, miR-92	TOP1	topoisomerasa (ADN) I
miR-138	TPM4	tropomiosina 4
miR-120	TRIP11	factor de interacción con el receptor de hormona tiroidea 11
miR-92	TSC1	esclerosis tuberosa 1
miR-20	TSG101	gen de susceptibilidad tumoral 101
miR-20	TUSC2	candidato supresor de tumores 2
miR-24	VAV1	oncogén vav 1
miR-125b	VAV2	oncogén vav 2
miR-107	WHSC1	candidato de síndrome de Wolf-Hirschhorn 1 (MMSET)
miR-138	WHSC1L1	tipo candidato 1 de síndrome de Wolf-Hirschhorn 1 (NSD3)
miR-26a	WNT5A	familia del sitio de integración de MNDTV de tipo wingless, miembro 5A
miR-26a, miR-20, miR-125b	YES1	homólogo del oncogén viral de sarcoma de Yamaguchi 1 v-yes-1
miR-107, miR-221	ZNF198	proteína de dedo de cinc 198
miR-218	ZNFN1A1	proteína de dedo de cinc, subfamilia 1A, 1 (Ikaros)

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

7. El método del párrafo 1, en el que el cáncer sólido es cáncer de mama y el al menos un producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-125b-1, miR-125b-2, miR-145, miR-21 y combinaciones de los mismos.
- 5 8. El método del párrafo 1, en el que el cáncer sólido es cáncer pancreático y el al menos un producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-103-1, miR-103-2, miR-155, miR-204 y combinaciones de los mismos.
9. El método del párrafo 1, en el que el cáncer sólido y el al menos un producto génico de miR se seleccionan del grupo que consiste en:
- 10 (i) el cáncer sólido es cáncer de mama y el producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-29b-2, miR-146, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-10b, miR-145, miR-181a, miR-140, miR-213, miR-29a prec, miR-181b-1, miR-199b, miR-29b-1, miR-130a, miR-155, let-7a-2, miR-205, miR-29c, miR-224,

miR-100, miR-31 , miR-30c, miR-17-5p, miR-210, miR-122a, miR-16-2 y combinaciones de los mismos;

(ii) el cáncer sólido es cáncer de colon y el producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-24-1, miR-29b-2, miR-20a, miR-10a, miR-32, miR-203, miR-106a, miR-17-5p, miR-30c, miR-223, miR-126*, miR-128b, miR-21, miR-24-2, miR-99b prec, miR-155, miR-213, miR-150, miR-107, miR-191, miR-221 , miR-9-3 y combinaciones de los mismos;

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

(iv) el cáncer sólido es cáncer pancreático y el producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-103-2, miR-103-1, miR-24-2, miR-107, miR-100, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-24-1, miR-191, miR-23a, miR-26a-1, miR-125a, miR-130a, miR-26b, miR-145, miR-221, miR-126*, miR-16-2, miR-146, miR-214, miR-99b, miR-128b, miR-155, miR-29b-2, miR-29a, miR-25, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-92-2, miR-199a-1, miR-223, miR-29c, miR-30b, miR-129-1/2, miR-197, miR-17-5p, miR-30c, miR-7-1, miR-93-1, miR-140, miR-30a-5p, miR-132, miR-181b-1, miR-152 prec, miR-23b, miR-20a, miR-222, miR-27a, miR-92-1, miR-21, miR-129-1/2 prec, miR-150, miR-32, miR-106a, miR-29b-1 y combinaciones de los mismos;

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

(vi) el cáncer sólido es cáncer de estómago y el producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-223, miR-21, miR-218-2, miR-103-2, miR-92-2, miR-25, miR-136, miR-191, miR-221, miR-125b-2, miR-103-1, miR-214, miR-222, miR-212 prec, miR-125b-1, miR-100, miR-107, miR-92-1, miR-96, miR-192, miR-23a, miR-215, miR-7-2, miR-138-2, miR-24-1, miR-99b, miR-33b, miR-24-2 y combinaciones de los mismos.

10. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene, o está en riesgo de desarrollar un cáncer sólido que comprende:

(1) retrotranscribir ARN a partir de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar un conjunto de oligodesoxinucleótidos diana;

(2) hibridar los oligodesoxinucleótidos diana a una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra de ensayo; y

(3) comparar el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con un perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control, en el que una alteración en la señal de al menos un miARN es indicativa de que el sujeto tiene o está en riesgo de desarrollar un cáncer sólido.

11. El método del párrafo 10, en el que la señal de al menos un miARN, en relación con la señal generada a partir de la muestra de control está disminuida.

12. El método del párrafo 10, en el que la señal de al menos un miARN, en relación con la señal a partir de la muestra de control está aumentada.

13. El método del párrafo 10, en el que la micromatriz comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN para uno o más miARN seleccionados del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-1, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

14. Un método para inhibir la tumorigénesis en un sujeto que tiene o se sospecha que tiene un cáncer sólido en el que al menos un producto génico de miR está regulado negativamente o regulado positivamente en las células cancerosas del sujeto en relación a células de control que comprende:

(1) cuando el al menos un producto génico de miR está regulado negativamente en las células cancerosas, administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un producto génico de miR aislado, o una variante aislada o fragmento biológicamente activo de los mismos, siempre que el producto génico de miR no sea miR-15a o miR-16-1, de tal forma que la tumorigénesis se inhiba en el sujeto; o

(2) cuando el al menos un producto génico de miR está regulado positivamente en las células cancerosas, administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión de el al menos un producto génico de miR, de tal forma que se inhiba la tumorigénesis en el sujeto.

15. El método del párrafo 14, en el que el al menos un producto génico de miR aislado en la etapa (1) se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

16. El método del párrafo 14, en el que el al menos un producto génico de miR en la etapa (2) se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25,

miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

17. El método del párrafo 14, en el que el cáncer sólido se selecciona del grupo que consiste en cáncer de próstata, cáncer de estómago, cáncer pancreático, cáncer de pulmón y cáncer de colon.

18. Un método para inhibir la tumorigénesis en un sujeto que tiene un cáncer sólido que comprende:

- 5
- (1) determinar la cantidad de al menos un producto génico de miR en células cancerosas del sujeto, en relación a células de control; y
 - (2) alterar la cantidad de producto génico de miR expresado en las células cancerosas mediante:

10 (i) la administración al sujeto de una cantidad eficaz de al menos un producto génico de miR aislado o una variante aislada o fragmento biológicamente activo del mismo, siempre que el producto génico de miR no sea miR-15a o miR-16-1, si la cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas es menor que la cantidad del producto génico de miR expresado en células de control; o

15 (ii) administrar al sujeto una cantidad eficaz de al menos un compuesto para inhibir la expresión de el al menos un producto génico de miR si la cantidad del producto génico de miR expresado en las células cancerosas es mayor que la cantidad del producto génico de miR expresado en células de control, de tal forma que se inhibe la tumorigénesis en el sujeto.

20 19. El método del párrafo 18, en el que el al menos un producto génico de miR aislado en la etapa (i) se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

20. El método del párrafo 18, en el que el al menos un producto génico de miR aislado en la etapa (ii) se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

25 21. Una composición farmacéutica para tratar un cáncer sólido que comprende al menos un producto génico de miR aislado, o una variante aislada o un fragmento biológicamente activo del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 22. La composición farmacéutica del párrafo 21, en la que el al menos un producto génico de miR aislado corresponde a un producto génico de miR que está regulado negativamente en células cancerosas en relación a células de control adecuadas.

23. La composición farmacéutica del párrafo 22, en la que el producto génico de miR aislado se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

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

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

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

45 27. La composición farmacéutica del párrafo 26, en la que el al menos un compuesto para la inhibición de la expresión de miR es específico para un producto génico de miR seleccionado del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

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

29. El método del párrafo 29, en el que el producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218.2 y combinaciones de los mismos.

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

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

60 32. El método del párrafo 31, en el que el producto génico de miR se selecciona del grupo que consiste en miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos.

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

LISTADO DE SECUENCIAS

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

5 <120> MÉTODOS Y COMPOSICIONES BASADAS EN MICROARN PARA EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE CÁNCERES SÓLIDOS

10 <130> 1-28349

<140> 12/160,061

<141> 03-01-2008

15 <150> PCT/US07/000159

<151> 03-01-2007

<150> 60/756,585

<151> 05-01-2006

20 <160> 498

<170> PatentIn versión 3.5

25 <210> 1

<211> 90

<212> ARN

<213> *Homo sapiens*

30 <400> 1

cacuguggga ugagguagua gguuguauag uuuuaggguc acaccacca cugggagaua 60

acuauacaau cuacugucuu uccuaacgug 90

35 <210> 2

<211> 72

<212> ARN

<213> *Homo sapiens*

40 <400> 2

agguugaggu aguagguugu auaguuuaga auuacaucaa gggagauaac uguacagccu 60

ccuagcuuuc cu 72

45 <210> 3

<211> 74

<212> ARN

<213> *Homo sapiens*

50 <400> 3

gggugaggua guagguugua uaguuuagggg cucugcccug cuaugggaua acuauacaau 60

55 **cuacugucuu uccu 74**

<210> 4

<211> 107

<212> ARN

<213> *Homo sapiens*

ES 2 557 411 T3

	<400> 4		
	gugacugcau gcucccaggu ugagguagua gguuguauag uuuagaaua cacaagggag	60	
5	auaacuguaac agccuccuag cuuuccuugg gucuugcacu aaacaac	107	
	<210> 5 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 5		
	ggcgggguga gguaguaggu ugugugguuu cagggcagug auguugcccc ucggaagaua	60	
	acuauacaac cuacugccuu ccug	85	
15	<210> 6 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 6		
	gcauccgggu ugagguagua gguuguauagg uuuagaguua caccugggga guuaacugua	60	
	caaccuucua gcuuuccuug gagg	84	
25	<210> 7 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 7		
	ccuaggaaga gguaguaggu ugcauaguuu uagggcaggg auuuugccca caaggaggua	60	
	acuauaccgac cugcugccuu ucuuagg	87	
35	<210> 8 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 8		
	cuaggaagag guaguaguuu gcauaguuuu agggcaaaga uuuugcccac aaguaguauag	60	
	cuauaccgacc ugcagccuuu uguag	85	
45	<210> 9 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 9		

ES 2 557 411 T3

	cuggcugagg uaguaguug ugcuguuggu cggguuguga cauugcccgc uguggagaua	60
	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
5	<210> 10 <211> 79 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 10	
	ccccggcuga gguaggaggu uguauaguug aggaggacac ccaaggagau cacuauacgg	60
	ccuccuagcu uuccccagg	79
15	<210> 11 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 11	
	ucagagugag guaguagauu guauaguugu gggguaguga uuuuaccug uucaggagau	60
	aacuauaaa ucuaugccu ucccuga	87
25	<210> 12 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 12	
	cugugggaug agguaguaga uuguauaguu guggggguagu gauuuuacc uguucaggag	60
30	auaacuauac aaucuauugc cuucccuga	89
35	<210> 13 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 13	
	cugugggaug agguaguaga uuguauaguu uuagggucau accccaucuu ggagauaacu	60
	auacagucua cugucuucc cacgg	85
40	<210> 14 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 14	

ES 2 557 411 T3

	uugccugauu ccaggcugag guaguaguuu guacaguuug agggucuaug auaccacccg	60
	guacaggaga uaacuguaca ggccacugcc uugccaggaa cagcgcgc	108
5	<210> 15 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 15	
	cuggcugagg uaguaguug ugcuguuggu cggguuguga cauugcccgc uguggagaua	60
10	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
	<210> 16 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 16	
	accuacucag aguacauacu ucuuuaugua cccauaugaa cauacaugc uauggaaugu	60
20	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85
	<210> 17 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 17	
	cagcuaacaa cuuaguaaia ccuacucaga guacauacuu cuuuauaugac ccuauugaac	60
30	auacaugcu auggaaugua aagaaguau uauuuuuggu aggcaua	108
	<210> 18 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 18	
	gccugcuugg gaaacauacu ucuuuauaug cccauaugga ccugcuaagc uauggaaugu	60
40	aaagaaguau guaucucagg ccggg	85
	<210> 19 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 19	
	ugggaaacau acuucuuuau augccauau ggaccugcua agcuauggaa uguaaagaag	60
	uanguaucuc a	71

ES 2 557 411 T3

5	<210> 20 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 20		
	accuacucag aguacauacu ucuuuaugua cccauugaa cauacaaugc uauggaugu	60	
10	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85	
	<210> 21 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 21		
	uggauguugg ccuaguucug uguggaagac uagugauuuu guuguuuua gauaacuaaa	60	
	ucgacaacaa aucacagucu gccauauggc acaggccaug ccucuaca	108	
20	<210> 22 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 22		
	uggauguug gccuaguucu guguggaaga cuagugauuu uguuguuuuu agauaacuaa	60	
	aucgacaaca aaucacaguc ugccaauugg cacaggccau gccucuacag	110	
30	<210> 23 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 23		
	cuggauacag aguggaccgg cuggccccau cuggaagacu agugauuuug uuguugucuu	60	
	acugcgcuca acaacaaauc ccagucuacc uauggugcc agccaucgca	110	
40	<210> 24 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 24		
	agauuagagu ggcugugguc uagugcugug uggaagacua gugauuuugu uguucugaug	60	
	uacuacgaca acaagucaca gccggccuca uagcgcagac ucccuucgac	110	
50	<210> 25 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		

