

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 604 324**

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 12154343 (3)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.10.2016** EP 2484783

54 Título: **Métodos y composiciones basadas 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:

06.03.2017

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 2 604 324 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 basadas en microARN para el diagnóstico y el tratamiento de cánceres sólidos

5 Antecedentes de la invención

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

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

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

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

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

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

65

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.

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.

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.

Los microARN son una clase de ARN no codificantes, pequeños que controlan la expresión génica que hibridan con, y desencadenan 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 citométrico para la elaboración de perfiles de expresión de miARN para presentar un análisis de expresión sistemático de 217 miARN de mamífero procedentes de 334 muestras, incluyendo múltiples cánceres humanos. Lu J *et al.* observaron que los perfiles de miARN reflejaban el linaje de 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 de manera satisfactoria tumores poco diferenciados usando perfiles de expresión de miARN.

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.

He *et al.*, investigaron el papel de los genes de miARN en el carcinoma tiroideo papilar (PTC). He *et al.* identificaron un conjunto de cinco miARN para distinguir entre PTC y tiroides normal, tres de los cuales estaban regulados positivamente en el PTC (miR-221, miR-222 y miR-146).

Ciafrè *et al.* examinaron los niveles de expresión global de 245 miARN en el glioblastoma multiforme. Ciafrè *et al.* identificaron un grupo de cinco miARN que están alterados de manera significativa en el glioblastoma, incluyendo miR-221, que está regulado positivamente en el glioblastoma. La Tabla 1 de Ciafrè *et al.* también identifica a miR-221 como regulado negativamente en la leucemia linfocítica crónica.

Felli *et al.* divugan que, en la eritropoyesis, la regulación negativa de miR-221 y miR-222 desbloquea la producción de la proteína kit a nivel traduccional, dando por lo tanto lugar a la expansión de células E tempranas.

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

Sumario de la invención

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

5 En consecuencia, la invención abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer de colon, páncreas o estómago. De acuerdo con los métodos de la invención, el nivel de al menos un producto génico de miR-21 en una muestra de ensayo del sujeto se compara con el nivel del producto génico de miR correspondiente en una muestra de control. Una alteración (por ejemplo, un aumento, una reducción) en el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo, en relación con el nivel del producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene cáncer de colon, páncreas o estómago.

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 una 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.

20 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 una 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 una 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 una 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 una 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.

35 En una realización, se usa miR-221 y al menos un producto génico de miR en una 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-9-3 y combinaciones de los mismos para diagnosticar el cáncer de colon.

40 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 se usa para diagnosticar cáncer de pulmón.

45 También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer pancreático y el al menos un producto génico de miR medido en una 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.

50 En una realización relacionada, se usa el miR-221 y al menos un producto génico de miR seleccionado 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-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 para diagnosticar el cáncer pancreático.

60 También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR en una 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 otra realización, el miR-221 y al menos un producto génico de miR adicional seleccionado del grupo que consiste en miR-223, miR-21, miR-218-2, miR-103-2, miR-92-2, miR-25, miR-136, miR-191, miR-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

5

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

10 génico de miR-221 se mide por transcripción inversa de al menos ARN de miR-221 de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de miR-221, hibridando el oligodesoxinucleótido diana con una microserie 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

15 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-221 en la muestra de ensayo en relación con la muestra de control es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer de colon, páncreas o estómago. Los oligonucleótidos diana pueden hibridarse con una microserie 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,

20 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

25 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

30 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

35 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,

40 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,

45 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

50 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

60 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.

65

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

El archivo de la patente o de la solicitud contiene al menos un dibujo a color. Se proporcionarán copias de esta patente o publicación de solicitud de patente con dibujos a color por la Oficina tras su solicitud y pago de la tasa correspondiente.

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

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

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

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

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

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

proteína de cáncer permiten la regulación del cáncer por microARN. La 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

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

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 de síntesis (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>	CACUGUGGGGAUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUUAGGGUCAC ACCCACCACUGGGAGAUAAUAUACAUCUACUGUCUUUCCU AACGUG	1
<i>let-7a-2</i>	AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUUACAUCAAG GGAGAUAAUCUGUACAGCCUCCUAGCUUCCU	2
<i>let-7a-3</i>	GGGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUUGGGGCUCUGCCCUGCU AUGGGAUAAUAUACAUCUACUGUCUUUCCU	3

ES 2 604 324 T3

<i>let-7a-4</i>	GUGACUGCAUGCUCCAGGU <u>UAGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU</u> UAGAAUACACAAGGGAGAUAAACUGUACAGCCUCCUAGCUUU CCUUGGGUCUUGCACUAAACAAC	4
<i>let-7b</i>	GGCGGGGUGAG <u>GUAGUAGGUUGUGUGGUUUCAGGGCAGUGA</u> UGUUGCCCCUCGGAAGAUAAACUAUACAACCUACUGCCUCCCC UG	5
<i>let-7c</i>	GCAUCCGGGU <u>UAGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUUUAGAGUUACA</u> CCUUGGGAGUUAACUGUACAACCUUCUAGCUUUCCUUGGAGC	6
<i>let-7d</i>	CCUAGGAAGAG <u>GUAGUAGGUUGCAUAGUUUAGGGCAGGGAU</u> UUUGCCCACAAGGAGGUAACUAUACGACCUGCUGCCUUUCUU AGG	7
<i>let-7d-v1</i>	CUAGGAAGAG <u>GUAGUAGUUUGCAUAGUUUAGGGCAAAGAU</u> UUUGCCCACAAGUAGUUAGCUAUACGACCUGCAGCCUUUUGU AG	8
<i>let-7d-v2</i>	CUGGCUGAG <u>GUAGUAGUUUGUCUGUUGGUCGGGUUGUGACA</u> UUGCCCGCUGUGGAGAUAAACUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUA G	9
<i>let-7e</i>	CCCGGGCUGAG <u>GUAGGAGGUUGUAUAGUUGAGGAGGACACCC</u> AAGGAGAUACUAUACGGCCUCCUAGCUUUCCCCAGG	10
<i>let-7f-1</i>	UCAGAGUGAG <u>GUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGGUAGUGAU</u> UUUACCCUGUUCAGGAGAUAAACUAUACAAUCUAUUGCCUCC CUGA	11
<i>let-7f-2-1</i>	CUGUGGGAUGAG <u>GUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGGUAGUG</u> AUUUUACCCUGUUCAGGAGAUAAACUAUACAAUCUAUUGCCUU CCCUGA	12
<i>let-7f-2-2</i>	CUGUGGGAUGAG <u>GUAGUAGAUUGUAUAGUUUUAGGGUCAUA</u> CCCCAUCUUGGAGAUAAACUAUACAGUCUACUGUCUUUCCCAC GG	13
<i>let-7g</i>	UUGCCUGAUUCCAGGCUGAG <u>GUAGUAGUUUGUACAGUUUGAG</u> GGUCUAUGAUACCACCCGGUACAGGAGAUAAACUGUACAGGCC ACUGCCUUGCCAGGAACAGCGCGC	14
<i>let-7i</i>	CUGGCUGAG <u>GUAGUAGUUUGUCUGUUGGUCGGGUUGUGACA</u> UUGCCCGCUGUGGAGAUAAACUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUA G	15
<i>miR-1b-1-1</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCAUAUGAACA UACAAUGC <u>UAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAG</u> GC	16

<i>miR-1b-1-2</i>	CAGCUAACAACUAGUAAUACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCU UUAUGUACCCAUUAUGAACAUACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGA <u>AGUAUGUAUUUUUGGUAGGCAAUA</u>	17
<i>miR-1b-2</i>	GCCUGCUUGGGAAACAUAUCUUCUUUAUAUGCCCAUAUGGACC UGCUAAGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCAGGCCGG G	18
<i>miR-1b</i>	UGGGAAACAUAUCUUCUUUAUAUGCCCAUAUGGACCUGCUAAG CUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCA	19
<i>miR-1d</i>	ACCUACUCAGAGUACAUAUCUUCUUUAUGUACCCAUUAUGAACAA UACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAG GC	20
<i>miR-7-1a</i>	UGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUUGU <u>UGUUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAACAAUCACAGUCUGCCA</u> UAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACA	21
<i>miR-7-1b</i>	UUGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUUG <u>UUGUUUUUAGAUAAACUAAAUCGACAACAAUCACAGUCUGCC</u> AUAUGGCACAGGCCAUGCCUCUACAG	22
<i>miR-7-2</i>	CUGGAUACAGAGUGGACCGGCUGGCCCCCAUCUGGAAGACUAG <u>UGAUUUUUGUUGUUGUCUACUGCGCUCACAAACAAUCCCAG</u> UCUACCUAUUGGUGCCAGCCAUCGCA	23
<i>miR-7-3</i>	AGAUUAGAGUGGCUGUGGUCUAGUGCUGUGUGGAAGACUAGU <u>GAUUUUUGUUGUUCUGAUGUACUACGACAACAAGUCACAGCCG</u> GCCUCAUAGCGCAGACUCCCUUCGAC	24
<i>miR-9-1</i>	CGGGGUUGGUUGUUAUCUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGG UGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAUAA CCCCA	25
<i>miR-9-2</i>	GGAAGCGAGUUGUUAUCUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGU AUUGGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAACUCCU UCA	26
<i>miR-9-3</i>	GGAGGCCCGUUUCUCUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGC CACAGAGCCGUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAGAAAUGA UUCUCA	27
<i>miR-10a</i>	GAUCUGUCUGUCUUCUGUAUAUACCCUGUAGAUCCGAAUUUG <u>UGUAAGGAAUUUUGUGGUCACAAAUUCGUAUCUAGGGGAAUA</u> UGUAGUUGACAUAACACUCCGCUCU	28

ES 2 604 324 T3

<i>miR-10b</i>	CCAGAGGUUGUAACGUUGUCUAUUAU <u>UACCCUGUAGAACCGA</u> AUUUGUGUGGUAUCCGUAUAGUCACAGAUUCGAUUCUAGGGG AAUUAUAGGUCGAUGCAAAAACUUCA	29
<i>miR-15a-2</i>	GCGCGAAUGUGUGUUUAAAAAAAAUAAAACCUUGGAGUAAAG <u>UAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUGAAAAGGUGCAGGC</u> CAUAUUGUGCUGCCUCAAAAUAUC	30
<i>miR-15a</i>	CCUUGGAGUAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUG AAAAGGUGCAGGCCAUUUGUGCUGCCUCAAAAUAACAAGG	31
<i>miR-15b-1</i>	CUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAUGCUACAGUCAAGAUGC GAAUCAUUAUUUGCUGCUCUAG	32
<i>miR-15b-2</i>	UUGAGGCCUUAAGUACUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAU GCUACAGUCAAGAUGCGAAUCAUUAUUUGCUGCUCUAGAAAU UUAAGGAAAUUCAU	33
<i>miR-16-1</i>	GUCAGCAGUGCCU <u>UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUAAGAU</u> UCUAAAAUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGUAAGG UUGAC	34
<i>miR-16-2</i>	GUUCCACUCUAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUAGUGAAAUAU AUUUAAACACCAAUAUUACUGUGCUGCUUUAGUGUGAC	35
<i>miR-16-13</i>	GCAGUGCCU <u>UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUAAGAUUCUA</u> AAAUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGUAAGGU	36
<i>miR-17</i>	GUCAGAAUAAUGUCA <u>AAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAUUAU</u> GUGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGAC	37
<i>miR-18</i>	UGUUCU <u>AAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAUUAGC</u> AUCUACUGCCCUAAGUGCUCUUCUGGCA	38
<i>miR-18-13</i>	UUUUUGUUCU <u>AAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAU</u> UAGCAUCUACUGCCCUAAGUGCUCUUCUGGCAUAAGAA	39
<i>miR-19a</i>	GCAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAA UGUAGUUGUGCAAUUCUAUGCAAACUGAUGGUGGCCUGC	40