ES 2 557 411 T3

	<400> 25		
		cgggguuggu uguuauuuu gguuauauag cuguauagagu gguguggagu cuucauaaag	60
		cuagauaacc gaaaguaaaa auaaccca	89
5	<210> 26 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 26		
		ggaagcgagu uguuauuuu gguuauauag cuguauagagu guauuggucu ucauaaagcu	60
		agauaaccga aaguaaaaac uccuua	87
15	<210> 27 <211> 90 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 27		
		ggaggcccg uucucucuuu gguuauauag cuguauagagu gccacagagc cgucuaaag	60
		cuagauaacc gaaaguagaa augauucua	90
25	<210> 28 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 28		
		gaucugucug ucuucugua uauaccugua gaucggaau uguguaagga auuuguggu	60
		cacaaauucg uauauagggg aauauagagu ugacuaaac acuccgcucu	110
35	<210> 29 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 29		
		ccagagguug uaacguugc uauauauacc cuguagaacc gaauuugugu gguauccgua	60
		uagucacaga uucgauucua ggggaauua uggucgaugc aaaaacuua	110
45	<210> 30 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 30		

ES 2 557 411 T3

	gcgcgaaugu guguuuaaaa aaaauaaaac cuuggaguaa aguagcagca cauaaugguu	60
	uguggauuuu gaaaaggugc aggccauuu gugcugccuc aaaaauac	108
5	<210> 31 <211> 83 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 31	
	ccuuggagua aaguagcagc acauaauggu uuguggauuu ugaaaaggug caggccauau	60
10	ugugcugccu caaaaauaca agg	83
	<210> 32 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 32	
	cuguagcagc acaucauggu uuacaugcua cagucaagau gcgaaucuu auuugcugcu	60
20	cuag	64
	<210> 33 <211> 98 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 33	
	uugaggccuu aaaguacugu agcagcacau caugguuuac augcuacagu caagaugcga	60
	aucauuuuu gcugcucuag aaauuaagg aaaucau	98
30	<210> 34 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 34	
	gucagcagug ccuagcagc acguaaaauu uggcguaaag auucuaaaau uaucuccagu	60
	auuaacugug cugcugaagu aagguugac	89
40	<210> 35 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 35	
45	guuccacucu agcagcacgu aaauauuggc guagugaaau auauuuuaaa caccauuuu	60
	acugugcugc uuuaguguga c	81

ES 2 557 411 T3

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

ES 2 557 411 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 41	
	caguccucug uuaguuuugc auaguugcac uacaagaaga auguaguugu gcaaaucuaa	60
5	gcaaaacuga ugguggccug	80
	<210> 42	
	<211> 87	
	<212> ARN	
10	<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	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 43	
	acaauugcuac uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcguauauau guauaugugg	60
	cugugcaaaau 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
	ugcaaaacug acugugguag	80
35	<210> 45	
	<211> 81	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 45	
40	uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcguauauau guauaugugg cugugcaaaau	60
	ccaugcaaaa cugauuguga u	81
	<210> 46	
	<211> 71	
45	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 46	

ES 2 557 411 T3

	guagcacuaa agugcuuaua gugcagguag uguuuaguua ucuacugcau uaugagcacu	60
	uaaaguacug c	71
5	<210> 47 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 47	
	ugucggguag cuuauacagac ugauguugac uguugaaucu 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
20	gaugggcugu cugacauuuu g	81
25	<210> 49 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 49	
	ggcugagccg caguaguucu ucaguggcaa gcuuuauguc cugacccagc uaaagcugcc	60
30	aguugaagaa cuguugcccu cugcc	85
35	<210> 50 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 50	
	ggccggcugg gguuccuggg gaugggauuu gcuuccuguc aaaaucaca uugccagga	60
40	uuuccaaccg acc	73
45	<210> 51 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 51	
	cucaggugcu cuggcugcuu gguuccugg caugcugauu ugugacuuaa gauuaaaauc	60
	acauugccag ggauuaccac gcaaccacga ccuuggc	97

ES 2 557 411 T3

	<210> 52		
	<211> 81		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 52		
	ccacggccgg cuggggguucc uggggauggg auuugcuucc ugucacaaaau cacauugcca	60	
	gggauuucca accgaccug a	81	
10	<210> 53		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 53		
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg	60	
	aacaggag	68	
20	<210> 54		
	<211> 73		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 54		
	cucugccucc cgugccuacu gagcugaaac acaguugguu uguguacacu ggcucaguuc	60	
	agcaggaaca ggg	73	
30	<210> 55		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 55		
35			
	cccugggcuc ugccucccg uccuacugag cugaaacaca guugguuugu guacacuggc	60	
	ucaguucagc aggaacaggg g	81	
40	<210> 56		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 56		
	ccucceggug ccuacugagc ugauaucagu ucucuuuuu cacacuggcu caguucagca	60	
45	ggaacagcau c	71	
	<210> 57		
	<211> 84		
	<212> ARN		

	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 57	
	ggccaguguu gagaggcggg gacuugggca auugcuggac gcugcccugg gcauugcacu	60
5	ugucucgguc ugacagugcc ggcc	84
	<210> 58	
	<211> 86	
10	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 58	
	aggccguggc cucguucaag uauccagga uaggcugugc aggucccaau ggccuauuu	60
	gguuacuugc acggggacgc gggccu	86
15	<210> 59	
	<211> 77	
	<212> ARN	
20	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 59	
	guggccucgu ucaaguaauc caggauaggc ugugcagguc ccaugggccc uauucuuggu	60
	uacuugcacg gggacgc	77
25	<210> 60	
	<211> 84	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 60	
	ggcuguggcu ggauucaagu auccaggau aggcuguuuc caucugugag gccuauuuu	60
	gauuacuugu uucuggaggc agcu	84
35	<210> 61	
	<211> 77	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 61	
40		
	ccgggaccca guucaaguaa uucaggauag guugugugcu guccagccug uucuccauua	60
	cuuggcucgg ggaccgg	77
45	<210> 62	
	<211> 78	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 62	

ES 2 557 411 T3

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

ES 2 557 411 T3

	ccuucuguga ccccuuagag gaugacugau uucuuuuggu guucagaguc aauauaauuu	60
	ucuagcacca ucugaaaucg guuauaauga uuggggaaga gcaccaug	108
5	<210> 68 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 68	
	augacugauu ucuuuuggug uucagaguca auauaauuuu cuagcaccau cugaaaucgg	60
10	uuau	64
	<210> 69 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 69	
	cuucaggaag cugguuucau auggugguuu agauuuaaaau agugauuguc uagcaccauu	60
	ugaaaucagu guucuugggg g	81
20	<210> 70 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 70	
	cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaccau	60
	uugaaaucag uguuuuagga g	81
30	<210> 71 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 71	
	accacuggcc caucucuac acaggcugac cgauuucucc ugguguucag agucuguuuu	60
	ugucuagcac cauugaaaau cgguuau gauagggggaa aagcagcagc	110
40	<210> 72 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 72	

ES 2 557 411 T3

	gcgcacuguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gaugggcuuu cagucggaug	60
	uuugcagcug c	71
5	<210> 73 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 73	
10	auguaaacau ccuacacuca gcuguaauac auggauuggc ugggaggugg auguuuacgu	60
15	<210> 74 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 74	
	accaaguuuc aguucaugua acauccuac acucagcugu aauacaugga uggcuggga	60
	gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88
20	<210> 75 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 75	
	agauacugua acauccuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug	60
	uuuacucuuu cu	72
30	<210> 76 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 76	
	guuguuguaa acauccccga cuggaagcug uaagacacag cuaagcuuuc agucagaugu	60
	uugcugcuac	70
40	<210> 77 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 77	
45	cuguaaacau ccuugacugg aagcuguaag guguucagag gagcuuucag ucggauguuu	60
	acag	64
	<210> 78 <211> 71	

ES 2 557 411 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 78		
5		ggagaggagg caaugcug gcuaugcugu ugaacuggga accugcuaug ccaacauuu	60
		gccaucuuuc c	71
	<210> 79 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 79		
		ggagauuuug cacuuacua aguugcaugu ugucacggcc ucaaugcaau uuagugugug	60
15		ugauuuuuc	70
	<210> 80 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20			
	<400> 80		
		gggggcccag agaggcgggc ggccccggg ugcauugcug uugcauugca cgugugugag	60
		gcgggugcag ugccucggca gugcagccc gagccggccc cuggcaccac	110
25			
	<210> 81 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 81		
		accaaguuu aguucaugua acauccuac acucagcugu aauacaugga uuggcuggga	60
		gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88
35			
	<210> 82 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40			
	<400> 82		
		cuguggugca uuguaguugc auugcauguu cuggugguac ccaugcaaug uuuccacagu	60
		gcaucacag	69
45			
	<210> 83 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		

ES 2 557 411 T3

	<400> 83		
		ggccagcugu gaguguuucu uggcagugu cuuagcuggu uguugugagc aauguaagg	60
		aagcaaucag caaguauacu gccuagaag ugcugcacgu ugugggccc	110
5	<210> 84 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 84		
		gugcucgguu uguaggcagu gucauuagcu gauuguacug uggugguuac aaucacuaac	60
		uccacugcca ucaaaacaag gcac	84
15	<210> 85 <211> 77 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 85		
		agucuaguua cuaggcagug uaguuagcug auugcuaaua guaccaauca cuaaccacac	60
		ggccagguaa aaagauu	77
25	<210> 86 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 86		
		ucagaauaau gucaaagugc uuacagugca gguagugaua ugugcaucua cugcagugaa	60
30		ggcacuugua gcuuuauuggu ga	82
35	<210> 87 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 87		
		cuuucuacac agguugggau cgguugcaau gcuguguuuc uguauugguau ugcacuuguc	60
40		ccggccuguu gaguuugg	78
45	<210> 88 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 88		

ES 2 557 411 T3

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

ES 2 557 411 T3

	<210> 94		
	<211> 70		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 94		
	ggcaccacc cguagaaccg accuugcggg gccuucgccg cacacaagcu cgugucugug	60	
	gguccguguc	70	
10	<210> 95		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 95		
	cccauuggca uaaaccgua gauccgaucu uguggugaag uggaccgcac aagcucgeuu	60	
	cuaugggucu gugucagugu g	81	
20	<210> 96		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 96		
	aagagagaag auauugaggc cuguugccac aaaccgugag auccgaacuu gugguauuag	60	
	uccgcacaag cuuguaucua uagguaugug ucuguuaggc aaucucac	108	
30	<210> 97		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 97		
35	ccuguugcca caaaccgua gauccgaacu ugugguauua guccgcacaa gcuuguaucu	60	
	auagguaugu gucuguuagg	80	
40	<210> 98		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 98		
	aggcugcccu ggcucagua ucacagugcu gaugcugucu auucuaaagg uacaguacug	60	
45	ugauaacuga aggauggcag ccaucuuacc uucaucaga ggagccucac	110	
50	<210> 99		
	<211> 57		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		

ES 2 557 411 T3

	<400> 99	
5	ucaguuauca cagugcugau gcuguccauu cuaaagguac aguacuguga uaacuga 57	
	<210> 100	
	<211> 75	
	<212> ARN	
10	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 100	
	ugcccuggcu caguuaucac agugcugaug cugucuauuc uaaagguaca guacugugau	60
	aacugaagga uggca	75
15	<210> 101	
	<211> 79	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 101	
	acuguccuuu uucgguauc augguaccga ugcuguaauu cugaaagguaca caguacugug	60
	auaacugaag aaugguggu	79
25	<210> 102	
	<211> 75	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 102	
	uguccuuuuu cgguaucuu gguaccgaug cuguaauucu gaaagguaca guacugugau	60
	aacugaagaa uggug	75
35	<210> 103	
	<211> 81	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 103	
	cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaccuu	60
40	uugaaaucag uguuuuagga g	81
45	<210> 104	
	<211> 81	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 104	
	cuucaggaag cugguuucuu auggugguuu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccuu	60
	ugaaaucagu guucuugggg g	81

ES 2 557 411 T3

5	<210> 105 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 105		
	uugugcuuuc agcuucuuua cagugcugcc uuguagcauu caggucaagc aacauuguac	60	
10	agggcuauga aagaacca	78	
	<210> 106 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 106		
	uacugcccuc ggcuucuuua cagugcugcc uuguugcaua uggaucaagc agcauuguac	60	
	agggcuauga aggcauug	78	
20	<210> 107 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 107		
	aaaugucaga cagcccaucg acugguguug ccaugagauu caacagucaa caucagucug	60	
	auaagcuacc cgacaagg	78	
30	<210> 108 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 108		
	ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cucaugcacc acggauguuu	60	
	gagcaugugc uacggugucu a	81	
40	<210> 109 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 109		
	ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cuuauugcacc acggauguuu	60	
45	gagcaugugc uauggugucu a	81	
	<210> 110 <211> 81 <212> ARN		

ES 2 557 411 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 110		
	ccuuggccau guaaaagugc uuacagugca gguagcuuuu ugagaucuac ugcaauguaa	60	
5	gcacuucuaa cauuaccaug g	81	
	<210> 111		
	<211> 82		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 111		
	ccugccgggg cuaaagugcu gacagugcag auaguggucc ucuccgugcu accgcacugu	60	
	ggguacuugc ugcuccagca gg	82	
15	<210> 112		
	<211> 81		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 112		
	cucucugcuu ucagcuucuu uacaguguug ccuuguggca uggaguucua gcagcauugu	60	
	acagggcuau caaagcacag a	81	
25	<210> 113		
	<211> 90		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 113		
	acacugcaag aacaauaagg auuuuaggg gcuuuugac ugagucagaa aacacagcug	60	
	ccccugaaag ucccucuuuu uucuugcugu	90	
35	<210> 114		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 114		
40			
	acugcaagag caauaaggau uuuuaggggc auuugauag uggauggaa acacaucugc	60	
	ccccaaaagu cccucuuuu	80	
45	<210> 115		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 115		

ES 2 557 411 T3

	ccuuagcaga gcuguggagu gugacaaugg uguuuguguc uaaacuauca aacgccauua	60
	ucacacuaaa uagcuacugc uaggc	85
5	<210> 116 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 116	
	agcuguggag ugugacaaug guguuugugu ccaaacuauc aaacgccauu aucacacuaa	60
10	auagcu	66
15	<210> 117 <211> 61 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 117	
	acauuauuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uaauaagcg	60
20	c	61
25	<210> 118 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 118	
	aggccucucu cuccguguuc acagcggacc uugauuuaaa uguccauaca auuaaggcac	60
	gcgugugaug ccaagaaugg ggcug	85
30	<210> 119 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 119	
	aucaagauua gaggcucugc ucuccguguu cacagcggac cuugauuuua ugucuuuaca	60
	uuuaggcacg cggugaaugc caagagcggg gccuacggcu gcacuugaag	110
40	<210> 120 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 120	
	ugagggcccc ucugcguguu cacagcggac cuugauuuua ugucuuuaca auuaaggcac	60
	gcgugugaug ccaagagagg cgccucc	87

ES 2 557 411 T3

	<210> 121		
	<211> 68		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 121		
	cucugcgugu ucacagcggg ccuugauuuu augucuauac aaauaaggca cgcggugaau	60	
	gccaagag	68	
10	<210> 122		
	<211> 67		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 122		
	cucuccgugu ucacagcggg ccuugauuuu augucauaca auuaaggcac gcggugaau	60	
	ccaagag	67	
20	<210> 123		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 123		
	ugccagucuc uaggucccug agaccuuuuu accugugagg acauccaggg ucacagguga	60	
	gguuucuggg agccuggcgu cuggcc	86	
30	<210> 124		
	<211> 65		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 124		
	ggucccugag acccuuuuac cugugaggac auccaggguc acaggugagg uucuugggag	60	
	ccugg	65	
40	<210> 125		
	<211> 88		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 125		
	ugcgcuccuc ucagucccug agaccuuuac uugugauguu uaccguuuua auccacgggu	60	
45	uaggcucuug ggagcugcga gucgugcu	88	
	<210> 126		
	<211> 89		
	<212> ARN		

ES 2 557 411 T3

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

ES 2 557 411 T3

	ugagcuguug gauucggggc cguagcacug ucugagaggu uuacauuucu cacagugaac	60
	cgguccuuu uucagcugcu uc	82
5	<210> 132 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 132	
10	gcccggcagc cacugugcag ugggaagggg ggccgauaca cuguacgaga gugaguagca	60
	ggucucacag ugaaccgguc ucuuucccua cugugucaca cuccuaugg	110
15	<210> 133 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 133	
20	guuggauucg gggccguagc acugucugag agguuuacau uucucacagu gaaccggucu	60
	cuuuucagc	70
25	<210> 134 <211> 74 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 134	
30	uggaucuuuu ugcggucugg gcuugcuguu ccucucaaca guagucagga agcccuuacc	60
	ccaaaagua ucua	74
35	<210> 135 <211> 90 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 135	
40	ugcccuucgc gaauuuuuu ggggucuggg cuugcuguac auaacucaau agccggaagc	60
	ccuuacccca aaaagcauuu gcgaggggcg	90
45	<210> 136 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 136	
	ugcugcuggc cagagcucu uucacauugu gcuacugucu gcaccuguca cuagcagugc	60
	aauguuaaaa gggcauuggc cguguagug	89

ES 2 557 411 T3

	<210> 137		
	<211> 110		
	<212> ARN		
5	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 137		
	gccaggaggc gggguugguu guuauuuug guuaucuagc uguaugagug guguggaguc	60	
	uucauaaagc uagauaacccg aaaguaaaaa uaaccccaua cacugcgcag	110	
10	<210> 138		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 138		
	cacggcgcgg cagcggcacu ggcuaagggg ggcocguuuc ucucuuggu uaucuagcug	60	
	uagagugcc acagagccgu cauaaagcua gaaaacccgaa aguagaaug	110	
20	<210> 139		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 139		
	guuguuauuc uugguuauuc agcuguauga guguauggu cuucauaaag cuagauaac	60	
	gaaaguaaaa ac	72	
30	<210> 140		
	<211> 101		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 140		
35			
	ccgccccgc gucuccaggg caaccguggc uuucgauugu uacuguggga acuggaggua	60	
	acagucuaca gccauggucg ccccgagca cgcccacgcg c	101	
40	<210> 141		
	<211> 66		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 141		
	gggcaaccgu ggcuuucgau uguuacugug ggaacuggag gaaacagucu acagccaugg	60	
45	uegecc	66	
	<210> 142		
	<211> 88		
	<212> ARN		
50	<213> <i>Homo sapiens</i>		

ES 2 557 411 T3

	<400> 142		
		acaaugcuuu gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucucaaug gauuuggucc	60
5		ccuucaacca gcuguagcua ugcauuga	88
	<210> 143		
	<211> 102		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 143		
		gggagccaaa ugcuuugcua gagcugguaa aauggaacca aaucgacugu ccaauggauu	60
		ugguucccuu caaccagcug uagcugugca uugauggcgc cg	102
15	<210> 144		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 144		
		gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucucaaug gauuuggucc ccuucaacca	60
		gcuguagc	68
25	<210> 145		
	<211> 119		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 145		
		ccucagaaga aagaugcccc cugcucuggc uggucaaacg gaaccaaguc cgucuuccug	60
		agagguuugg uccccucaa ccagcuacag cagggcuggc aaugcccagu ccuuggaga	119
35	<210> 146		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 146		
		gccccucgu cuggcugguc aaacggaacc aaguccgucu uccugagagg uuuggueccc	60
40		uucaaccagc uacagcaggg	80
45	<210> 147		
	<211> 73		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 147		

ES 2 557 411 T3

	cagggugugu gacugguuga ccagaggggc augcacugug uucacccugu gggccaccua	60
	gucaccaacc cuc	73
5	<210> 148 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 148	
10	agggugugug acugguugac cagaggggca ugcacugugu ucacccugug gggccaccuag	60
	ucaccaaccc u	71
15	<210> 149 <211> 90 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 149	
20	aggccucgcu guucucuauug gcuuuuuuuu ccuauugugau ucuacugcuc acucauauag	60
	ggauuggagc cguggcgcac ggcggggaca	90
25	<210> 150 <211> 100 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 150	
30	agauaaaauuc acucuagugc uuuauuggcuu uuuauuccua ugugauagua auaaagucuc	60
	auguagggau ggaagccaug aaauacauug ugaaaaauca	100
35	<210> 151 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 151	
40	cuauggcuuu uuauuccuau gugauucuac ugcucacuca uauagggauu ggagccgugg	60
45	<210> 152 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 152	
	cacucugcug uggccuauug cuuuucauuc cuaugugauu gcugucccaa acucauguag	60
	ggcuaaaagc caugggcuac agugaggggc gagcucc	97
	<210> 153	

ES 2 557 411 T3

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

ES 2 557 411 T3

	<400> 158		
		cagcuggugu ugugaaucag gccgacgagc agcgcauccu cuuaccggc uauuucacga	60
		caccaggguu g	71
5			
	<210> 159		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 159		
		guguauucua cagugcacgu gucuccagug uggcucggag gcuggagacg cggcccuguu	60
		ggaguaac	68
15			
	<210> 160		
	<211> 100		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20			
	<400> 160		
		ugugucucuc ucuguguccu gccagugguu uuaccuaug guagguuacg ucaugcuguu	60
		cuaccacagg guagaaccac ggacaggaua ccggggcacc	100
25			
	<210> 161		
	<211> 72		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 161		
		uccugccagu gguuuuaccc uaugguaggu uacgucaugc uguucuacca caggguagaa	60
30		ccacggacag ga	72
35			
	<210> 162		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 162		
		ccugccagug guuuuacccu augguagguu acgucaugcu guucuaccac aggguagaac	60
40		cacggacagg	70
45			
	<210> 163		
	<211> 95		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 163		

ES 2 557 411 T3

	cggccggccc uggguccauc uuccaguaca guguuggaug gucuaauugu gaagcuccua	60
	acacugucug guaaagaugg cucccgggug gguuc	95
5	<210> 164 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 164	
	ggguccaucu uccaguacag uguuggaugg ucuaauugug aagcuccuaa cacugucugg	60
10	uaaagauggc cc	72
15	<210> 165 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 165	
	acccauaaag uagaaagcac uacuaacagc acuggaggggu guaguguuuc cuacuuuug	60
20	gaug	64
25	<210> 166 <211> 106 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 166	
	gcgcagcgcc cugucuccca gccugaggug cagugcugca ucucugguca guugggaguc	60
	ugagaugaag cacuguagcu caggaagaga gaaguuguuc ugcagc	106
30	<210> 167 <211> 63 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 167	
	ccugaggugc agugcugcau cucuggucag uugggagucu gagaugaagc acuguagcuc	60
	agg	63
40	<210> 168 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 168	

ES 2 557 411 T3

	uggggcccug gcugggauau caucauauac uguaaguug cgaugagaca cuacaguaua	60
	gaugauguac uaguccgggc accccc	86
5	<210> 169 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 169	
10	ggcugggaua ucaucauaua cuguaaguuu gcgauagagac acuacaguau agaugaugua	60
	cuaguc	66
15	<210> 170 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 170	
20	caccuugucc ucacggucca guuuucccag gaaucccuua gaugcuaaga uggggauucc	60
	uggaaauacu guucuugagg ucaugguu	88
25	<210> 171 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 171	
30	cucacggucc aguuuuuccca ggaaucccuu agaugcuaag auggggauuc cuggaaauac	60
	uguucuugag	70
35	<210> 172 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 172	
40	ccgaugugua uccucagcuu ugagaacuga auuccauggg uugugucagu gucagaccuc	60
	ugaaaucag uucuucagcu gggauaucuc ugucaucgu	99
45	<210> 173 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 173	

ES 2 557 411 T3

	agcuuugaga acugaaucc augggugug ucagugucag accugugaaa uucaguucuu	60
	cagcu	65
5	<210> 174 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 174	
	aaucuaaaga caacauuucu gcacacacac cagacuaugg aagccagugu guggaaaugc	60
10	uucugcuaga uu	72
15	<210> 175 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 175	
	gaggcaaagu ucugagacac uccgacucug aquaugauag aagucagugc acuacagaac	60
20	uuugucuc	68
25	<210> 176 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 176	
	caagcacgau uagcauuuga ggugaaguuc uguuauacac ucaggcugug gcucucugaa	60
30	agucagugca ucacagaacu uugucucgaa agcuuucua	99
35	<210> 177 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 177	
	aagcacgauu agcauuugag gugaaguucu guuauacacu caggcugugg cucucugaaa	60
40	gucagugcau	70
	<210> 178 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 178	
	gccggcgccc gagcucuggc uccgugucuu cacucccgug cuuguccgag gagggagggga	60
	gggacggggg cugugcuggg gcagcugga	89

ES 2 557 411 T3

5	<210> 179 <211> 53 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 179		
10	gcucuggcuc cgugucuuca cucccgugcu uguccgagga gggagggagg gac	53	
	<210> 180 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 180		
	cuccccaugg ccugucucc caaccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg		60
	ccugggggac agggaccugg ggac		84
20	<210> 181 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 181		
	ccugucucc caaccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg ccugggggac		60
	aggg		64
30	<210> 182 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 182		
	uuuccugccc ucgaggagcu cacagucuag uaugucucu cccuacuag acugaagcuc		60
	cuugaggaca gg	72	
40	<210> 183 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 183		
	ccuguccuca aggagcuuca gucuaguagg ggaugagaca uacuagacug ugagcuccuc		60
45	gagggcagg		69
50	<210> 184 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		