<i>miR-19a-13</i>	CAGUCCUCUGUUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAAU GUAGUUGUGCAA <u>AUCUAUGCAAACUGAUGGUGGCCUG</u>	41
<i>miR-19b-1</i>	CACUGUUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUG UGAU <u>AUUCUGCUGUGCAAUCCAUGCAAACUGACUGUGGUA</u> GUG	42
<i>miR-19b-2</i>	ACAUUGC <u>UACUACAAU</u> AGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGC GUAUAUAUGUAUAUGUGGC <u>UGUGCAAUCCAUGCAAACUGA</u> UUGUGAUAAUGU	43
<i>miR-19b-13</i>	UUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUGUGAUA UUCUGCUGUGCAA <u>UCCAUGCAAACUGACUGUGGUAG</u>	44
<i>miR-19b-X</i>	UUACA <u>AUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGCGUAUAUAUGU</u> AUAUGUGGCUGUGCAA <u>UCCAUGCAAACUGAUUGUGAU</u>	45
<i>miR-20 (miR-20a)</i>	GUAGCACUAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUUAGUUAUC UACUGCAUUAUGAGCACUAAAGUACUGC	46
<i>miR-21</i>	UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCA UGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA	47
<i>miR-21-17</i>	ACCUUGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAU CUCAUGGCAACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA <u>UUUG</u>	48
<i>miR-22</i>	GGCUGAGCCGCAGUAGUUCUUCAGUGGCAAGCUUU <u>AUGUCCU</u> GACCCAGCUAAAGCUGCCAGUUGAAGAACUGUUGCC <u>CUCUGC</u> C	49
<i>miR-23a</i>	GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUGUCAC AAAUCA <u>CAUUGCCAGGGAUUCCA</u> ACCGACC	50
<i>miR-23b</i>	CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGGU <u>UCCUGGCAUGCUGAUUUG</u> UGACUUAAGAUUAAA <u>UACAUUGCCAGGGAUUACCACGCAA</u> CCACGACCUUGGC	51
<i>miR-23-19</i>	CCACGGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUG UCACAA <u>AUCACAUUGCCAGGGAUUCCA</u> ACCGACCCUGA	52

ES 2 604 324 T3

<i>miR-24-1</i>	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAU <u>AUCAGUUCUCAUUUUACACA</u> CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	53
<i>miR-24-2</i>	CUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGUUGGUUUG UGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGG	54
<i>miR-24-19</i>	CCCUGGGCUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGU UGGUUUGUGUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGGG	55
<i>miR-24-9</i>	CCCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAU <u>AUCAGUUCUCAUUUUACA</u> CACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGCAUC	56
<i>miR-25</i>	GGCCAGUGUUGAGAGGGCGGAGACUUGGGCAAUUGCUGGACGC UGCCCUGGGCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACAGUGCCGGCC	57
<i>miR-26a</i>	AGGCCGUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAG GUCCCAAUGGCCUAUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGCGGGC CU	58
<i>miR-26a-1</i>	GUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAGGUCCC AAUGGGCCUAUUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGC	59
<i>miR-26a-2</i>	GGCUGUGGCUGGAU <u>UCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUUUCCA</u> UCUGUGAGGCCUAUUCUUGAUUACUUGUUUCUGGAGGCAGCU	60
<i>miR-26b</i>	CCGGGACCCAGUUCAAGUAAUUCAGGAUAGGUUGUGUGCUGU CCAGCCUGUUCUCCA <u>UACUUGGCUCGGGGACCGG</u>	61
<i>miR-27a</i>	CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACC AAGUCGUGUACACAGUGGCUAAGU <u>UCCGCCCCCAG</u>	62
<i>miR-27b-1</i>	AGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAGUGAUUGGUUCC GCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACCU	63
<i>miR-27b-2</i>	ACCUCUCUAACAAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAG UGAUUGGUUCCGCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACC UGAAGAGAAGGUG	64

ES 2 604 324 T3

<i>miR-27-19</i>	CCUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACAC CAAGUCGUGUUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCCAGG	65
<i>miR-28</i>	GGUCCUUGCCCUCAAGGAGCUCACAGUCUAUUGAGUUACCUU UCUGACUUUCCCACUAGAUUGUGAGCUCCUGGAGGGCAGGCA CU	66
<i>miR-29a-2</i>	CCUUCUGUGACCCCUUAGAGGAUGACUGAUUUCUUUUGGUGU UCAGAGUCAAUUAUAAUUUCUAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA UAAUGAUUGGGGAAGAGCACCAUG	67
<i>miR-29a</i>	AUGACUGAUUUCUUUUGGUGUUCAGAGUCAAUUAUAAUUUCU AGCACCAUCUGAAAUCGGUUAU	68
<i>miR-29b-1</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUAUGGUGGUUUAGAUUUAAAUAG UGAUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGGG	69
<i>miR-29b-2</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCUUAGAUUUUUCCAU CUUUGUAUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUUUAGGAG	70
<i>miR-29c</i>	ACCACUGGCCCAUCUCUUACACAGGCUGACCGAUUUCUCCUG GUGUUCAGAGUCUGUUUUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCGGU UAUGAUGUAGGGGGAAAAGCAGCAGC	71
<i>miR-30a</i>	GCGACUGUAAACAUCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCACAGA UGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGC	72
<i>miR-30b-1</i>	AUGUAAACAUCCUACACUCAGCUGAAUACAUGGAUUGGCUG GGAGGUGGAUGUUUACGU	73
<i>miR-30b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUCAUGUAAACAUCCUACACUCAGCUGUAA UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	74
<i>miR-30c</i>	AGAUACUGUAAACAUCCUACACUCUCAGCUGUGGAAAGUAAG AAAGCUGGGAGAAGGCUGUUUACUCUUUCU	75
<i>miR-30d</i>	GUUGUUGUAAACAUCCCCGACUGGAAGCUGUAAGACACAGCU AAGCUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGCUAC	76

<i>miR-30e</i>	CUGUAAACA <u>UCCUUGACUGGAAGCUGUA</u> AAGGUGUUCAGAGGA GCUUUCAGUCGGAUGUUUACAG	77
<i>miR-31</i>	GGAGAGGAGGCAAGAUGCUGGCAUAGCUGUUGAACUGGGAAC CUGC <u>UAUGCCAACAUAUUGCCAUCUU</u> UCC	78
<i>miR-32</i>	GGAGAU <u>AUUGCACA</u> UUACUAAGUUGCAUGUUGUCACGGCCUC AAUGCAAUUUAGUGUGUGUGAUUUUUC	79
<i>miR-33b</i>	GGGGGCCGAGAGAGGGCGGGCGGCCCGCGGUGCAUUGCUGUU GCAUUGCACGUGUGUGAGGGCGGGUGCAGUGCCUCGGCAGUGC AGCCCGGAGCCGGCCCCUGGCACCAC	80
<i>miR-33b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUC <u>AUGUAAAACA</u> UCCUACACUCAGCUGUAA UACAUGGAUUGGCUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACU UGGA	81
<i>miR-33</i>	CUGUGGUGCAUUGUAGUUGCAUUGCAUGUUCUGGUGGUACCC AUGCAAUGUUUCCACAGUGCAUCACAG	82
<i>miR-34-a</i>	GGCCAGCUGUGAGUGUUUCUUUGGCAGUGUCUUAGCUGGUUG UUUGUGAGCAAUAGUAAGGAAGCAAUCAGCAAGUAUACUGCCC UAGAAGUGCUGCACGUUGUGGGGCC	83
<i>miR-34-b</i>	GUGCUCGGUUUGUAGGCAGUGUCAUAGCUGAUUGUACUGUG GUGGUUACAAUCACUAA <u>CUCCACUGCCAUC</u> AAAACAAGGCAC	84
<i>miR-34-c</i>	AGUCUAGUUACUAGGCAGUGUAGUUAGCUGAUUGC <u>UAAUAGU</u> ACCAAUCACUAA <u>CCACACGGCCAGGU</u> AAAAAGAUU	85
<i>miR-91-13</i>	UCAGAAUAAUGUCAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAU <u>AUG</u> UGCAUCUACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGA	86
<i>miR-92-1</i>	CUUUCUACACAGGUUGGG <u>AUCGGUUGCAA</u> UAGCUGUGUUUCUG UAUGGUAAUUGCACUUGUCCCCGGCCUGUUGAGUUUGG	87
<i>miR-92-2</i>	UCAUCCCUGGGUGGGGAUUUGUUGCAU <u>UACUUGUGUUCUA</u> UA UAAAGUAUUGCACUUGUCCCCGGCCUGUGGAAGA	88