ES 2 557 411 T3

	<400> 184		
		ugcccccccc ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucagugc	60
		augacagaac uugggccccg aaggacc	87
5	<210> 185 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 185		
		ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucagugc augacagaac	60
		uugggccccg g	71
15	<210> 186 <211> 90 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 186		
		cucacagcug ccagugucau uuuugugauc ugcagcuagu auucucacuc caguugcaua	60
		gucacaaaag ugaucuuugg cagguguggc	90
25	<210> 187 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 187		
		ucucucucuc ccucacagcu gccaguguca uugucacaaa agugaucuuu ggcaggugug	60
30		gcugcugcau g	71
35	<210> 188 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 188		
		agcgguggcc agugucuuu uugugauguu gcagcuagua auaugagccc aguugcauag	60
40		ucacaaaagu gaucauugga aacugug	87
45	<210> 189 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 189		

ES 2 557 411 T3

	cagugucauu uuugugaugu ugcagcuagu aauaugagcc caguugcaua gucacaaaag	60
	ugaucauug	69
5	<210> 190 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 190	
	gugguacuug aagauagguu auccguguug ccuucgcuuu auuugugacg aaucacuacac	60
10	gguugaccua uuuuucagua ccaa	84
15	<210> 191 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 191	
	gaagauaggu uauccguguu gccuucgcuu uauuugugac gaucacuaca cggugaccu	60
20	auuuuu	66
25	<210> 192 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 192	
	cuguuaaugc uaaucgugau aggggguuuu gccuccaacu gacuccuaca uauuagcauu	60
30	aacag	65
35	<210> 193 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 193	
	ccuaacacug ucugguaaag auggcucccg gguggguucu cucggcagua accuucaggg	60
40	agcccugaag accauggagg ac	82
45	<210> 194 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 194	
	gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucuccc	60
	cucuggcugc caauuccaua ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110

ES 2 557 411 T3

5	<210> 195 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 195		
	ucccgcccc uguaacagca acuccaugug gaagugcca cugguuccag uggggcugcu	60	
	guuauucuggg gcgagggcca	80	
10	<210> 196 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 196		
	aaagcugggu ugagagggcg aaaaaggaug aggugacugg ucugggcuaac gcuaugcugc	60	
	ggcgcucggg	70	
20	<210> 197 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 197		
	cauuggccuc cuaagccagg gauugugggu ucgagucca cccgggguaa agaaaggccg	60	
	aaau	64	
30	<210> 198 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 198		
	ccuaagccag ggauuguggg uucgaguccc accuggggua gaggugaaag uuccuuuuac	60	
	ggauuuuuu	70	
40	<210> 199 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 199		
	caaugucagc agugccuuag cagcacguaa auauuggcgu uaagauucua aaauuauuc	60	
45	caguauuac ugugcugcug aaguaagguu gaccuauuc uacaguug	108	
	<210> 200 <211> 81		

ES 2 557 411 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 200		
5		gggcuuucaa gucacuagug guuccguuua guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
		goccuaguga cuacaaagcc c	81
	<210> 201 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 201		
		acgcaagugu ccuaagguga gcucagggag cacagaaacc uccaguggaa cagaagggca	60
15		aaagcucauu	70
	<210> 202 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20			
	<400> 202		
		caugugucac uuucagggug aguuucaaga gucccuuccu gguucaaccg uccuuugcu	60
		cuuccacaac	70
25			
	<210> 203 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 203		
		agaagggcua ucaggccagc cuucagagga cuccaaggaa cauucaacgc ugucggugag	60
		uuugggauuu gaaaaacca cugaccguug acuguaccuu gggguccuua	110
35			
	<210> 204 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40			
	<400> 204		
		ccugugcaga gauuauuuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cggugggguug	60
		aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu gggcccgcuu	110
45			
	<210> 205 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 205		

ES 2 557 411 T3

	cugauggcug cacucaacau ucauugcugu cgguggguuu gagucugaau caacucacug	60
	aucaaugaau gcaaacugcg gaccaaaca	89
5	<210> 206 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 206	
10	cggaauuuu gccaaagguu ugggggaaca uucaaccugu cggugaguuu gggcagcuca	60
	ggcaaaccu cgaccguuga guggaccug aggcuggaa uugccauccu	110
15	<210> 207 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 207	
20	gagcugcuug ceuecccccg uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg	60
	auccgguggu ucuagacuug ccaacuaugg ggcgaggacu cagccggcac	110
25	<210> 208 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 208	
30	uuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg auccgguggu ucuagacuug	60
	ccaacuaugg	70
35	<210> 209 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 209	
40	ccgcagagug ugacuccugu ucuguguaug gcacugguag aaucacugu gaacagucuc	60
	agucagugaa uuaccgaagg gccauaaaca gagcagagac agauccacga	110
45	<210> 210 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 210	

ES 2 557 411 T3

	ccagucacgu ccccuauca cuuuuccagc ccagcuuugu gacuguaagu guuggacgga	60
	gaacugauaa ggguaagguga uuga	84
5	<210> 211 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 211	
10	ccuuaucacu uuuccagccc agcuuuguga cuguaagugu uggacggaga acugauaagg	60
	guagg	65
15	<210> 212 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 212	
20	agggggcgag ggauuggaga gaaaggcagu uccugauggu ccccccucca ggggcuggcu	60
	uuccucuggu ccuuccucc ca	82
25	<210> 213 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 213	
30	agggauugga gagaaaggca guuccugaug guccccucc caggggcugg cuuuccucug	60
	guccuu	66
35	<210> 214 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 214	
40	ugcuuguaac uuuccaaaga auuccuuuu ugggcuuucu gguuuuuuu uaagcccaa	60
	ggugaauuuu ugggaaguu ugagcu	86
45	<210> 215 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 215	
	acuuuccaaa gaauuccuu uuugggcuuu cugguuuuau uuaagccca aaggugaauu	60
	uuuugggaag u	71

ES 2 557 411 T3

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

ES 2 557 411 T3

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

ES 2 557 411 T3

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

ES 2 557 411 T3

	<210> 232	
	<211> 58	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 232	
	uagcagcaca gaaauauugg cacaggaag cgagucugcc aauauuggcu gucugcu	58
10	<210> 233	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 233	
	cuagagcuug aauuggaacu gcugagugaa uuagguaguu ucauguuguu gggccugggu	60
	uucugaacac aacaacaua aaccacccga uucacggcag uuacugcucc	110
20	<210> 234	
	<211> 70	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 234	
	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc uggguuucug aacacaacia cauuaaacca	60
	cccgauucac	70
30	<210> 235	
	<211> 110	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 235	
	ugcucgcuca gcugaucugu ggcuuaggua guuucauguu guugggauug aguuuugaac	60
	ucggcaacia gaaacugccu gaguacauc agucgguuuu cgucgagggc	110
40	<210> 236	
	<211> 70	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 236	
	gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc uggguuucug aacacaacia cauuaaacca	60
	cccgauucac	70
50	<210> 237	
	<211> 84	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 237	

ES 2 557 411 T3

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

ES 2 557 411 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 243		
5		ccagaggaca ccuccacucc gucuaccag uguuuagacu aucuguucag gacuccaaa	60
		uuguacagua gucugcacau ugguuaggcu gggcuggguu agaccucgg	110
	<210> 244 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10			
	<400> 244		
		gccaacccag uguucagacu accuguucag gaggcucuca auguguacag uagucugcac	60
15		auugguuagg c	71
	<210> 245 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20			
	<400> 245		
		gccguggcca ucuuacuggg cagcauugga uggagucagg ucucuaauac ugccugguaa	60
		ugaugacggc	70
25			
	<210> 246 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 246		
		ccagcucggg cagccguggc caucuucug ggcagcauug gauggaguca ggucucuaau	60
		acugccuggu aaugaugacg gggagcccu gcacg	95
35			
	<210> 247 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
40			
	<400> 247		
		cccugucuu acccagcagu guuugggugc gguugggagu cucuaauacu gccggguaau	60
		gauggagg	68
45			
	<210> 248 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 248		

ES 2 557 411 T3

	guuccuuuuu ccuaugcaua uacuucuuug aggaucuggc cuaaagaggu auagggcaug	60
	ggaagaugga gc	72
5	<210> 249 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 249	
10	guguugggga cucgcgcgcu ggguccagug guucuaaca guucaacagu ucuguagcgc	60
	aaauugugaaa uguuuaggac cacuagaccc ggcggggcgcg gcgacagcga	110
15	<210> 250 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 250	
20	ggcuacaguc uuucuucaug ugacucgugg acuucccuuu gucauccuau gccugagaau	60
	auaugaagga ggcugggaag gcaaaggac guucaauugu caucacuggc	110
25	<210> 251 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 251	
30	aaagauccuc agacaaucca ugugcuucuc uuguccuua uuccaccgga gucugucuca	60
	uacccaacca gauuucagug gagugaaguu caggaggcau ggagcugaca	110
35	<210> 252 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 252	
40	ugcuucccga ggccacaugc uucuuuauau ccccauagg auuacuugc uauggaangu	60
	aaggaagugu gugguuucgg caagug	86
45	<210> 253 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 253	

ES 2 557 411 T3

	aggccacaug cuucuuuaua ucccacauaug gauuacuuug cuauggaaug uaaggaagug	60
	ugugguuuu	69
5	<210> 254 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 254	
	ugacggggcga gcuuuuggcc cggguuuauac cugaugcuca cguauaagac gagcaaaaag	60
10	cuuguugguc a	71
	<210> 255 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 255	
	acccggcagu gccuccaggc gcagggcagc cccugcccac cgcacacugc gcugccccag	60
	accacugug cgugugacag cggcugaucu gugccugggc agcgcgaccc	110
20	<210> 256 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 256	
	ucaccuggcc augugacuug ugggcuuccc uuugucaucc uucgccuagg gcucugagca	60
	gggcagggac agcaaagggg ugcucaguug ucacuuccca cagcacggag	110
30	<210> 257 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 257	
	cggggcacc cgcgccgaca gcgcgccggc accuuggcuc uagacugcuu acugcccggg	60
	ccgcccucag uaacagucuc cagucacggc caccgacgcc uggccccgcc	110
40	<210> 258 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 258	

ES 2 557 411 T3

	ccugugcaga gauuauuuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug	60
	aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu	110
5	<210> 259 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 259	
	gaguuugag guugcuucag ugaacauuca acgcugucgg ugaguuugga auuaaaauca	60
10	aaaccaucga ccguugauug uaccuaugg cuaaccauca ucuacucc	108
	<210> 260 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 260	
	ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuc acuugcugug cagaacaucc	60
	gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucacaugac aaccagccu	110
20	<210> 261 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 261	
	aucauucaga aaugguauac aggaaaauga ccuaugaaau gacagacaau auagcugagu	60
	uugucuguca uuucuuuagg ccaauauucu guaugacugu gcuaucucaa	110
30	<210> 262 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 262	
	gauggcugug aguuggcuua aucucagcug gcaacuguga gauguucaua caaucccuca	60
	caguggucuc ugggauuug cuaaacagag caauuuccua gccucacga	110
40	<210> 263 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 263	

ES 2 557 411 T3

	aguauaaaua uuacauaguu uuugaugucg cagauacugc aucaggaacu gauuggauaa	60
	gaucaguca ccaucaguuc cuaaugcauu gccuucagca ucuaaacaag	110
5	<210> 264 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 264	
10	gugauaaugu agcgagauuu ucuguugugc uugaucuaac caugugguug cgagguauga	60
	guaaaacaug guuccgucaa gcaccaugga acgucacgca gcuuucuaca	110
15	<210> 265 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 265	
20	gaccagucgc ugcggggcuu uccuuugugc uugaucuaac cauguggugg aacgauggaa	60
	acggaacaug guucugucaa gcaccgcgga aagcaccgug cucuccugca	110
25	<210> 266 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 266	
30	ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuai ggcuccggcc	60
	gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gcccccaaac cucgagcggg	110
35	<210> 267 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 267	
40	ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuai ggcuccggcc	60
	gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gcccccaaac cucgagcggg	110
45	<210> 268 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 268	

ES 2 557 411 T3

	acucaggggc uucgccacug auuguccaaa cgcaauucuu guacgagucu gcggcccaacc	60
	gagaauugug gcuggacauc uguggcugag cuccggg	97
5	<210> 269 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 269	
	gacagugugg cauuguaggg cuccacaccg uaucugacac uuugggcgag ggcaccaugc	60
10	ugaagguguu caugaugcgg ucugggaacu ccucacggau cuuacugaug	110
15	<210> 270 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 270	
	ugaacaucca ggucuggggc augaaccugg cauacaaugu agauuucugu guucguuagg	60
20	caacagcuac auugucugcu ggguuucagg cuaccuggaa acauguucuc	110
25	<210> 271 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 271	
	gcugcuggaa gguguaggua cccucaaugg cucaguagcc aguguagauc cugucuuucg	60
	uaaucagcag cuacaucugg cuacuggguc ucugauggca ucuucuaucu	110
30	<210> 272 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 272	
	ccuggccucc ugcagugcca cgcuccgugu auuugacaag cugaguugga cacuccaugu	60
	gguagagugu caguuuuca aaualcccaa gugcggcaca ugcuuaccag	110
40	<210> 273 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 273	
45		