<i>miR-93-1 (miR-93-2)</i>	CUGGGGGCUCCA <u>AAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAGUGUGAUUAC</u> CCAACCUACUGCUGAGCUAGCACU <u>UCCCGAGCCCCCGG</u>	89
<i>miR-95-4</i>	AACACAGUGGGCACUCAAAUAAAUGUCUGUUGAAUUGAAAUGC GUUACA <u>UCAAACGGGUUUUAUUGAGCACCCACUCUGUG</u>	90
<i>miR-96-7</i>	UGGCCGAUUUUGGCACUAGCACAUUUUUGCUUGUGUCUCUCC GCUCUGAGCAAUCAUGUGCAGUGCCA <u>AUAUGGGAAA</u>	91
<i>miR-97-6 (miR-30*)</i>	GUGAGCGACUGUAAACA <u>UCCUCGACUGGAAGCUGUGAAGCCA</u> CAGAUGGGCUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGCCUACU	92
<i>miR-98</i>	GUGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUUGGGGUAGGGAUUUAG GCCCAAUUAGAAGAUAA <u>CUAUACAACUACUACUUCC</u>	93
<i>miR-99b</i>	GGCACCCACCCGUAGA <u>ACCGACCUUGCGGGCCUUCGCCGCAC</u> ACAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCGUGUC	94
<i>miR-99a</i>	CCCAUUGGCAUAAACCCGUAGA <u>UCCGAUCUUGUGGUGAAGUG</u> GACCGCACAAGCUCGCUUCUAUGGGUCUGUGUCAGUGUG	95
<i>miR-100-1/2</i>	AAGAGAGAAGAUUUUGAGGCCUGUUGCCACA <u>AAACCCGUAGAU</u> <u>CCGAACUUGUGGUUUAGUCCGCACAAGCUUGUAUCUUAUAGG</u> UAUGUGUCUGUUAGGCAAUCUCAC	96
<i>miR-100-11</i>	CCUGUUGCCACA <u>AAACCCGUAGA</u> UCCGAACUUGUGGUUUAGU CCGCACAAGCUUGUAUCUUAUAGGUAUGUGUCUGUUAGG	97
<i>miR-101-1/2</i>	AGGCUGCCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCU <u>AU</u> UCUAAAGGUACAGUACUGUGAUAA <u>CUGAAGGAUGGCAGCCA</u> CUUACCUUCCAUCAGAGGAGCCUCAC	98
<i>miR-101</i>	UCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCCA <u>UUCUAAAGGUACAG</u> <u>UACUGUGAUAAACUGA</u>	99
<i>miR-101-1</i>	UGCCUGGCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCU <u>AUUCUA</u> AAGGUACAGUACUGUGAUAA <u>CUGAAGGAUGGCA</u>	100

ES 2 604 324 T3

<i>miR-101-2</i>	ACUGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUAUCU GAAAGGUACAGUACUGUGAUAACUGAAGAAUGGUGGU	101
<i>miR-101-9</i>	UGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUAUCUGA AAGGUACAGUACUGUGAUAACUGAAGAAUGGUG	102
<i>miR-102-1</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCCUUAGAUIUUUCCAU CUUUGUAUCUAGCACCAUUGAAAUCAGUGUUUUAGGAG	103
<i>miR-102-7.1 (miR-102-7.2)</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUUAUGGUGGUUUAGAUIUUAAAUAG UGAUUGUCUAGCACCAUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGGG	104
<i>miR-103-2</i>	UUGUGCUUUCAGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUAGCAUUCA GGUCAAGCAACAUUGUACAGGGCUAUGAAAGAACCA	105
<i>miR-103-1</i>	UACUGCCCUCGGCUUCUUACAGUGCUGCCUUGUUGCAUAUG GAUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGAAGGCAUUG	106
<i>miR-104-17</i>	AAAUGUCAGACAGCCCAUCGACUGGUGUUGCCAUGAGAUUCA ACAGUCAACAUCAGUCUGAUAAGCUACCCGACAAGG	107
<i>miR-105-1</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU CAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUACGGUGUCUA	108
<i>miR-105-2</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCU UAUGCACCACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUAUGGUGUCUA	109
<i>miR-106-a</i>	CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUIACAGUGCAGGUAGCUUUUUG AGAUCUACUGCAAUGUAAGCACUUCUACAUUACCAUGG	110
<i>miR-106-b</i>	CCUGCCGGGGCUAAAAGUGCUGACAGUGCAGAUAGUGGUCCUC UCCGUGCUACCGCACUGUGGGUACUUGCUGCUCCAGCAGG	111
<i>miR-107</i>	CUCUCUGCUUUCAGCUUCUUACAGUGUUGCCUUGUGGCAUG GAGUUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCAAAGCACAGA	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 AACUAUCAAACGCCAUUAUCACACUAAAUAAGCUACUGCUAGG C	115
<i>miR-122a-2</i>	AGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCCAAACUAUCAA ACGCCAUUAUCACACUAAAUAAGCU	116
<i>miR-123</i>	ACAUUAUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUCAAACUCGU ACCGUGAGUAAUAUGCGC	117
<i>miR-124a-1</i>	AGGCCUCUCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAAUG UCCAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAAUGGGGCU G	118
<i>miR-124a-2</i>	AUCAAGAUUAGAGGCUCUGCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCU UGAUUUAAUGUCAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAG AGCGGAGCCUACGGCUGCACUUGAAG	119
<i>miR-124a-3</i>	UGAGGGCCCCUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAAUG UCUAUACAAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAGAGGGCGCC UCC	120
<i>miR-124a</i>	CUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCUAUACAA UUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG	121
<i>miR-124b</i>	CUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCAUACAAU UAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAG	122
<i>miR-125a-1</i>	UGCCAGUCUCUAGGUUCCUGAGACCCUUUAACCUUGUGAGGAC AUCCAGGGUCACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGGCGUCUGG CC	123
<i>miR-125a-2</i>	GGUCCUGAGACCCUUUAACCUUGUGAGGACAUCCAGGGUCAC AGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGG	124

<i>miR-125b-1</i>	UGC <u>GC</u> UCCUCUCAGU <u>CCCUGAGACCCUAACUUGUGAUGUUUA</u> CCGUUUAAA <u>UCCACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCUGCGAGUCG</u> UGCU	125
<i>miR-125b-2</i>	ACCAGACUUU <u>UCCUAGUCCCUGAGACCCUAACUUGUGAGGUA</u> UUUUAGUAACAUCACAAGUCAGGCUCUUGGGACCUAGGCGGA GGGA	126
<i>miR-126-1</i>	CGCUGGCGACGGGACA <u>UUUUACUUUUGGUACGCGCUGUGAC</u> ACUUCAAA <u>CUCGUACCGUGAGUAAUAAUGCGCCGUCCACGGC</u> A	127
<i>miR-126-2</i>	<u>ACAUUAUUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUCAAACUCGU</u> <u>ACCGUGAGUAAUAAUGCGC</u>	128
<i>miR-127-1</i>	UGUGAUCACUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUG AUUCAGAAAGAUCA <u>UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG</u> AAGUCUCAUCAUC	129
<i>miR-127-2</i>	CCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAAAGAUCA UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGG	130
<i>miR-128a</i>	UGAGCUGUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUU ACAUUUCUCACAGUGAACC <u>GGUCUCUUUUUCAGCUGCUUC</u>	131
<i>miR-128b</i>	GCCCGGCAGCCACUGUGCAGUGGGAAGGGGGCCGAUACACU GUACGAGAGUGAGUAGCAGGUCUCACAGUGAACC <u>GGUCUCUU</u> <u>UCCCUACUGUGUCACACUCCUAAUGG</u>	132
<i>miR-128</i>	GUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUUACAUUU CUCACAGUGAACC <u>GGUCUCUUUUUCAGC</u>	133
<i>miR-129-1</i>	UGGAUCUUUU <u>UGCGGUCUGGGCUUGCUGU</u> UCCUCUCAAAGU AGUCAGGAAGCCCUAACCCCAAAAAGUAUCUA	134
<i>miR-129-2</i>	UGCCCUUCGCGAAU <u>CUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGU</u> ACAU AACUCAAUAGCCGGAAGCCCUAACCCCAAAAAGCAUUUGCGG AGGGCG	135
<i>miR-130a</i>	UGCUGCUGGCCAGAGCUCUUUUCACAUUGUGCUACUGUCUGC ACCUGUCACUAGCAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAUUGGCCGUG UAGUG	136

ES 2 604 324 T3

<i>miR-131-1</i>	GCCAGGAGGCGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUG UAUGAGUGGUGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAG <u>UAAAAUAACCCCAUACACUGCGCAG</u>	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>	ACAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAUCCGU CUUCA AUGGAUUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGCUAUGCA UUGA	142
<i>miR-133a-2</i>	GGGAGCCAAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAA UCGACUGUCCAAUGGAUUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGC UGUGCAUUGAUGGCGCCG	143
<i>miR-133</i>	GCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAUCCGUUUCUCAAUGGA UUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGC	144
<i>miR-133b</i>	CCUCAGAAGAAAGAUGCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGA ACCAAGUCCGUCUCCUGAGAGGUUUGGUCCCCUUAACCAG <u>CUACAGCAGGGCUGGCAAUGCCCAGUCCUUGGAGA</u>	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

ES 2 604 324 T3

<i>miR-135a-1</i>	AGGCCUCGCUGUUCUCUAUGGCCUUUUUAUCCUAUGUGAUUC UACUGCUCACUCAUAUAGGGAUUGGAGCCGUGGGCGCACGGCG GGGACA	149
<i>miR-135a-2 (miR-135-2)</i>	AGAUAAAUUCACUCUAGUGC ^{UU} UAUGGCCUUUUUAUCCUAUG UGAUAGUAAUAAAGUCUCAUGUAGGGAUUGGAAGCCAUGAAAU ACAUUGUGAAAAUCA	150
<i>miR-135</i>	CUAUGGCCUUUUUAUCCUAUGUGAUUCUACUGCUCACUCAUA UAGGGAUUGGAGCCGUGG	151
<i>miR-135b</i>	CACUCUGCUGUGGCCUAUGGCCUUUUCAUCCUAUGUGAUUGC UGUCCCAAACUCAUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGGCUACAGUG AGGGGCGAGCUCC	152
<i>miR-136-1</i>	UGAGCCUCGGAGGACUCCA ^{UU} UGUUUGAUGAUGGAUUCUU AUGCUCCAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCUUCAGAGGGUUCU	153
<i>miR-136-2</i>	GAGGACUCCA ^{UU} UGUUUGAUGAUGGAUUCUUAUGCUCCAUC AUCGUCUCAAAUGAGUCUUC	154
<i>miR-137</i>	CUUCGGUGACGGGUAUUCUUGGGUGGAUAAUACGGAUUACGU UGUUAUUGCUUAAGAAUACGCGUAGUCGAGG	155
<i>miR-138-1</i>	CCCUGGCAUGGUGUGGGGGCAGCUGGUGUUGUGAAUCAGG CCGUUGCCAAUCAGAGAACGGCUACUUCACAACACCAGGGCC ACACCACACUACAGG	156
<i>miR-138-2</i>	CGUUGCUGCAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCG CAUCCUCUACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGUUGCAUCA	157
<i>miR-138</i>	CAGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCGACGAGCAGCGCAUCCUCU UACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGUUG	158
<i>miR-139</i>	GUGUAUUCUACAGUGCACGUGUCUCCAGUGUGGCUCGGAGGC UGGAGACGCGGCCCUUGUUGGAGUAAC	159
<i>miR-140</i>	UGUGUCUCUCUCUGUGUCCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGU AGGUUACGUCAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGAC AGGAUACCGGGGCACC	160

<i>miR-140as</i>	UCCUGCC <u>AGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUG</u> UUCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGGA	161
<i>miR-140s</i>	CCUGCC <u>AGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUGU</u> UCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGG	162
<i>miR-141-1</i>	CGGCCGGCCUGGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGU CUAAUUGUGAAGCUCCUA <u>ACACUGUCUGGUAAAGAUGGCUCC</u> CGGGUGGGUUC	163
<i>miR-141-2</i>	GGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUCUAAUUGUGAA GCUCCUAACACUGUCUGGUAAAGAUGGCC	164
<i>miR-142</i>	ACCCAUAAAGUAGAAAGCACUACUAACAGCACUGGAGGGUGU AGUGUUCCUACUUAUGGAUG	165
<i>miR-143-1</i>	GCGCAGCGCCUGUCUCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUC UCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGG AAGAGAGAAGUUGUUCUGCAGC	166
<i>miR-143-2</i>	CCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGA GAUGAAGCACUGUAGCUCAGG	167
<i>miR-144-1</i>	UGGGGCCUGGCUGGGAUUCAUCAUACUGUAAGUUUGCG AUGAGACACUACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUCCGGGCACCC CC	168
<i>miR-144-2</i>	GGCUGGGAUUCAUCAUACUGUAAGUUUGCGAUGAGACAC UACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUC	169
<i>miR-145-1</i>	CACCUUGUCCUCACGGUCCAGUUUCCAGGAAUCCCUAGA UGCUAAGAUGGGGAUCCUGGAAAUACUGUUCUUGAGGUCAU GGUU	170
<i>miR-145-2</i>	CUCACGGUCCAGUUUCCAGGAAUCCCUAGAUGCUAAGAU GGGGAUCCUGGAAAUACUGUUCUUGAG	171
<i>miR-146-1</i>	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUUGAGAACUGAAUCCAUGGGUU GUGUCAGUGUCAGACCUCUGAAAUUCAGUUCUUCAGCUGGGA UAUCUCUGUCAUCGU	172

<i>miR-146-2</i>	AGCUUUGAGAACUGAAU <u>UCCAUGGGUUGUGUCAGUGUCAGAC</u> CUGUGAAAUUCAGUUCUUCAGCU	173
<i>miR-147</i>	AAUCUAAAGACAACA <u>UUCUGCACACACACCAGACUAUGGAA</u> GCCAGUGUGUGGAAAUGCUUCUGCUAGAUU	174
<i>miR-148a</i> (<i>miR-148</i>)	GAGGCAAAGUUCUGAGACACUCCGACUCUGAGUAUGAUAGAA GUCAGUGCACUACAGAACUUGUCUC	175
<i>miR-148b</i>	CAAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUC AGGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAUCACAGAACUUUGU CUCGAAAGCUUUCUA	176
<i>miR-148b-pequeño</i>	AAGCACGAUUAGCAUUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUCA GGCUGUGGCUCUCUGAAAGUCAGUGCAU	177
<i>miR-149-1</i>	GCCGGCGCCCGAGCUCUGGCUC <u>CCGUGUCUUCACUCCCGUGCUU</u> GUCCGAGGAGGGAGGGAGGGACGGGGGCUGUGCUGGGGCAGC UGGA	178
<i>miR-149-2</i>	GCUCUGGCUC <u>CCGUGUCUUCACUCCCGUGCUUGUCCGAGGAGG</u> GAGGGAGGGAC	179
<i>miR-150-1</i>	CUCCCCAUGGCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGC UCAGACCCUGGUACAGGCCUGGGGGACAGGGACCUGGGGAC	180
<i>miR-150-2</i>	CCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAGUGCUGGGCUCAGACCCUG GUACAGGCCUGGGGGACAGGG	181
<i>miR-151</i>	UUUCCUGCCUCGAGGAGCUCACAGUCUAGUAUGUCUCAUCC CCUACUAGACUGAAGCUCCUUGAGGACAGG	182
<i>miR-151-2</i>	CCUGUCCUCAAGGAGCUUCAGUCUAGUAGGGGAUGAGACAU CUAGACUGUGAGCUCCUCGAGGGCAGG	183
<i>miR-152-1</i>	UGUCCCCCGGCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGC UCUGGAGCAGUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCGGAAGGA CC	184

<i>miR-152-2</i>	GGCCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGCUCUGGAGCA GUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCCCGG	185
<i>miR-153-1-1</i>	CUCACAGCUGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUCUGCAGCUAGUAU UCUCACUCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGCAGG UGUGGC	186
<i>miR-153-1-2</i>	UCUCUCUCUCCCUCACAGCUGCCAGUGUCAUUGUCACAAAAG UGAUCAUUGGCAGGUGUGGCUCGUGCAUG	187
<i>miR-153-2-1</i>	AGCGGUGGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAU AUGAGCCCAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGAAACU GUG	188
<i>miR-153-2-2</i>	CAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAUAUGAGCCCA GUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUG	189
<i>miR-154-1</i>	GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUU UUGUGACGAAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUUCAGUACCAA	190
<i>miR-154-2</i>	GAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUUUAUUUGUGACGA AUCAUACACGGUUGACCUAUUUUU	191
<i>miR-155</i>	CUGUUA AUGCUAAUCGUGAUAGGGGUUUUUGCCUCCAACUGA CUCCUACAUAUUAGCAUUAACAG	192
<i>miR-156 = miR-157</i> <i>solapamiento con miR-141</i>	CCUAACACUGUCUGGUAAGAUGGCUCCCGGGUGGGUUCUCU CGGCAGUAACCUUCAGGGAGCCCUGAAGACCAUGGAGGAC	193
<i>miR-158-pequeño = miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAG CCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUCCAUAAGGUCA CAGGUAUGUUCGCCUCA AUGCCAGC	194
<i>miR-159-1-pequeño</i>	UCCCGCCCCUGUAACAGCAACUCCAUGUGGAAGUGCCCACUG GUUCCAGUGGGGCUCUGUUAUCUGGGGCGAGGGCCA	195
<i>miR-161-pequeño</i>	AAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGUGACUGGUC UGGGCUACGCUAUGCUGCGGGCGCUCGGG	196

<i>miR-163-1b-pequeño</i>	CAUUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCCACC CGGGGUAAAAGAAAGGCCGAAU	197
<i>miR-163-3-pequeño</i>	CCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCCACCUUGGGGUAGA GGUGAAAGUCCUUUUACGGAAUUUUUU	198
<i>miR-162</i>	CAAUGUCAGCAGUGCCU <u>UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCGUUA</u> AGAUUCUAAAUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGU AAGGUUGACCAUACUCUACAGUUG	199
<i>miR-175-pequeño</i> = <i>miR-224</i>	GGGCUUUCAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUGAUUGU GCAUUGUUUCAA <u>AAUUGGUGCCCUAGUGACUACAAAGCCC</u>	200
<i>miR-177-pequeño</i>	ACGCAAGUGUCCUAAGGUGAGCUCAGGGAGCACAGAAACCUC CAGUGGAACAGAAGGGCAAAGCUCAUU	201
<i>miR-180-pequeño</i>	CAUGUGUCACUUUCAGGUGGAGUUUCAAGAGUCCCUUCCUGG UUCACCGUCUCCUUUGCUCUCCACAAC	202
<i>miR-181a</i>	AGAAGGGCUAUCAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCCAAGGAACA <u>UUCAACGCUGUCGGUGAGUUUGGGAUUUGAAAAACCACUGA</u> CCGUUGACUGUACCUUGGGGUCCUUA	203
<i>miR-181b-1</i>	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUAAAAGGUCACAAUCAACA <u>UUC</u> <u>AUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA</u> CAAUGAAUGCAACUGUGGCCCCGCUU	204
<i>miR-181b-2</i>	CUGAUGGCUGCACUCAACA <u>UUAUUGCUGUCGGUGGGUUUGA</u> GUCUGAAUCAACUCACUGAUCAAUGAAUGCAAACUGCGGACC AAACA	205
<i>miR-181c</i>	CGGAAA <u>UUUGCCAAGGGUUUGGGGGAACA</u> UUAACCUGUCG <u>GUGAGUUUGGGCAGCUCAGGCAAACCAUCGACCGUUGAGUGG</u> ACCCUGAGGCCUGGAAUUGCCA <u>UCCU</u>	206
<i>miR-182-as</i>	GAGCUGCUUGCCUCCCCCGUUU <u>UUGGCAAUGGUAGAACUCA</u> <u>CACUGGUGAGGUAACAGGAUCCGGUGGUUCUAGACUUGCCAA</u> <u>CUAUGGGGCGAGGACUCAGCCGGCAC</u>	207
<i>miR-182</i>	UUUUUGGCAAUGGUAGAA <u>CUCACACUGGUGAGGUAACAGGAU</u> CCGGUGGUUCUAGACUUGCCAACUAUGG	208

<i>miR-183</i>	CCGCAGAGUGUGACUCCUGUUCUGUGUAUGGCACUGGUAGAA UUCACUGUGAACAGUCUCAGUCAGUGAAUUACCGAAGGGCCA UAAACAGAGCAGAGACAGAUCCACGA	209
<i>miR-184-1</i>	CCAGUCACGUCCCCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGAC UGUAAGUGUUGGACGGAGAACUGAUAAGGGUAGGUGAUUGA	210
<i>miR-184-2</i>	CCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGACUGUAAGUGUUG GACGGAGAACUGAUAAGGGUAGG	211
<i>miR-185-1</i>	AGGGGGCGAGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUUCUGAUGGUCC CCUCCCCAGGGGCUGGCUUCCUCUGGUCCUCCCCUCCA	212
<i>miR-185-2</i>	AGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUUCUGAUGGUCCCCUCCCCA GGGGCUGGCUUCCUCUGGUCCU	213
<i>miR-186-1</i>	UGCUGUAACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGG UUUUAUUUAAGCCCAAAGGUGAAUUUUUGGGAAGUUUGA GCU	214
<i>miR-186-2</i>	ACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGGUUUUUAUU UAAGCCCAAAGGUGAAUUUUUUGGGAAGU	215
<i>miR-187</i>	GGUCGGGCUCACCAUGACACAGUGUGAGACUCGGGCUACAAC ACAGGACCCGGGGCGCUGCUCUGACCCCUCGUGUCUUGUGUU GCAGCCGGAGGGACGCAGGUCCGCA	216
<i>miR-188-1</i>	UGCUCUCCUCUCUCACAUCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUU UCUGAAAACCCCUCCACAUGCAGGGUUUGCAGGAUGGCGAG CC	217
<i>miR-188-2</i>	UCUCACAUCCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUUUCUGAAAAC CCCUCCACAUGCAGGGUUUGCAGGA	218
<i>miR-189-1</i>	CUGUCGAUUGGACCCGCCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUAU CAGUUCUCAUUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGG AGUCGAGCCCUUGAGCAA	219
<i>miR-189-2</i>	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAUAUCAGUUCUCAUUUUACACA CUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAG	220