ES 2 557 411 T3

	gggcuuucaa gucacuagug guuccguuua guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
	gcccuaguga cuacaaagcc c	81
5	<210> 274 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 274	
10	caaucuuccu uaucauggu auugauuuuu cagugcuucc cuuuugugug agagaagaua 60	
15	<210> 275 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 275	
	aggacccuuc cagagggccc ccccucaauc cuguugugcc uaaucagag gguugggugg	60
	aggcucuccu gaagggcucu	80
20	<210> 276 <211> 63 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 276	
	aagaaauggu uuaccguccc acauacauuu ugaauaugua ugugggaugg uaaaccgcuu	60
	cuu	63
30	<210> 277 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 277	
	acugcuaacg aaugcucuga cuuuauugca cuacuguacu uuacagcuag cagugcaaua	60
	guauugucaa agcaucugaa agcagg	86
40	<210> 278 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 278	
	ccaccacuua aacguggaug uacuugcuuu gaaacuaaag aaguaagugc uucauguuu	60
	uggugaugg	69
	<210> 279	

ES 2 557 411 T3

	<211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 279		
	goucccuuca acuuuaacau ggaagugcuu ucugugacuu uaaaaguaag ugcuuccaug	60	
	uuuuaguagg agu	73	
10	<210> 280 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 280		
	ccuuugcuuu aacauggggg uaccugcugu gugaaacaaa aguaagugcu uccauguuuc	60	
	aguggagg	68	
20	<210> 281 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 281		
	ccucuacuuu aacauggagg cacuugcugu gacaugacaa aaauaagugc uccauguuu	60	
25	gagugugg	68	
30	<210> 282 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 282		
	gcuucgcucc ccuccgccuu cucuueccgg uucuuuccgg agucgggaaa agcuggguug	60	
	agagggcgaa aaaggaugag gu	82	
35			
40	<210> 283 <211> 59 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 283		
	uuggccuccu aagccagga uuguggguuc gaguccacc cgggguaaag aaaggccga 59		
45	<210> 284 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 284		

ES 2 557 411 T3

	uugguacuug gagagaggug guccguggcg cguucgcuu auuuauaggcg cacauuacac	60
	ggucgaccuc uuugcaguau cuaauc	86
5	<210> 285 <211> 83 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 285	
	cugacuauugc cuccccgcau ccccuagggc auugguguaa agcuggagac ccacugcccc	60
10	aggugcugcu gggggguugua guc	83
15	<210> 286 <211> 98 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 286	
	auacagugcu ugguuccuag uaggugucca guaaguguu gugacauau uuguuuauug	60
20	aggaccuccu aucaaucaag cacugugcua ggcucugg	98
25	<210> 287 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 287	
	cucaucuguc uguugggug gaggcagggc cuuugugaag gcggguggug cucagaucgc	60
30	cucugggccc uuccuccagc cccgagggcg auuca	95
35	<210> 288 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 288	
	uggagugggg gggcaggagg ggcucagggg gaaagugcau acagccccug gccucucug	60
40	cccuuccguc ccug	75
45	<210> 289 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 289	
	cuuuggcgau cacugccucu cugggccugu gucuuaggcu cugcaagauc aaccgagcaa	60
	agcacacggc cugcagagag gcagcgcucu gcc	94

ES 2 557 411 T3

5	<210> 290 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 290		
		gaguuuugguu uuguuugggu 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 aaaauguuu gucauaaac guuuuucauu	60
		auugcuccug accuccucuc auuugcuaua uuca	94
20	<210> 292 <211> 93 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 292		
		guagucagua guuggggggu gggaacggcu ucauacagga guugaugcac aguuauccag	60
		cuccuauaug augccuuucu ucauccccuu caa	93
30	<210> 293 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 293		
		ucuccaacia uauccuggug cugagugaug acucagggca cuccagcauc agugauuuug	60
		uugaaga	67
40	<210> 294 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 294		
		cggggcggcc gcucuccug uccuccagga gcucacgugu gccugccugu gagcgccucg	60
45		acgacagagc cggegcugc eccagugucu gcgc	94
	<210> 295 <211> 95 <212> ARN		

ES 2 557 411 T3

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

ES 2 557 411 T3

	aaaaggugga uauuccuucu auguuuangu uauuuauuggu uaaacauaga ggaaaaucca	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	
	guggggccuca aauguggagc acuaauucuga uguccaagug gaaagugcug cgacauuuga	60
40	gcgucac	67
45	<210> 305 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 305	

ES 2 557 411 T3

	gggauacuca aaaugggggc gcuuuccuuu uugucuguac uggaagugc uucgauuuug	60
	ggguguccc	69
5	<210> 306 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 306	
	uacaucggcc auuauauac aaccugauaa guguuauagc acuuaucaga uuguauugua	60
10	auugucugug ua	72
15	<210> 307 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 307	
	auggagcugc ucacccugug ggccucaaau guggaggaac uauucugaug uccaagugga	60
20	aagugcugcg acuuugagc gucaccggug acgcccatau ca	102
25	<210> 308 <211> 101 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 308	
	gcaucccuc agccuguggc acucaaacug ugsgggcacu uucugcucuc uggugaaagu	60
30	gccgccaucu uuugaguguu accgcuugag aagacucaac c	101
35	<210> 309 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 309	
	cgaggagcuc auacugggau acucaaaaug gggggcguu cccuuuuguc uguuacuggg	60
40	aagugcuucg auuuuggggg gucccuguuu gaguagggca uc	102
45	<210> 310 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 310 ugagguagua gguuguauag uu 22	
	<210> 311 <211> 22	

	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 311 ugagguagua gguugugugg uu	22
	<210> 312	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 312 ugagguagua gguuguauagg uu	22
15	<210> 313	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 313 agagguagua gguugcauag u	21
	<210> 314	
	<211> 21	
25	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 314 ugagguagga gguuguauag u	21
30	<210> 315	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 315 ugagguagua gauuguauag uu	22
	<210> 316	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 316 ugagguagua guuguacag u	21
	<210> 317	
	<211> 19	
	<212> ARN	
50	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 317 ugagguagua guuugugcu	19
55	<210> 318	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 318 uggaauaгаа agaaguaugu a	21
	<210> 319	
	<211> 21	
65	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	

<400> 319
 uggaagacua gugauuuugu u 21

5

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

10

<400> 320
 ucuuugguua ucuagcugua uga 23

15

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

20

<400> 321
 uaaagcuaga uaaccgaaag u 21

25

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

30

<400> 322
 uaccuguag auccgaauiu gug 23

35

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

40

<400> 323
 uaccuguag aaccgaauiu gu 22

45

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

50

<400> 324
 uagcagcaca uaaugguuug ug 22

55

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

60

<400> 325
 uagcagcaca ucaugguuuu ca 22

65

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

<400> 326
 uagcagcacg uaaaauugg cg 22

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

<400> 327

caaagugcuu acagugcagg uagu 24
 <210> 328
 <211> 20
 5 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 328
 acugcaguga aggcacuugu 20
 10 <210> 329
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 329
 uaaggugcau cuagugcaga ua 22
 <210> 330
 20 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 330
 25 ugugcaaauc uaugcaaaac uga 23
 <210> 331
 <211> 23
 <212> ARN
 30 <213> *Homo sapiens*
 <400> 331
 ugugcaaauc caugcaaaac uga 23
 35 <210> 332
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 332
 uaaagugcuu auagugcagg ua 22
 <210> 333
 <211> 22
 45 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 333
 uagcuuauca gacugauguu ga 22
 50 <210> 334
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 55 <400> 334
 aagcugccag uugaagaacu gu 22
 <210> 335
 60 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 335
 65 aucacauugc cagggauuuc c 21

ES 2 557 411 T3

<210> 336
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 336
 aucacauugc cagggauuac cac 23
 <210> 337
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 10
 <400> 337
 uggcucaguu cagcaggaac ag 22
 <210> 338
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 20
 <400> 338
 cauugcacuu gucucggucu ga 22
 <210> 339
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <400> 339
 uucaaguaau ccaggauagg cu 22
 <210> 340
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30
 <400> 340
 uucaaguaau ucaggauagg u 21
 <210> 341
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 341
 uucacagugg cuaaguuccg cc 22
 <210> 342
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40
 <400> 342
 uucacagugg cuaaguucug 20
 <210> 343
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 343
 aaggagcuca cagucuauug ag 22
 <210> 344
 <211> 22

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 344
 5 cuagcaccau cugaaaucgg uu 22

 <210> 345
 <211> 20
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 345
 uagcaccauu ugaaaucagu 20

 <210> 346
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 346
 20 uagcaccauu ugaaaucggu ua 22

 <210> 347
 <211> 23
 <212> ARN
 25 <213> *Homo sapiens*

 <400> 347
 30 uguaaacauc cucgacugga age 23

 <210> 348
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 348
 cuuucagucg gauguugca gc 22

 <210> 349
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 349
 45 uguaaacauc cuacacucag c 21

 <210> 350
 <211> 23
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 350
 uguaaacauc cuacacucuc age 23

 <210> 351
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 351
 60 uguaaacauc cccgacugga ag 22

 <210> 352
 <211> 20
 <212> ARN
 65 <213> *Homo sapiens*

<400> 352
 uguaaacauc cuugacugga 20

5 <210> 353
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 353
 ggcaagaugc uggcauagcu g 21

15 <210> 354
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 354
 uauugcacau uacuaaguug c 21

25 <210> 355
 <211> 19
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 355
 gugcaugua guugcauug 19

35 <210> 356
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 356
 uggcaguguc uuagcugguu gu 22

45 <210> 357
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 357
 aggcaguguc auuagcugau ug 22

55 <210> 358
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 358
 aggcagugua guuagcugau ug 22

65 <210> 359
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 359
 uauugcacuu gucccggccu gu 22

<210> 360
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 360

aaagugcugu ucgugcaggu ag 22

5 <210> 361
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

10 <400> 361
uucaacgggu auuuauugag ca 22

15 <210> 362
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

20 <400> 362
uuuggcacua gcacauuuuu gc 22

25 <210> 363
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

30 <400> 363
ugagguagua aguuguauug uu 22

35 <210> 364
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

40 <400> 364
aaccguaga uccgaucuug ug 22

45 <210> 365
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

50 <400> 365
caccguaga accgaccuug cg 22

55 <210> 366
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

60 <400> 366
uacaguacug ugauaacuga ag 22

65 <210> 367
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

70 <400> 367
uacaguacug ugauaacuga ag 22

75 <210> 368
<211> 23
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

80 <400> 368
agcagcauug uacagggcua uga 23

ES 2 557 411 T3

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

5
<400> 369
ucaaaugcuc agacuccugu 20

10
<210> 370
<211> 24
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

15
<400> 370
aaaagugcuu acagucagg uagc 24

20
<210> 371
<211> 21
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

<400> 371
uaaagugcug acagucaga u 21

25
<210> 372
<211> 23
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

30
<400> 372
agcagcauug uacagggcua uca 23

35
<210> 373
<211> 23
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

<400> 373
uggaguguga caaugguguu ugu 23

40
<210> 374
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

45
<400> 374
uuaaggcacg cggugaaugc ca 22

50
<210> 375
<211> 23
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

<400> 375
ucccugagac ccuuuaaccu gug 23

60
<210> 376
<211> 22
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

<400> 376
ucccugagac ccuaacuugu ga 22

65
<210> 377
<211> 21

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 377
 5 cauuuuuacu uuugguacgc g 21

 <210> 378
 <211> 21
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 378
 ucguaccgug aguaauaaug c 21

 15 <210> 379
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 20 <400> 379
 ucggauccgu cugagcuugg cu 22

 <210> 380
 <211> 22
 25 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 380
 30 ucacagugaa ccggucucuu uu 22

 <210> 381
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 381
 ucacagugaa ccggucucuu uc 22

 <210> 382
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40
 <400> 382
 45 cuuuuugcgg ucugggcuug c 21

 <210> 383
 <211> 20
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 383
 cagugcaaug uuaaaagggc 20

 55 <210> 384
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 60 <400> 384
 cagugcaaug augaaagggc au 22

 <210> 385
 <211> 22
 <212> ARN
 65 <213> *Homo sapiens*

<400> 385
 uaacagucua cagccauggu cg 22

5 <210> 386
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 386
 uugguccccu ucaaccagcu gu 22

15 <210> 387
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 387
 uugguccccu ucaaccagcu a 21

25 <210> 388
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 388
 ugugacuggu ugaccagagg g 21

30 <210> 389
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 389
 uauggcuuuu uauuccuaug uga 23

40 <210> 390
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 390
 uauggcuuuu cauuccuaug ug 22

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

50 <400> 391
 acuccauuug uuuugaugau gga 23

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

60 <400> 392
 uauugcuuaa gaauacgcu ag 22

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

65 <400> 393

agcugguguu gugaauc 17
 <210> 394
 <211> 18
 5 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 394
 ucuacagugc acgugucu 18
 10 <210> 395
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 395
 agugguuuuu cccuauggua g 21
 20 <210> 396
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 396
 aacacugucu gguaaagaug g 21
 30 <210> 397
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 397
 uguaguguuu ccuacuuuau gga 23
 35 <210> 398
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 398
 cauaaaguag aaagcacuac 20
 45 <210> 399
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 399
 ugagaugaag cacuguagcu ca 22
 50 <210> 400
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 55 <400> 400
 uacaguauag augauguacu ag 22
 60 <210> 401
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 65 <400> 401
 guccaguuuu cccaggauc ccuu 24