<i>miR-190-1</i>	UGCAGGCCUCUGUGUGAU <u>AUGUUUGAUUAUUAGGUUGUUAU</u> UUA <u>AUCCAACUAUAUAUCAAAACAUAU</u> UCCUACAGUGUCUUGC C	221
<i>miR-190-2</i>	CUGUGUGAU <u>AUGUUUGAUUAUUAGGUUGUUAUUUAAUCCA</u> ACUAUAUAUCAAAACAUAU <u>UCCUACAG</u>	222
<i>miR-191-1</i>	CGGCUGGACAGCGGGCAACGGAAUCCCAAAGCAGCUGUUGU CUCCAGAGCAU <u>UCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCUC</u> UCCUGCCU	223
<i>miR-191-2</i>	AGCGGGCAACGGAAUCCCAAAGCAGCUGUUGUCUCCAGAGC AU <u>UCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCU</u>	224
<i>miR-192-2/3</i>	CCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAGC <u>CAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAU</u> UCCAUAGGUCAC AGGUAUGUUCGCCUCA <u>AUGCCAG</u>	225
<i>miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAG <u>CCAGUGCUCUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAU</u> UCCAUAGGUCA CAGGUAUGUUCGCCUCA <u>AUGCCAGC</u>	226
<i>miR-193-1</i>	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGA GGGUGUCGGAUCAACUGGCCUACAAAGUCC <u>CAGUUCUCGGCC</u> CCCG	227
<i>miR-193-2</i>	GCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCAACUGG <u>CCUACAAAGUCC<u>CAGU</u></u>	228
<i>miR-194-1</i>	AUGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGU ACCAAUU <u>UCCAGUGGAGAUGCUGUACUUUGAUGGUUACCA</u> A	229
<i>miR-194-2</i>	GUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAAUUCCAGU GGAGAUGCUGUACUUUGAU	230
<i>miR-195-1</i>	AGCUUCCCUGGCUCUAGCAGCACAGAAUAUUGGCACAGGGA AGCGAGUCUGCCAAUAUUGGCUGUGCUGCUC <u>UCCAGGCAGGGUG</u> GUG	231
<i>miR-195-2</i>	<u>UAGCAGCACAGAAUAUUGGCACAGGGAAGCGAGUCUGCCAA</u> <u>UAUUGGCUGUGCUGCU</u>	232

<i>miR-196-1</i>	CUAGAGCUUGAAUUGGAACUGCUGAGUGAAU <u>UAGGUAGUUUC</u> <u>AUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAACACAACAACAUA</u> AAACC ACCCGAUUCACGGCAGUUACUGCUCC	233
<i>miR-196a-1</i>	GUGAAU <u>UAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAA</u> CACAACAACAUA <u>AAACCACCCGAUUCAC</u>	234
<i>miR-196a-2 (miR-196-2)</i>	UGCUCGCUCAGCUGAUCUGUGGCU <u>UAGGUAGUUUCAUGUUGU</u> <u>UGGGAUUGAGUUUGAACUCGGCAACAAGAAACUGCCUGAGU</u> UACAUCAGUCGGUUUCGUCGAGGGC	235
<i>miR-196</i>	GUGAAU <u>UAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAA</u> CACAACAACAUA <u>AAACCACCCGAUUCAC</u>	236
<i>miR-196b</i>	ACUGGUCGGUGAUU <u>UAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGAUCCAC</u> CUUUCUCUCGACAGCACGACACUGCCUUCAUUACUUCAGUUG	237
<i>miR-197</i>	GGCUGUGCCGGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAAGAGCUCU CACCCUUCACCACCUUCUCCACCCAGCAUGGCC	238
<i>miR-197-2</i>	GUGCAUGUGUAUGUAUGUGUGCAUGUGCAUGUGUAUGUGUA UGAGUGCAUGCGUGUGUC	239
<i>miR-198</i>	UCAUUGGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUCCUGUGAUUUUCCU CUUCUCUAUAGAAUAAAUGA	240
<i>miR-199a-1</i>	GCCA <u>ACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAAU</u> GUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGC	241
<i>miR-199a-2</i>	AGGAAGCUUCUGGAGAUCCUGCUCCGUCGCC <u>CCCAGUGUUCAG</u> <u>ACUACCUGUUCAGGACAAUGCCGUUGUACAGUAGUCUGCACA</u> <u>UUGGUUAGACUGGGCAAGGGAGAGCA</u>	242
<i>miR-199b</i>	CCAGAGGACACCUCCACUCCGUCUACCCAGUGUUUAGACUAU <u>CUGUUCAGGACUCCAAAUGUACAGUAGUCUGCACA</u> UUGGU <u>UAGGCUGGGCUGGGUUAGACCCUCGG</u>	243
<i>miR-199s</i>	GCCA <u>ACCCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAAU</u> GUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGC	244

<i>miR-200a</i>	GCCGUGGCCAUCUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCAGGU <u>C</u> UCUAAUACUGCCUGGUAUAUGAUGACGGC	245
<i>miR-200b</i>	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUCUACUGGGCAGCAUUGGA UGGAGUCAGGUCUCUAAUACUGCCUGGUAUAUGAUGACGGCGG AGCCCUGCACG	246
<i>miR-200c</i>	CCCUCGUCUACCCAGCAGUGUUUGGGUGCGGUUGGGAGUCU CUAAUACUGCCGGGUAUAUGAUGGAGG	247
<i>miR-202</i>	GUUCCUUUUUCCUAUGCAUAUACUUCUUGAGGAUCUGGCCU AAAGAGGUUAUAGGGCAUGGGAAGAUGGAGC	248
<i>miR-203</i>	GUGUUGGGGACUCGCGCGCUGGGUCCAGUGGUUCUUAACAGU UCAACAGUUCUGUAGCGCAAUUGUGAAAUGUUUAGGACCACU <u>AGACCCGGCGGGCGCGGCAGCGA</u>	249
<i>miR-204</i>	GGCUACAGUCUUUCUUCUUGUGACUCGUGGACU <u>UCCCUUUGU</u> <u>CAUCCUAUGCCUGAGAAUAUAUGAAGGAGGCUGGGAAGGCAA</u> AGGGACGUCAAUUGUCAUCACUGGC	250
<i>miR-205</i>	AAAGAUCUCAGACA <u>AUCCAUGUGCUUCUCUUGUCCUUCAU</u> <u>CCACCGGAGUCUGUCUCAUACCCAACCAGAUUUCAGUGGAGU</u> GAAGUUCAGGAGGCAUGGAGCUGACA	251
<i>miR-206-1</i>	UGC <u>UCCCGAGGCCACAUGCUUCUUUAUAUCCCCAUAUGGAU</u> UACUUJGCUAUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUCGGCAAG UG	252
<i>miR-206-2</i>	AGGCCACAUGCUUCUUUAUAUCCCCAUAUGGAUACUUUGCU AUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUU	253
<i>miR-208</i>	UGACGGGCGAGCUUUUGGCCCGGGUUAUACCUGAUGCUCACG UAUAAGACGAGCAAAAAGCUUGUUGGUCA	254
<i>miR-210</i>	ACCCGGCAGUGCCUCCAGGCGCAGGGCAGCCCCUGCCCACCGC ACACUGCGCUGCCCCAGACCCACUGUGCGUGUGACAGCGGCU <u>GAUCUGUGCCUGGGCAGCGCAGCCC</u>	255
<i>miR-211</i>	UCACCUGGCCAUGUGACUUGUGGGCU <u>UCCCUUUGUCAUCCU</u> <u>CGCCU</u> AGGGCUCUGAGCAGGGCAGGGACAGCAAAGGGGUGCU CAGUUGUCACUCCCCACAGCACGGAG	256

<i>miR-212</i>	CGGGGCACCCCGCCCGGACAGCGCGCCGGCACCUUGGCUCUAG ACUGCUUACUGCCCGGGCCGCCUCAGUAACAGUCUCCAGUCA <u>CGGCCACCGACGCCUGGCCCCCGCC</u>	257
<i>miR-213-2</i>	CCUGUGCAGAGAUUAAUUUUUAAAAGGUCACAAUCA <u>ACAUUC</u> <u>AUUGCUGUCGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAA</u> CAAUGAAUGCAACUGUGGCCCCCGCUU	258
<i>miR-213</i>	GAGUUUUGAGGUUGCUCAGUGAACAUUCAACGCUGUCGGUG AGUUUGGAAUAAAUCAAAACCAUCGACCGUUGAUUGUACC <u>CUAUGGCUAACCAUCAUCUACUCC</u>	259
<i>miR-214</i>	GGCCUGGCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUCUACAC UUGCUGUGCAGAACAUCCGCUCACCUGU <u>ACAGCAGGCACAGA</u> <u>CAGGCAGUCACAUGACAACCCAGCCU</u>	260
<i>miR-215</i>	AUCAUUCAGAAAUGGUAUACAGGAAA <u>AUGACCUAUGAAUUGA</u> <u>CAGACA</u> AAU <u>AUAGCUGAGUUUGUCUGUCAUUUCUUUAGGCCAA</u> UAUUCUGUAUGACUGUGCUACUCAA	261
<i>miR-216</i>	GAUGGCUGUGAGUUGGCUAA <u>AUCUCAGCUGGCAACUGUGAGA</u> UGUUCAUACAAUCCUCACAGUGGUCUCUGGGAUUAUGCUAA ACAGAGCAAUUCCUAGCCUCACGA	262
<i>miR-217</i>	AGUAUAAUUAAUACAUAGUUUUUGAUGUCGCAGAU <u>ACUGCAU</u> <u>CAGGAACUGAUUGGAUAAGAAUCAGUCACCAUCAGUCCUAA</u> UGCAUUGCCUUCAGCAUCUAAAACAAG	263
<i>miR-218-1</i>	GUGAUAAUGUAGCGAGAUUUUCUGUUGUGCUUGAUCUAACCA <u>UGUGGUUGCGAGGUAUGAGUAAAACAUGGUUCCGUCAAGCAC</u> CAUGGAACGUCACGCAGCUUUCUACA	264
<i>miR-218-2</i>	GACCAGUCGCUGCGGGGCUUCCUUUGUGCUUGAUCUAACCA <u>UGUGGUGGAACGAUGGAAACGGAACAUGGUUCUGUCAAGCAC</u> CGCGGAAAGCACCGUGCUCUCCUGCA	265
<i>miR-219</i>	CCGCCCCGGGCCGCGGCCUCC <u>UGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCG</u> AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAG CCGCCGCCCCCAAACCUCGAGCGGG	266
<i>miR-219-1</i>	CCGCCCCGGGCCGCGGCCUCC <u>UGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCG</u> AGUCUAUGGCUCCGGCCGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAG CCGCCGCCCCCAAACCUCGAGCGGG	267
<i>miR-219-2</i>	ACUCAGGGGCUUCGCCAC <u>UGAUUGUCCAAACGCAAUUCUUGU</u> ACGAGUCUGCGGCCAACCGAGAAUUGUGGCUGGACAUCUGUG GCUGAGCUCCGGG	268

ES 2 604 324 T3

<i>miR-220</i>	GACAGUGUGGCAUUGUAGGGCUCCACACCGUAUCUGACACUU UGGGCGAGGGCACCAUGCUGAAGGUGUUCAUGAUGCGGUCUG GGAACUCCUCACGGAUCUACUGAUG	269
<i>miR-221</i>	UGAACAUCCAGGUCUGGGGCAUGAACCGGCAUACAAUGUAG AUUUCUGUGUUCGUUAGGCAACAGCUACA <u>UUGUCUGCUGGGU</u> <u>UUCAGGCUACCUGGAAACAUGUUCUC</u>	270
<i>miR-222</i>	GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCA AUGGCUCAGUAGCCAG UGUAGA UCCUGUCUUUCGUAAUCAGCAGCUACA <u>UCCUGGCUAC</u> <u>UGGGUCUCUGAUGGCAUCUUCUAGCU</u>	271
<i>miR-223</i>	CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCUCCGUGUAUUUGACAAGCU GAGUUGGACACUCCAUGUGGUAGAGUGUCAGUUUGUCAAAUA <u>CCCCAAGUGCGGCACAUGCUUACCAG</u>	272
<i>miR-224</i>	GGGCUUUC <u>AAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAGUAGAUGAUUGU</u> GCAUUGUUUCAAAAUGGUGCCCUAGUGACUACAAAGCCC	273
Nombre del Precursor	Secuencia (5' a 3')*	SEC ID N°:
<i>miR-294-1 (chr16)</i>	CAAUCUCCUUUAUCAUGGUAUUGAUUUUUCAGUGCUUCCCU UUUGUGUGAGAGAAGUA	274
<i>miR-296</i>	AGGACCCUCCAGAGGGCCCCCCCCUCAAUCCUGUUGUGCCUAA UUCAGAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCCUGAAGGGCUCU	275
<i>miR-299</i>	AAGAAUUGGUUUACCGUCCACAUAUAUUUGAAUAUGUAUG UGGGAUGGUAAACCGCUUCU	276
<i>miR-301</i>	ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUUAUUGCACUACUGUACUUU ACAGCUAGCAGUGCAAUAGUAUUGUCAAGCAUCUGAAAGCA GG	277
<i>miR-302a</i>	CCACCACUAAACGUGGAUGUACUUGCUUUGAAACUAAAGAA GUAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGAUGG	278
<i>miR-302b</i>	GCUCCCUUCAACUUUAACAUGGAAGUGCUUUCUGUGACUUUA AAAGUAAGUGCUUCCAUGUUUAGUAGGAGU	279

<i>miR-302c</i>	CCUUUGCUUUUAACAUGGGGGU <u>ACCUGCUGUGUGAAACAAAAG</u> UAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGGAGG	280
<i>miR-302d</i>	CCUCUACUUUAACAUGGAGGCACUUGCUGUGACAUGACAAAA AUAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGUGG	281
<i>miR-320</i>	GCUUCGCUCCCCUCCGCCUUCUCU <u>UCCCGGUUCUCCCGGAGU</u> CGGGAAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGU	282
<i>miR-321</i>	UUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCACCCG GGUAAAAGAAAGGCCGA	283
<i>miR-323</i>	UUGGUACUUGGAGAGAGGUGGUCCGUGGCGCGUUCGCUUUAU UUAUGGCGCACAUUACACGGUCGACCUCUUUGCAGUAUCUAA UC	284
<i>miR-324</i>	CUGACUAUGCCUCCCCGCAU <u>CCCCUAGGGCAUUGGUGUAAAAG</u> CUGGAGACCCACUGCCCCAGGUGCUGCUGGGGGUUGUAGUC	285
<i>miR-325</i>	AUACAGUGCUUGGUUCCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGUUUGU GACAUAAUUUGUUUAUUGAGGACCUCUAUCAAUCAAGCACU GUGCUAGGCUCUGG	286
<i>miR-326</i>	CUCAUCUGUCUGUUUGGGCUGGAGGCAGGGCCUUGUGAAAGGC GGGUGGUGCUCAGAUCGCCUCUGGGCCCUUCCUCCAGCCCCGA GGCGGAUUCA	287
<i>miR-328</i>	UGGAGUGGGGGGGCAGGAGGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAUAC AGCCCCUGGCCUCUCUGCCCUUCCGUC <u>CCCCUG</u>	288
<i>miR-330</i>	CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCU <u>UAGGCUCU</u> GCAAGAUCAACCGAGCAAAGCACACGGCCUGCAGAGAGGCAG CGCUCUGCCC	289
<i>miR-331</i>	GAGUUUGGUUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGUAUGGUCCAGG GAUCCAGAUCAAACCAGGCC <u>CCCUAGGGCCUAUCCUAGAACCAA</u> CCUAAGCUC	290
<i>miR-335</i>	UGUUUUGAGCGGGGGU <u>CAAGAGCAAUAACGAAAAAUGUUUGU</u> CAUAAACCGUUUUUCAUUAUUGCUCUCCUGACCUCUCUAUUU GCUAUUAUCA	291

<i>miR-337</i>	GUAGUCAGUAGUUGGGGGGUGGGGAACGGCUUCAUACAGGAGU UGAUGCACAGUUAUCCAGCUCCUAUAUGAUGCCUUUCUUCAU CCCCUUCAA	292
<i>miR-338</i>	UCUCCAACAAUAUCCUGGUGCUGAGUGAUGACUCAGGCGACU CCAGCAUCAGUGAUUUUGUUGAAGA	293
<i>miR-339</i>	CGGGGCGGCCGCUCUCCUGUCCUCCAGGAGCUCACGUGUGCC UGCCUGUGAGCGCCUCGACGACAGAGCCGGCGCCUGCCCCAGU GUCUGCGC	294
<i>miR-340</i>	UUGUACCUGGUGUGAUUAUAAAGCAAUGAGACUGAUUGUCAU AUGUCGUUUGUGGGAUCCGUCUCAGUUACUUUAUAGCCAUAAC CUGGUAUCUUA	295
<i>miR-342</i>	GAAACUGGGCUCAAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUUGAGGG ACAUGGUUAAUGGAAUUGUCUCACACAGAAAUCGCACCCGUC ACCUUGGCCUACUUA	296
<i>miR-345</i>	ACCCAAACCCUAGGUCUGCUGACUCCUAGUCCAGGGCUCGUG AUGGCUGGUGGGCCCGAACGAGGGGUCUGGAGGCCUGGGUU UGAAUAUCGACAGC	297
<i>miR-346</i>	GUCUGUCUGCCCGCAUGCCUGCCUCUCUGUUGCUCUGAAGGA GGCAGGGGCGUGGGCCUGCAGCUGCCUGGGCAGAGCGGCUCCU GC	298
<i>miR-367</i>	CCAUAACUGUUGC UAAUAUGCAACUCUGUUGAAUAUAAAUUG GAAUUGCACUUUAGCAAUGGUGAUGG	299
<i>miR-368</i>	AAAAGGUGGAUAUCCUUCUAUGUUUAUGUUAUUUAUGGUUA AACAUAGAGGAAAUUCCACGUUUU	300
<i>miR-369</i>	UUGAAGGGAGAU CGACCGUGUUAUAUUCGCUUUAUUGACUUC GAAUAAUACAUGGUUGAUCUUUUCUCAG	301
<i>miR-370</i>	AGACAGAGAAGCCAGGUCACGUCUCUGCAGUUACACAGCUCA CGAGUGCCUGCUGGGGUGGAACCUGGUCUGUCU	302
<i>miR-371</i>	GUGGCACUCAAACUGUGGGGGCACUUUCUGCUCUCUGGUGAA AGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUAC	303

<i>miR-372</i>	GUGGGCCUCAA <u>AUGUGGAGCACUAUUCUGAUGUCCAAGUGGA</u> AAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCAC	304
<i>miR-373</i>	GGGAUACUCAA <u>AAUGGGGGCGCUUCCUUUUUGUCUGUACUG</u> GGAAGUGCUCGAUUUGGGGUGUCCC	305
<i>miR-374</i>	UACAUCGGCCA <u>UUAUAAUACAACCUGAUAAGUGUUAUAGCAC</u> UUAUCAGAUUGUAUUGUAAUUGUCUGUGUA	306
<i>miR-hes1</i>	AUGGAGCUGCUCACCCUGUGGGCCUCAA <u>AUGUGGAGGAACUA</u> UUCUGAUGUCCAAGUGGAAAGUGCUGCGACAUUUGAGCGUCA CCGGUGACGCCCAUAUCA	307
<i>miR-hes2</i>	GCAUCCCCUCAGCCUGUGGCACUCAAACUGUGGGGGCACUUU CUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUACCG CUUGAGAAGACUCAACC	308
<i>miR-hes3</i>	CGAGGAGCUCAUACUGGGAUACUCAA <u>AAUGGGGGCGCUUCC</u> UUUUUGUCUGUACUGGGAAGUGCUCGAUUUUGGGGUGUCC 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>	ugagguaguagguuguauaguuu	310	<i>let-7a-1; let-7a-2; let-7a-3; let-7a-4</i>
<i>let-7b</i>	ugagguaguagguugugugguu	311	<i>let-7b</i>
<i>let-7c</i>	ugagguaguagguuguauugguu	312	<i>let-7c</i>
<i>let-7d</i>	agagguaguagguugcauagu	313	<i>let-7d; let-7d-v1</i>
<i>let-7e</i>	ugagguaggagguuguauagu	314	<i>let-7e</i>
<i>let-7f</i>	ugagguaguagauuguauaguuu	315	<i>let-7f-1; let-7f-2-1; let-7f-2-2</i>
<i>let-7g</i>	ugagguaguaguuuuguacagu	316	<i>let-7g</i>
<i>let-7i</i>	ugagguaguaguuuugugcu	317	<i>let-7i</i>
<i>miR-1</i>	uggaauguaaagaaguauagua	318	<i>miR-1b; miR-1b-1; miR-1b-2</i>
<i>miR-7</i>	uggaagacuagugauuuuguuu	319	<i>miR-7-1; miR-7-1a; miR-7-2; miR-7-3</i>
<i>miR-9</i>	ucuuugguuauacuagcuguauaga	320	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-9*</i>	uaaagcuagauaacggaaagu	321	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-10a</i>	uaccuaguagauccgaaauugug	322	<i>miR-10a</i>
<i>miR-10b</i>	uaccuaguagauccgaaauugu	323	<i>miR-10b</i>