<210> 402
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 402
 ugagaacuga auuccauggg uu 22
 10
 <210> 403
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 403
 guguguggaa augcuucugc 20
 20
 <210> 404
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 404
 ucagugcacu acagaacuuu gu 22
 25
 <210> 405
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30
 <400> 405
 ucagugcauc acagaacuuu gu 22
 35
 <210> 406
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 406
 ucuggcuccg ugucuucacu cc 22
 40
 <210> 407
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45
 <400> 407
 ucuccaacc cuuguaccag ug 22
 50
 <210> 408
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 55
 <400> 408
 acuagacuga agcuccuuga gg 22
 60
 <210> 409
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 409
 ucagugcaug acagaacuug g 21
 65
 <210> 410
 <211> 20

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 410
 5 uugcauaguc acaaaaguga 20

 <210> 411
 <211> 22
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 411
 uagguuaucc guguugccuu cg 22

 15 <210> 412
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 20 <400> 412
 aaucauacac gguugaccua uu 22

 <210> 413
 <211> 22
 25 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 413
 30 uuaaugcuaa ucgugauagg gg 22

 <210> 414
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 414
 aacauucaac gcugucggug agu 23

 <210> 415
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40
 <400> 415
 45 aacauucauu gcugucggug gguu 24

 <210> 416
 <211> 22
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 416
 aacauucaac cugucgguga gu 22

 55 <210> 417
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 60 <400> 417
 uuuggcaaug guagaacuca ca 22

 <210> 418
 <211> 21
 <212> ARN
 65 <213> *Homo sapiens*

<400> 418
 ugguucuaga cuugccaacu a 21

5 <210> 419
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 419
 uauggcacug guagaauuca cug 23

15 <210> 420
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 420
 uggacggaga acugauaagg gu 22

25 <210> 421
 <211> 18
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 421
 uggagagaaa ggcaguuc 18

35 <210> 422
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 422
 caaagaauuc uccuuuggg cuu 23

45 <210> 423
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 423
 ucgugucuug uguugcagcc g 21

55 <210> 424
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 424
 caucccuugc augguggagg gu 22

65 <210> 425
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 425
 gugccuacug agcugauauc agu 23

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

<400> 426

ugauauguuu gauauuuag gu 22
 <210> 427
 <211> 22
 5 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 427
 caacggauc ccaaaagcag cu 22
 10 <210> 428
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 428
 cugaccuaug aauugacagc c 21
 <210> 429
 20 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 429
 25 aacuggccua caaagucca g 21
 <210> 430
 <211> 22
 <212> ARN
 30 <213> *Homo sapiens*
 <400> 430
 uguaacagca acuccaugug ga 22
 35 <210> 431
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 431
 uagcagcaca gaaauauugg c 21
 <210> 432
 <211> 21
 <212> ARN
 45 <213> *Homo sapiens*
 <400> 432
 uagguaguuu cauguuguug g 21
 50 <210> 433
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 55 <400> 433
 uagguaguuu ccuguuguug g 21
 <210> 434
 <211> 22
 <212> ARN
 60 <213> *Homo sapiens*
 <400> 434
 65 uucaccaccu ucuccacca gc 22

ES 2 557 411 T3

<210> 435
 <211> 19
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 435
 gguccagagg ggagauagg 19
 <210> 436
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 10
 <400> 436
 cccaguguuc agacuaccug uuc 23
 <210> 437
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 20
 <400> 437
 uacaguaguc ugacauugg uu 22
 <210> 438
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <400> 438
 cccaguguuu agacuaucug uuc 23
 <210> 439
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 439
 uaacacuguc ugguaacgau gu 22
 <210> 440
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40
 <400> 440
 cucuaauacu gccugguaau gaug 24
 <210> 441
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50
 <400> 441
 aauacugccg gguaaugaug ga 22
 <210> 442
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 60
 <400> 442
 agagguaauag ggcaugggaa ga 22
 <210> 443
 <211> 22

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 443
 5 gugaaauguu uaggaccacu ag 22

 <210> 444
 <211> 22
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 444
 uucccuuugu cauccuauugc cu 22

 15 <210> 445
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 20 <400> 445
 uccuucuuuc caccggaguc ug 22

 <210> 446
 <211> 22
 25 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 446
 30 uggaauguaa ggaagugugu gg 22

 <210> 447
 <211> 22
 <212> ARN
 35 <213> *Homo sapiens*

 <400> 447
 auaagacgag caaaaagcuu gu 22

 40 <210> 448
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 448
 45 cugugcgugu gacagcggcu g 21

 <210> 449
 <211> 22
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 449
 uucccuuugu cauccuucgc cu 22

 55 <210> 450
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 60 <400> 450
 uaacagucuc cagucacggc c 21

 <210> 451
 <211> 22
 65 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

ES 2 557 411 T3

<400> 451
 accaucgacc guugauugua cc 22

5 <210> 452
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 452
 acagcaggca cagacaggca g 21

15 <210> 453
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 453
 augaccuaug aauugacaga c 21

25 <210> 454
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 454
 uaaucucagc uggcaacugu g 21

35 <210> 455
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 455
 uacugcauca ggaacugauu ggau 24

45 <210> 456
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 456
 uugugcuuga ucuaaccaug u 21

55 <210> 457
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 457
 ugauugucca aacgcaauuc u 21

65 <210> 458
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 458
 ccacaccgua ucugacacuu u 21

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

<400> 459

agcuacauug ucugcugggu uuc 23
 <210> 460
 <211> 24
 5 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 460
 agcuacaucu ggcuacuggg ucuc 24
 10 <210> 461
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 461
 ugucaguuug ucaaaauacc c 21
 <210> 462
 20 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 462
 25 caagucacua gugguuccgu uua 23
 <210> 463
 <211> 21
 <212> ARN
 30 <213> *Homo sapiens*
 <400> 463
 agggccccc cucauuccug u 21
 35 <210> 464
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 464
 ugguuuaccg ucccacauac au 22
 <210> 465
 <211> 23
 45 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 465
 50 cagugcaua guauugucaa age 23
 <210> 466
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 55 <400> 466
 uaagugcuuc cauguuuugg uga 23
 <210> 467
 60 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 467
 65 acuuuaacau ggaagugcuu ucu 23

<210> 468
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 468
 uaagugcuuc cauguuuuag uag 23
 <210> 469
 10 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 469
 15 uuuacaugg gguaccugc ug 22
 <210> 470
 <211> 23
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 470
 uaagugcuuc cauguucag ugg 23
 25 <210> 471
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 471
 uaagugcuuc cauguugag ugu 23
 <210> 472
 <211> 23
 <212> ARN
 35 <213> *Homo sapiens*
 <400> 472
 aaaagcuggg uugagagggc gaa 23
 40 <210> 473
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 473
 uaagccaggg auugugguu c 21
 <210> 474
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 474
 gcacauuaca cggucgaccu cu 22
 <210> 475
 <211> 23
 <212> ARN
 60 <213> *Homo sapiens*
 <400> 475
 cgcaucccu agggcauugg ugu 23
 65 <210> 476
 <211> 22

ES 2 557 411 T3

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 476
 5 ccacugcccc aggugcugcu gg 22

 <210> 477
 <211> 21
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 477
 ccuaguaggu guccaguaag u 21

 15 <210> 478
 <211> 20
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 20 <400> 478
 ccucugggcc cuuccuccag 20

 <210> 479
 <211> 22
 25 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 479
 cuggccucu cugccuucc gu 22

 30 <210> 480
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 35 <400> 480
 gcaaagcaca cggccugcag aga 23

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

 40 <400> 481
 45 gccccugggc cuauccuaga a 21

 <210> 482
 <211> 23
 <212> ARN
 50 <213> *Homo sapiens*

 <400> 482
 ucaagagcaa uaacgaaaaa ugu 23

 55 <210> 483
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 60 <400> 483
 uccagcuccu auaugaugcc uuu 23

 <210> 484
 <211> 23
 <212> ARN
 65 <213> *Homo sapiens*

<400> 484
 uccagcauca gugauuuugu uga 23

5 <210> 485
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

10 <400> 485
 ucccuguccu ccaggagcuc a 21

15 <210> 486
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 486
 uccgucucag uuacuuuaua gcc 23

25 <210> 487
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 487
 ucucacacag aaaucgcacc cguc 24

35 <210> 488
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 488
 ugcugacucc uaguccaggg c 21

45 <210> 489
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

50 <400> 489
 ugucugcccg caugccugcc ucu 23

55 <210> 490
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

60 <400> 490
 aauugcacuu uagcaauggu ga 22

65 <210> 491
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 491
 acauagagga aaauccacgu uu 22

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

<400> 492

aauaaauacau gguugaucuu u 21
 <210> 493
 <211> 21
 5 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 493
 gccugcuggg guggaaccug g 21
 10 <210> 494
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 494
 gugccgccau cuuuugagug u 21
 <210> 495
 20 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 495
 25 aaagugcugc gacauugag cgu 23
 <210> 496
 <211> 22
 <212> ARN
 30 <213> *Homo sapiens*
 <400> 496
 acuaaaaug ggggcgcuu cc 22
 35 <210> 497
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 497
 gaagugcuuc gauuuugggg ugu 23
 <210> 498
 <211> 22
 <212> ARN
 45 <213> *Homo sapiens*
 <400> 498
 uuauaaauaca accugauaag ug 22
 50

REIVINDICACIONES

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

5 medir el nivel de al menos un primer producto génico de miR-25 en una muestra de ensayo del sujeto, en donde una alteración en el nivel del primer producto génico de miR-25 en la muestra de ensayo, en relación al nivel del primer producto génico de miR-25 en una muestra de control, es indicativo de que el sujeto tiene cáncer de estómago.

10 2. El método de la reivindicación 1, en el que el primer producto génico de miR y al menos un producto génico de iR adicional se usa para diagnosticar cáncer de estómago, seleccionándose el al menos un producto génico de miR adicional del grupo que consiste en:

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

3. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer de estómago de acuerdo con la reivindicación 1, en el que medir el nivel de el al menos un producto génico de miR-25 comprende:

20 (1) transcribir de forma inversa:

 al menos ARN de miR-25 de una muestra obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de miR-25; y

25 (2) hibridar:

 el al menos un oligodesoxinucleótido diana de ARN de miR-25 a una micromatriz que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN que incluyen al menos un oligonucleótido sonda específico de ARN de miR-25 para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra de ensayo. y en donde determinar si hay una alteración en el nivel del primer producto génico de miR-25 en la muestra de ensayo, en relación con el nivel del primer producto génico de miR-25 en una muestra de control comprende:

35 (3) comparar:

 el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con un perfil de hibridación generado de una muestra de control, en donde una alteración de la señal de miR-25 es indicativo de que el sujeto tiene cáncer de estómago.

40

Mama Colon Pulmón Páncreas Próstata Estómago

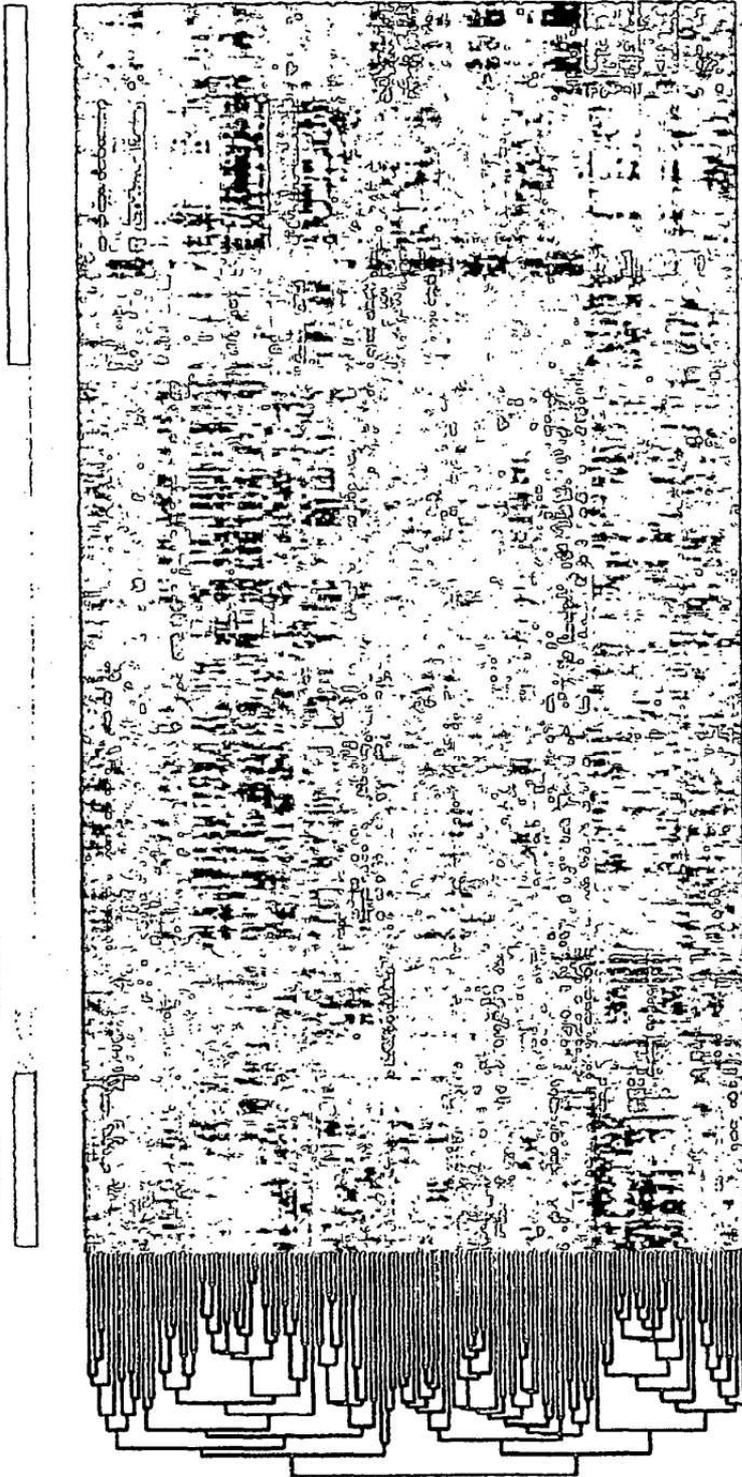


FIG. 1

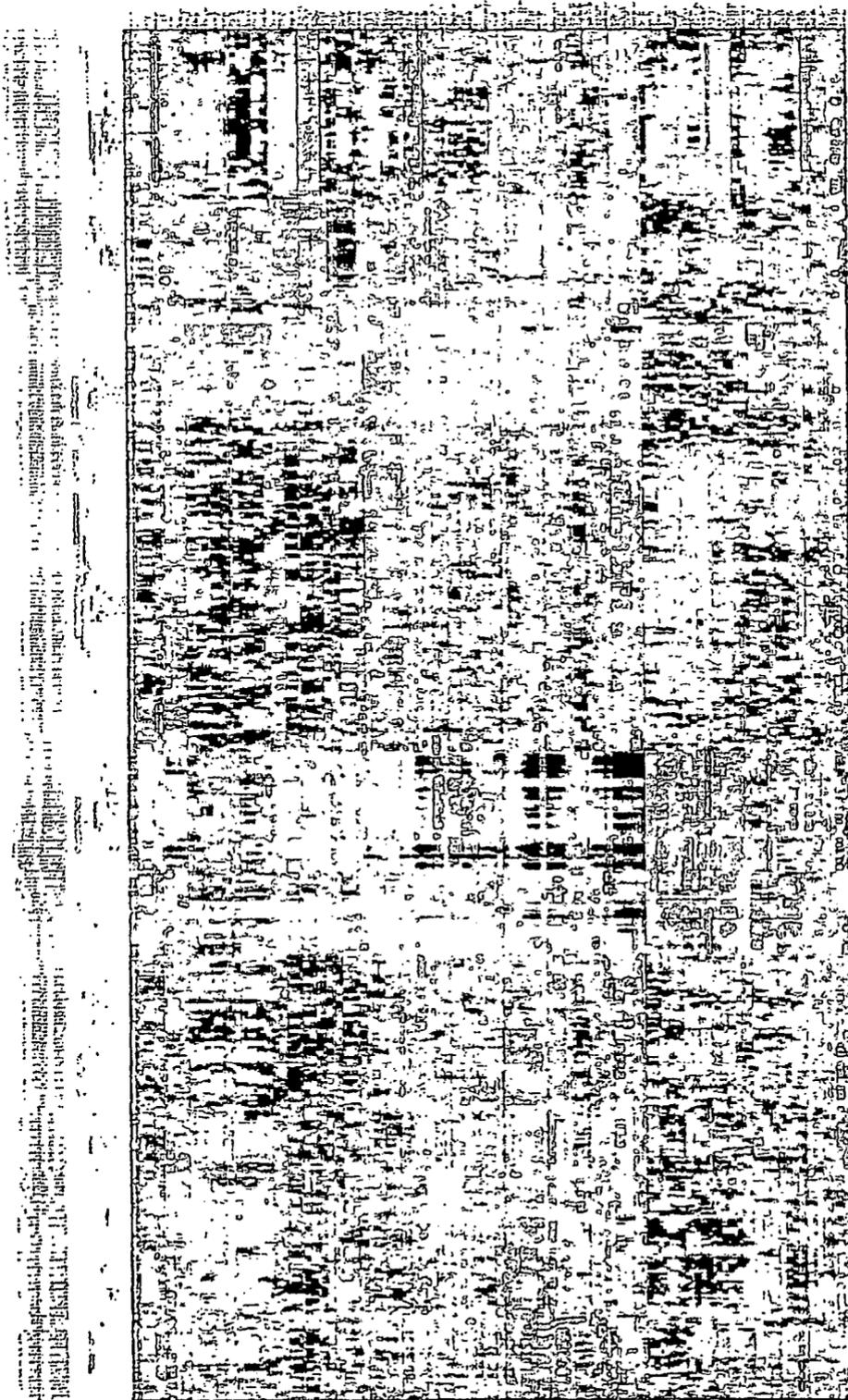


FIG. 2

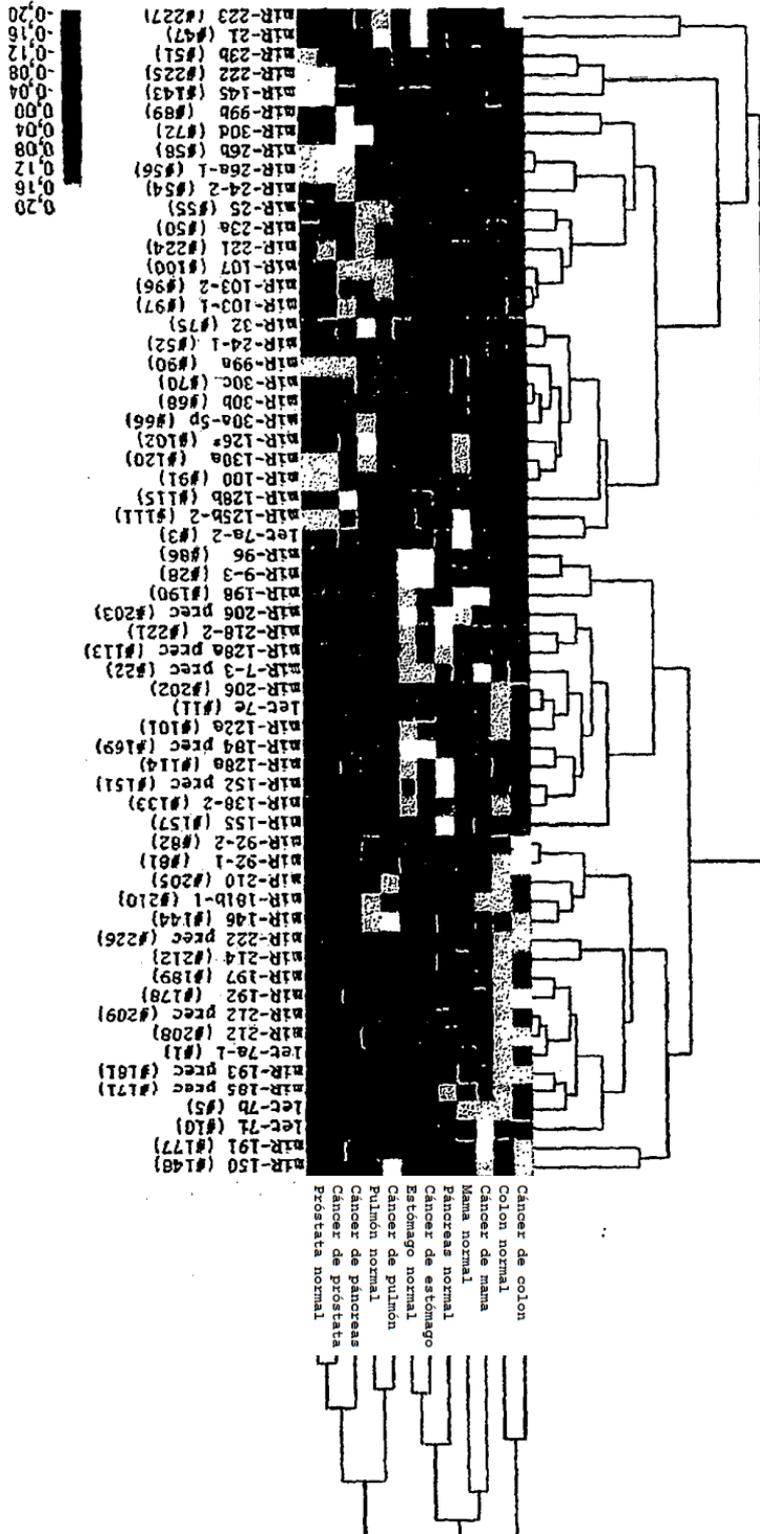


FIG. 3

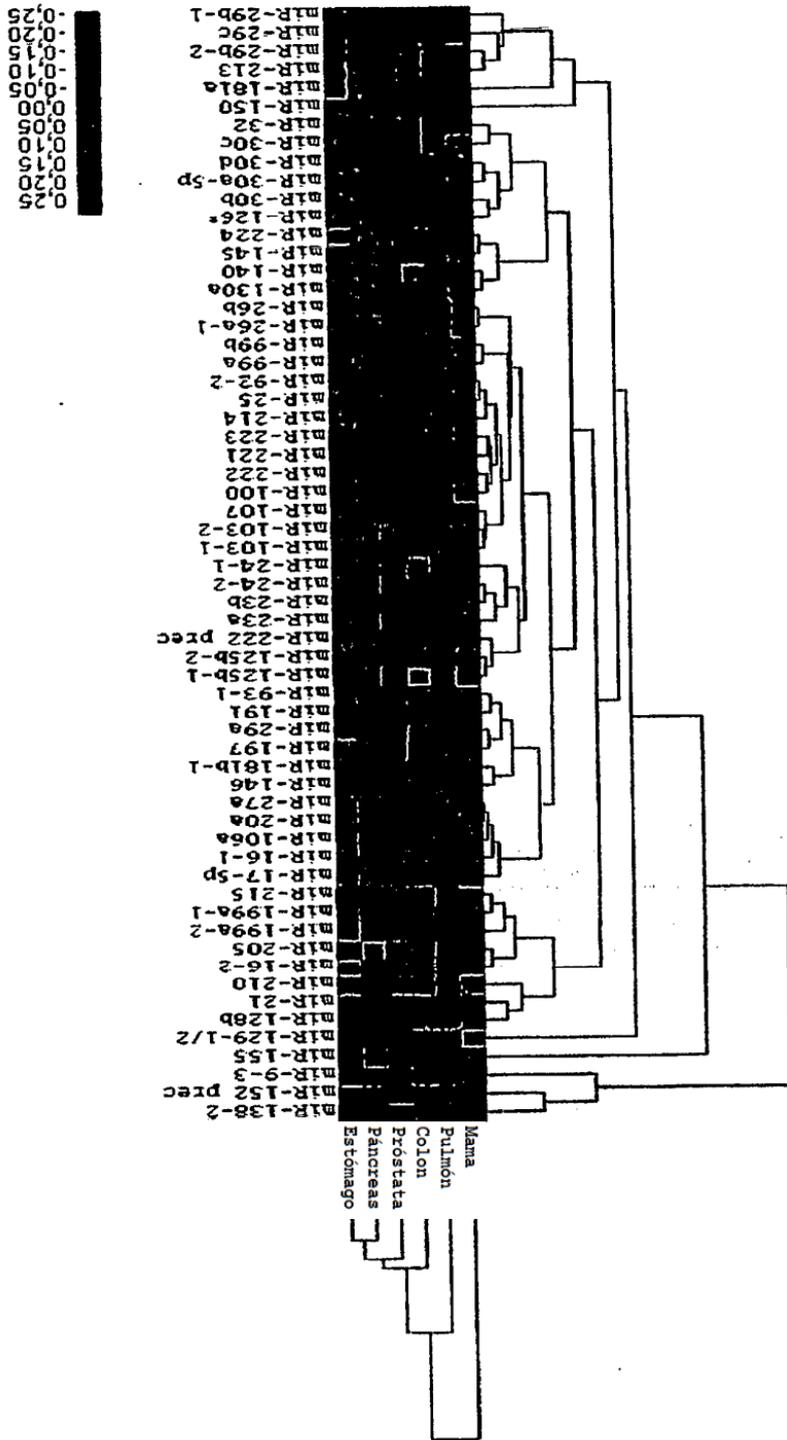


FIG. 4