ES 2 604 324 T3

<i>miR-15a</i>	uagcagcacauaaugguuuugug	324	<i>miR-15a; miR-15a-2</i>
<i>miR-15b</i>	uagcagcacaucaugguuuaca	325	<i>miR-15b</i>
<i>miR-16</i>	uagcagcacguaaaauuugcg	326	<i>miR-16-1; miR-16-2; miR-16-13</i>
<i>miR-17-5p</i>	caaagugcuuacagugcagguagu	327	<i>miR-17</i>
<i>miR-17-3p</i>	acugcagugaaggcacuugu	328	<i>miR-17</i>
<i>miR-18</i>	uaaggugcaucuagugcagaua	329	<i>miR-18; miR-18-13</i>
<i>miR-19a</i>	ugugcaaaucuaugcaaaacuga	330	<i>miR-19a; miR-19a-13</i>
<i>miR-19b</i>	ugugcaaaucuaugcaaaacuga	331	<i>miR-19b-1; miR-19b-2</i>
<i>miR-20</i>	uaaagugcuuauagugcaggua	332	<i>miR-20 (miR-20a)</i>
<i>miR-21</i>	uagcuuauacagacugauguuga	333	<i>miR-21; miR-21-17</i>
<i>miR-22</i>	aagcugccaguugaagaacugu	334	<i>miR-22</i>
<i>miR-23a</i>	aucacauugccagggauuucc	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>	uucaaguaauccaggauaggcu	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>	uucacaguggcuagaauccgcc	341	<i>miR-27a</i>
<i>miR-27b</i>	uucacaguggcuagaauccug	342	<i>miR-27b-1; miR-27b-2</i>
<i>miR-28</i>	aaggagcucacagucuaauugag	343	<i>miR-28</i>
<i>miR-29a</i>	cuagcaccaucugaaaucgguu	344	<i>miR-29a-2; miR-29a</i>
<i>miR-29b</i>	uagcaccauuugaaaucagu	345	<i>miR-29b-1; miR-29b-2</i>
<i>miR-29c</i>	uagcaccauuugaaaucgguua	346	<i>miR-29c</i>
<i>miR-30a-5p</i>	uguaaacauccucgacuggaagc	347	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30a-3p</i>	cuuucagucggauguuucgagc	348	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30b</i>	uguaaacauccuacacucagc	349	<i>miR-30b-1; miR-30b-2</i>
<i>miR-30c</i>	uguaaacauccuacacucucagc	350	<i>miR-30c</i>
<i>miR-30d</i>	uguaaacaucuccgacuggaag	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>	uaaugcacauuacuaaguugc	354	<i>miR-32</i>
<i>miR-33</i>	gugcauuguaguugcauug	355	<i>miR-33; miR-33b</i>
<i>miR-34a</i>	uggcagugucuagcugguugu	356	<i>miR-34a</i>
<i>miR-34b</i>	aggcagugucuagcugguugu	357	<i>miR-34b</i>
<i>miR-34c</i>	aggcaguguaguagcugguugu	358	<i>miR-34c</i>
<i>miR-92</i>	uaaugcacuuguccggccugu	359	<i>miR-92-2; miR-92-1</i>
<i>miR-93</i>	aaagugcuguucgugcagguag	360	<i>miR-93-1; miR-93-2</i>

ES 2 604 324 T3

<i>miR-95</i>	uucaacggguauuuuugagca	361	<i>miR-95</i>
<i>miR-96</i>	uuuggcacuagcacauuuuugc	362	<i>miR-96</i>
<i>miR-98</i>	ugagguaguaaguuguauuguu	363	<i>miR-98</i>
<i>miR-99a</i>	aacccguagauccgaucuugug	364	<i>miR-99a</i>
<i>miR-99b</i>	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>	agcagcauuguacagggcuauga	368	<i>miR-103-1</i>
<i>miR-105</i>	ucaaauugcucagacuccugu	369	<i>miR-105</i>
<i>miR-106-a</i>	aaaagugcuuacagugcagguagc	370	<i>miR-106-a</i>
<i>miR-106-b</i>	uaaagugcugacagugcagau	371	<i>miR-106-b</i>
<i>miR-107</i>	agcagcauuguacagggcuauca	372	<i>miR-107</i>
<i>miR-122a</i>	uggagugugacaaugguguuugu	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>	ucccugagaccuuuaaccugug	375	<i>miR-125a-1; miR-125a-2</i>
<i>miR-125b</i>	ucccugagaccuaacuuguga	376	<i>miR-125b-1; miR-125b-2</i>
<i>miR-126*</i>	cauuauuacuuuugguacgcg	377	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-126</i>	ucguaccgugaguaauaauugc	378	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-127</i>	ucggaucggucugagcuuggcu	379	<i>miR-127-1; miR-127-2</i>
<i>miR-128a</i>	ucacagugaaccggucucuuuu	380	<i>miR-128; miR-128a</i>
<i>miR-128b</i>	ucacagugaaccggucucuuuc	381	<i>miR-128b</i>
<i>miR-129</i>	cuuuuugcgucugggcuugc	382	<i>miR-129-1; miR-129-2</i>
<i>miR-130a</i>	cagugcaauguuaaaagggc	383	<i>miR-130a</i>
<i>miR-130b</i>	cagugcaaugaugaaagggc	384	<i>miR-130b</i>
<i>miR-132</i>	uaacagucucacgccauggucg	385	<i>miR-132-1</i>
<i>miR-133a</i>	uuggucccucaaccagcugu	386	<i>miR-133a-1; miR-133a-2</i>
<i>miR-133b</i>	uuggucccucaaccagcua	387	<i>miR-133b</i>
<i>miR-134</i>	ugugacugguugaccagaggg	388	<i>miR-134-1; miR-134-2</i>
<i>miR-135a</i>	uauggcuuuuauuccuauuguga	389	<i>miR-135a; miR-135a-2 (miR-135-2)</i>
<i>miR-135b</i>	uauggcuuuucauuccuauugug	390	<i>miR-135b</i>
<i>miR-136</i>	acuccauuuguuuugaugaugga	391	<i>miR-136-1; miR-136-2</i>
<i>miR-137</i>	uaauugcuuaagaaucgcuag	392	<i>miR-137</i>
<i>miR-138</i>	agcugguguugugaauuc	393	<i>miR-138-1; miR-138-2</i>
<i>miR-139</i>	ucuacagugcagcugucuc	394	<i>miR-139</i>
<i>miR-140</i>	agugguuuuaccuauugguag	395	<i>miR-140; miR-140as; miR-140s</i>
<i>miR-141</i>	aacacugucugguaaagaugg	396	<i>miR-141-1; miR-141-2</i>
<i>miR-142-3p</i>	uguaguguuuuccuacuuuauugga	397	<i>miR-142</i>
<i>miR-142-5p</i>	cauaaaguagaaagcacuac	398	<i>miR-142</i>

ES 2 604 324 T3

<i>miR-143</i>	ugagaugaagcacuguagcuca	399	<i>miR-143-1</i>
<i>miR-144</i>	uacagauaugaugauguacuag	400	<i>miR-144-1; miR-144-2</i>
<i>miR-145</i>	guccaguuuuccaggaauccuu	401	<i>miR-145-1; miR-145-2</i>
<i>miR-146</i>	ugagaacugaauuccauggguu	402	<i>miR-146-1; miR-146-2</i>
<i>miR-147</i>	guguguggaaaugcuucugc	403	<i>miR-147</i>
<i>miR-148a</i>	ucagugcacuacagaacuugu	404	<i>miR-148a (miR-148)</i>
<i>miR-148b</i>	ucagugcaucacagaacuugu	405	<i>miR-148b</i>
<i>miR-149</i>	ucuggcuccgugucuucacucc	406	<i>miR-149</i>
<i>miR-150</i>	ucucccaaccuuguaccagug	407	<i>miR-150-1; miR-150-2</i>
<i>miR-151</i>	acuagacugaagcuccuugagg	408	<i>miR-151</i>
<i>miR-152</i>	ucagugcaugacagaacuugg	409	<i>miR-152-1; miR-152-2</i>
<i>miR-153</i>	uugcauagucacaaaaguga	410	<i>miR-153-1-1; miR-153-1-2; miR-153-2-1; miR-153-2-2</i>
<i>miR-154</i>	uagguuauccguguugccuucg	411	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-154*</i>	aaucacuacacgguugaccuauu	412	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-155</i>	uuaaugcuauucgugauagggg	413	<i>miR-155</i>
<i>miR-181a</i>	aacauucaacgcugucggugagu	414	<i>miR-181a</i>
<i>miR-181b</i>	aacauucauugcugucggugguu	415	<i>miR-181b-1; miR-181b-2</i>
<i>miR-181c</i>	aacauucaaccugucggugagu	416	<i>miR-181c</i>
<i>miR-182</i>	uuuggcaaugguagaacucaca	417	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-182*</i>	ugguucuagacuugccaacua	418	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-183</i>	uauggcacugguagaauucacug	419	<i>miR-183</i>
<i>miR-184</i>	uggacggagaacugauaagggg	420	<i>miR-184-1; miR-184-2</i>
<i>miR-185</i>	uggagagaaaggcaguuc	421	<i>miR-185-1; miR-185-2</i>
<i>miR-186</i>	caaagaauucuccuuuugggcuu	422	<i>miR-186-1; miR-186-2</i>
<i>miR-187</i>	ucgugucuuguguugcagccg	423	<i>miR-187</i>
<i>miR-188</i>	cauccuugcaugguggagggg	424	<i>miR-188</i>
<i>miR-189</i>	gugccuacugagcugauaucagu	425	<i>miR-189-1; miR-189-2</i>
<i>miR-190</i>	ugauauguuugauauuuaggu	426	<i>miR-190-1; miR-190-2</i>
<i>miR-191</i>	caacggaaucacaaaagcagcu	427	<i>miR-191-1; miR-191-2</i>
<i>miR-192</i>	cugaccuauagaauugacagcc	428	<i>miR-192</i>
<i>miR-193</i>	aacuggccuacaaagucccag	429	<i>miR-193-1; miR-193-2</i>
<i>miR-194</i>	uguaacagcaacuccaugugga	430	<i>miR-194-1; miR-194-2</i>
<i>miR-195</i>	uagcagcacagaaauuuggc	431	<i>miR-195-1; miR-195-2</i>
<i>miR-196a</i>	uagguaguuucauguuguugg	432	<i>miR-196a; miR-196a-2 (miR196-2)</i>
<i>miR-196b</i>	uagguaguuuuccuguugg	433	<i>miR-196b</i>
<i>miR-197</i>	uuccaccuucuccaccagc	434	<i>miR-197</i>
<i>miR-198</i>	gguccagaggggagauagg	435	<i>miR-198</i>