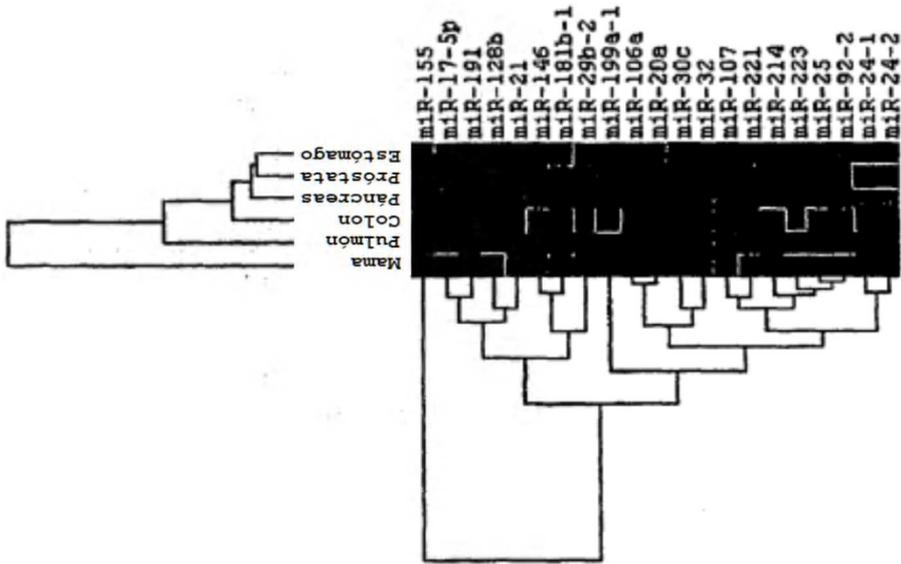


FIG. 5

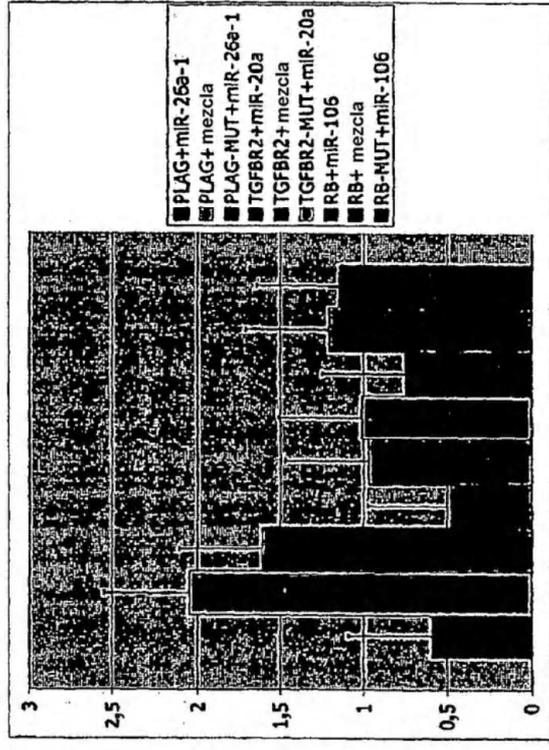
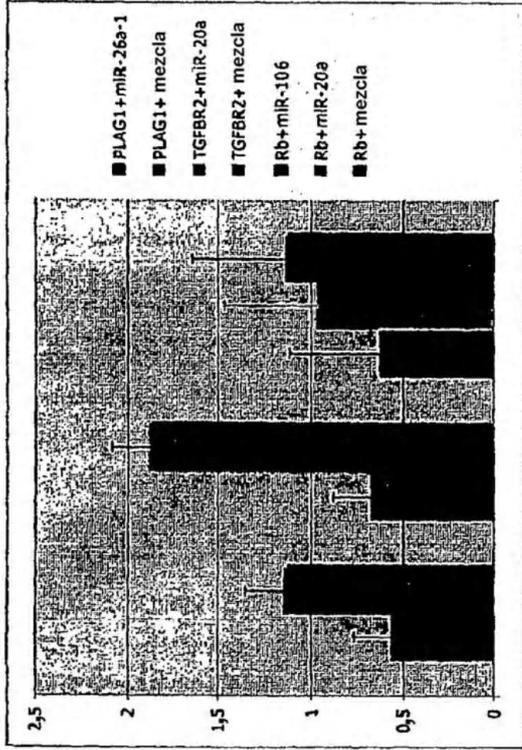


FIG. 6A

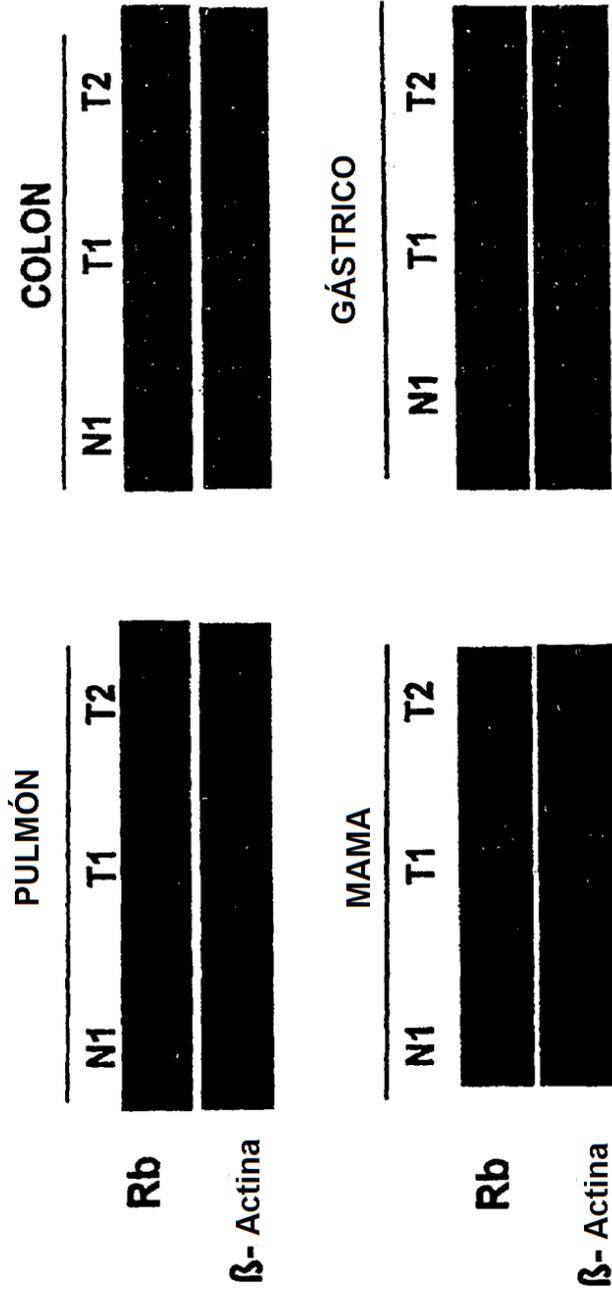


FIG. 6B

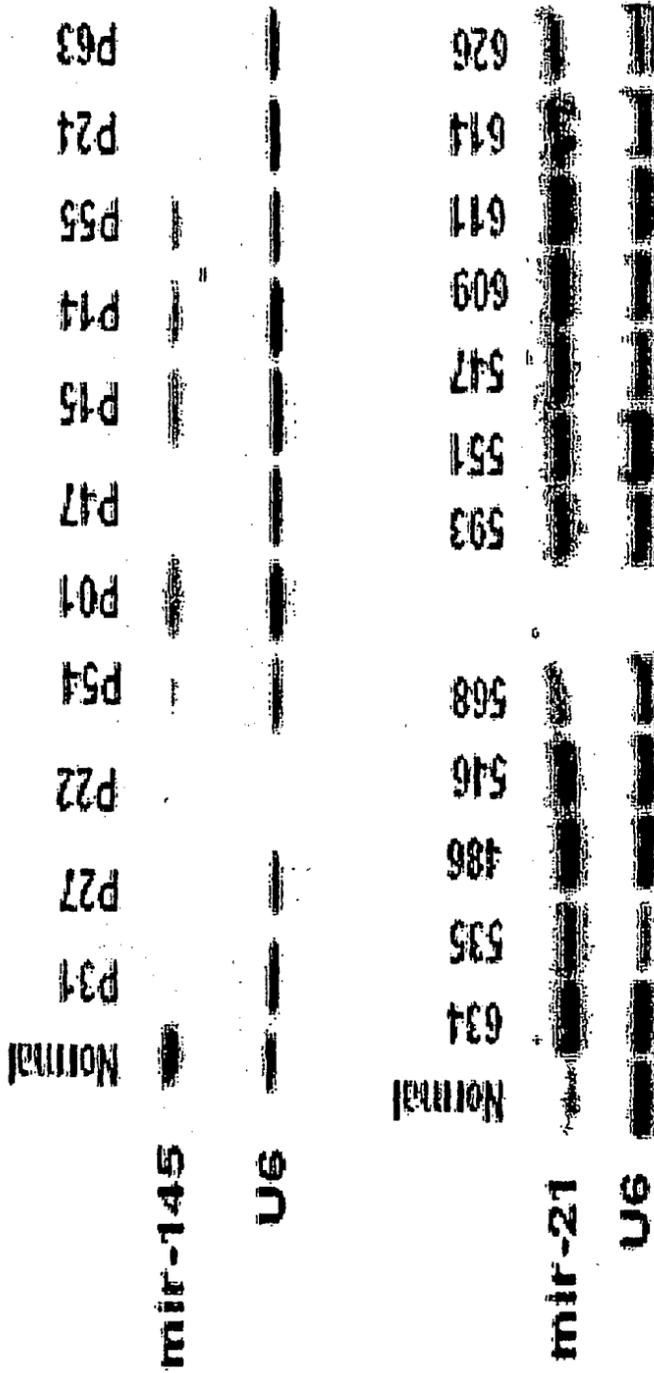


FIG. 7

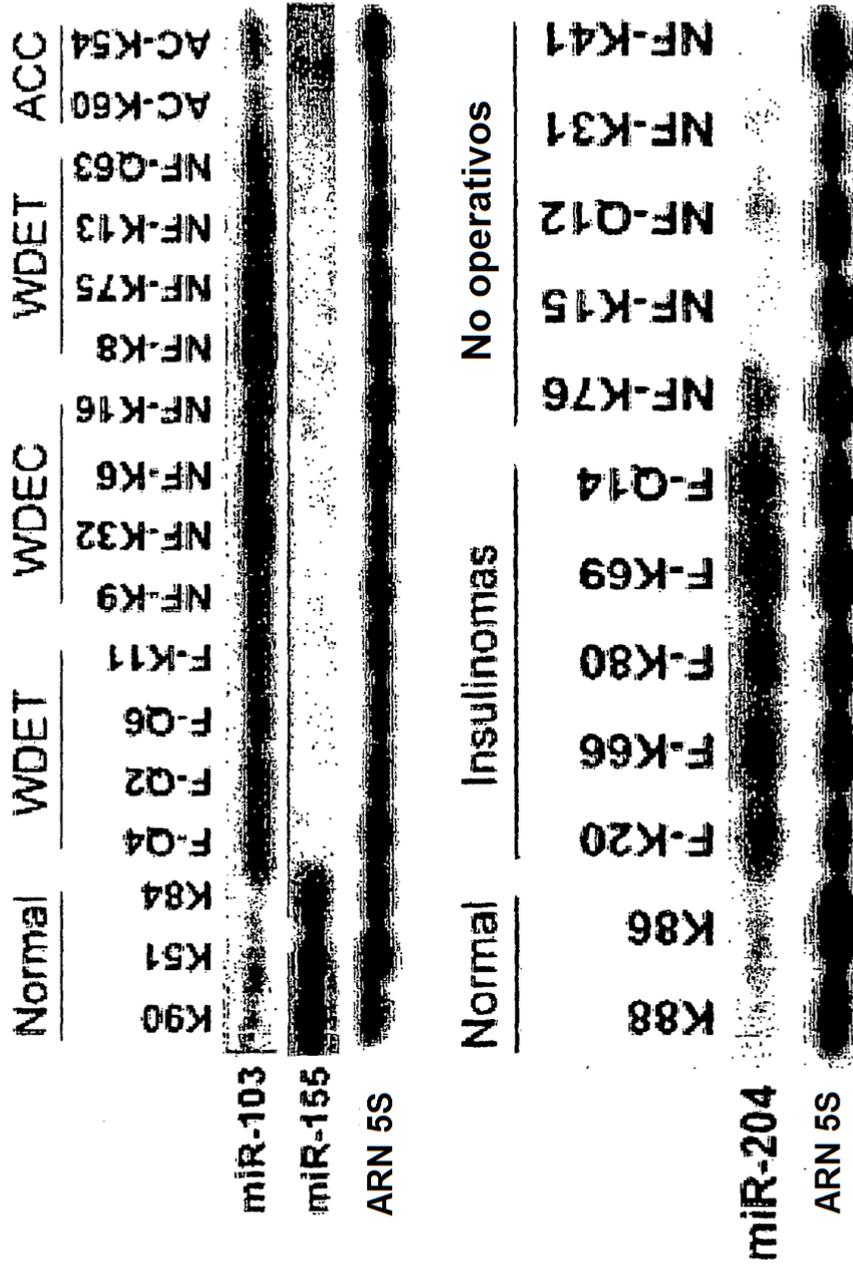


FIG. 8