ES 2 604 324 T3

<i>miR-199a</i>	cccaguguucagacuaccuguuc	436	<i>miR-199a-1; miR-199a-2</i>
<i>miR-199a*</i>	uacaguagucugcacauugguu	437	<i>miR-199a-1; miR-199a-2; miR-199s; miR-199b</i>
<i>miR-199b</i>	cccaguguuuagacuauucuguuc	438	<i>miR-199b</i>
<i>miR-200a</i>	uaacacugucugguaacgaugu	439	<i>miR-200a</i>
<i>miR-200b</i>	cucuaauacugccugguaaugaug	440	<i>miR-200b</i>
<i>miR-200c</i>	aaucugccggguaaugaugga	441	<i>miR-200c</i>
<i>miR-202</i>	agagguauagggaugggaaga	442	<i>miR-202</i>
<i>miR-203</i>	gugaaauguuuaggaccacuag	443	<i>miR-203</i>
<i>miR-204</i>	uucccuuugucauccuugccu	444	<i>miR-204</i>
<i>miR-205</i>	uccuucuuuccaccggagucug	445	<i>miR-205</i>
<i>miR-206</i>	uggaauguaaggauguguggg	446	<i>miR-206-1; miR-206-2</i>
<i>miR-208</i>	auaagacgagcaaaaagcuugu	447	<i>miR-208</i>
<i>miR-210</i>	cugugcgugugacagcggcug	448	<i>miR-210</i>
<i>miR-211</i>	uucccuuugucauccuugccu	449	<i>miR-211</i>
<i>miR-212</i>	uaacagucuccagucacggcc	450	<i>miR-212</i>
<i>miR-213</i>	accaucgaccguugauuguacc	451	<i>miR-213</i>
<i>miR-214</i>	acagcaggcacagacaggcag	452	<i>miR-214</i>
<i>miR-215</i>	augaccuauaauugacagac	453	<i>miR-215</i>
<i>miR-216</i>	uaaucucagcuggcaacugug	454	<i>miR-216</i>
<i>miR-217</i>	uacugcaucaggaacugauuggau	455	<i>miR-217</i>
<i>miR-218</i>	uugugcuugaucuaaccaugu	456	<i>miR-218-1; miR-218-2</i>
<i>miR-219</i>	ugauuguccaaacgcaauucu	457	<i>miR-219; miR-219-1; miR-219-2</i>
<i>miR-220</i>	ccacaccguaucugacacuuu	458	<i>miR-220</i>
<i>miR-221</i>	agcuacaauugucugcugguuuc	459	<i>miR-221</i>
<i>miR-222</i>	agcuacaucuggcuacugggucuc	460	<i>miR-222</i>
<i>miR-223</i>	ugucaguuuugucaaaauacccc	461	<i>miR-223</i>
<i>miR-224</i>	caagucacuagugguuccguuuu	462	<i>miR-224</i>
<i>miR-296</i>	agggccccccucaauccugu	463	<i>miR-296</i>
<i>miR-299</i>	ugguuuaccguccacauacau	464	<i>miR-299</i>
<i>miR-301</i>	cagugcaauaguauuguaaagc	465	<i>miR-301</i>
<i>miR-302a</i>	uaagugcuuccauguuuugguga	466	<i>miR-302a</i>
<i>miR-302b*</i>	acuuuaacauggaagugcuuucu	467	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302b</i>	uaagugcuuccauguuuaguag	468	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302c*</i>	uuuaacauggggguaccugcug	469	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302c</i>	uaagugcuuccauguuucagugg	470	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302d</i>	uaagugcuuccauguuugagugu	471	<i>miR-302d</i>
<i>miR-320</i>	aaaagcuggguugagagggcgaa	472	<i>miR-320</i>

<i>miR-321</i>	uaagccagggauuguggguuc	473	<i>miR-321</i>
<i>miR-323</i>	gcacauuacacggucgaccucu	474	<i>miR-323</i>
<i>miR-324-5p</i>	cgcauccccuagggcauuggugu	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>	ccucugggcccuuccuccag	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>	gccccugggccuauccuagaa	481	<i>miR-331</i>
<i>miR-335</i>	ucaagagcaauaacgaaaaugu	482	<i>miR-335</i>
<i>miR-337</i>	uccagcuccuauaugaccuuu	483	<i>miR-337</i>
<i>miR-338</i>	uccagcaucagugauuuuguuga	484	<i>miR-338</i>
<i>miR-339</i>	ucccuguccuccaggagcuca	485	<i>miR-339</i>
<i>miR-340</i>	uccgucucaguuacuuuauagcc	486	<i>miR-340</i>
<i>miR-342</i>	ucucacacagaaaucgaccccguc	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>	aaaugcacuuuagcaaugguga	490	<i>miR-367</i>
<i>miR-368</i>	acauagaggaaauuccacguuu	491	<i>miR-368</i>
<i>miR-369</i>	aaauaacaugguugaucuuu	492	<i>miR-369</i>
<i>miR-370</i>	gccugcugggguggaaccugg	493	<i>miR-370</i>
<i>miR-371</i>	gugccgcaucuuuugagugu	494	<i>miR-371</i>
<i>miR-372</i>	aaagugcugcgacuuugagcgu	495	<i>miR-372</i>
<i>miR-373*</i>	acuaaaauggggcgcuucc	496	<i>miR-373</i>
<i>miR-373</i>	gaagugcuucgauuuuggggugu	497	<i>miR-373</i>
<i>miR-374</i>	uuauaauacaaccugauaagug	498	<i>miR-374</i>

La presente invención abarca métodos para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer de colon, páncreas o estómago, que comprenden medir el nivel de al menos un producto génico de miR-221 en una muestra de ensayo del sujeto y comparar el nivel del producto génico de miR en la muestra de ensayo con el nivel del 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, un cáncer sólido. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido.

5

También se desvelan en la presente memoria 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-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a y combinaciones de los mismos. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR es miR-21, miR-191 o miR-17-5p. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-15a o miR-16-1. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR 159-1 o miR-192. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. También se desvelan en la presente memoria métodos en los que el producto génico de miR no es miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. También se desvelan en la presente memoria métodos

15

20

5 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.

10 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), 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.

20 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.

25 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.

30 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 una 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.

55 En una realización, se usa el miR-221 y el al menos un producto génico de miR adicional seleccionado 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 para diagnosticar el cáncer de colon. 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.

5 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-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.

15 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-7-3, miR-210, miR-31, miR-34a-1, miR-a-2, miR-99a, miR-100, miR-125b-2, miR-132, miR-135-1, miR-195, miR-34, miR-123, miR-203. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer de pulmón y el producto génico de miR puede no ser miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 o miR-137.

40 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.

45 En una realización relacionada, se usa el miR-221 y al menos un producto génico de miR adicional seleccionado 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 para diagnosticar el cáncer pancreático.

50 También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido puede ser cáncer pancreático y el producto génico de miR puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer pancreático y el producto génico de miR puede no ser miR-159-1 o miR-192. Como alternativa, el cáncer sólido puede ser cáncer pancreático y el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-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.

65 También se desvelan métodos en los que el cáncer sólido es cáncer de próstata y el producto génico de miR en una 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.

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

20 En otra realización de la presente invención, el producto génico de miR-221 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-25, miR-136, miR-191, 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.

25 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.

40 El nivel de 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. En otros métodos, 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 una muestra obtenida un sujeto, en relación con el nivel de un producto génico de miR correspondiente en una muestra de control, es indicativa de la presencia de un cáncer sólido en el sujeto. El nivel del al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser mayor que el nivel del producto génico de miR correspondiente en la muestra de control (es decir, la expresión del producto génico de miR está "regulada positivamente"). Como se usa en la presente memoria, la expresión de un producto génico de miR está "regulada positivamente" cuando la cantidad de producto génico de miR en una muestra celular o tisular de un sujeto es mayor que la cantidad del mismo producto génico en una muestra celular o tisular de control. El nivel del al menos un producto génico de miR en la muestra de ensayo puede ser menor que el nivel del producto génico de miR correspondiente en la muestra de control (es decir, la expresión del producto génico de miR está "regulada negativamente"). Como se usa en la presente memoria, la expresión de un gen de miR está "regulada negativamente" cuando la cantidad de producto génico de miR producida de ese gen en una muestra celular o tisular de un sujeto es menor que la cantidad producida del mismo gen en una muestra celular o tisular de control. La expresión génica de miR relativa en las muestras de control y normales puede determinarse con respecto a uno o más patrones de expresión de ARN. Los

patrones pueden comprender, por ejemplo, un nivel de expresión génica de miR cero, el nivel de expresión génica de miR en una línea celular convencional, el nivel de expresión génica de miR en tejidos no afectados del sujeto, o el nivel medio de expresión génica de miR previamente obtenido para una población de controles humanos normales.

- 5 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, 10 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 15 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 20 %, 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.

25 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.

30 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 35 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 40 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.

45 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.

50 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 N° 5.427.916. Pueden producirse sondas adecuadas para hibridación *in situ* de un 55 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.

60 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 65 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.

5 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.

10 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 microserie para generar un perfil
15 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
20 “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.

25 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
30 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
35 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.

40 En consecuencia, la invención proporciona métodos para diagnosticar si un sujeto tiene cáncer de colon, páncreas o estómago, que comprenden transcribir de forma inversa al menos ARN de miR-221 de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de miR-221, hibridar el oligodesoxinucleótido diana con una microserie que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN que
45 incluyen al menos un oligonucleótidos sonda específicos de ARN de miR-221 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-221 es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer de colon, páncreas o estómago. También se desvelan microseries que comprenden oligonucleótidos sonda específicos de miARN para una parte sustancial de todos los miARN humanos conocidos. La microserie puede comprender oligonucleótidos sonda específicos de
50 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.

55 La microserie 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
60 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.

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

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

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

De acuerdo con los métodos de realizaciones de perfiles de expresión descritos en la presente memoria, el ARN total de una muestra de un sujeto que se sospecha que tiene un cáncer (por ejemplo, un cáncer sólido) se transcribe de forma inversa cuantitativamente para proporcionar un conjunto de oligodesoxinucleótidos diana marcados complementarios del ARN en la muestra. Los oligodesoxinucleótidos diana se hibridan después con una microserie 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 señal de cada hibridación. El perfil se compara con el perfil de hibridación generado de una muestra de control normal, es decir, no cancerosa. Una alteración en la señal es indicativa de la presencia de, o propensión a desarrollar, cáncer en el sujeto.

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

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

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

cáncer sólido) puede tratar exitosamente el cáncer sólido.

En consecuencia, la presente divulgación abarca métodos para inhibir la tumorigénesis en un sujeto que tiene, o se sospecha que tiene, un cáncer sólido en el que al menos un producto génico de miR está desregulado (por ejemplo, regulado positivamente, regulado negativamente) en las células cancerosas del sujeto. Cuando el al menos un producto génico de miR aislado está regulado negativamente en las células cancerosas (por ejemplo, miR-145, miR-155, miR-218-2), el método comprende administrar una cantidad eficaz del al menos un producto génico de miR aislado o una variante aislada o fragmento biológicamente activo de los mismos, de modo que se inhiba la proliferación de células cancerosas en el sujeto. El producto génico de miR aislado que se administra puede no ser miR-15a o miR-16-1. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-159-1 o miR-192. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1 o miR-175. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215 o miR-32. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f o let-7d. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-9 y miR-137. Como alternativa, el producto génico de miR puede no ser miR-145, miR-21, miR-155, miR-10b, miR-125b-1, miR-125b-2, 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 producto génico de miR puede no ser miR-21, miR-125b-1, let-7a-2, let-7i, miR-100, let-7g, miR-31, miR-32a-1, miR-33b, miR-34a-2, miR-101-1, miR-135-1, miR-142as, miR-142s, miR-144, miR-301, miR-29c, miR-30c, miR-106a o miR-29b-1.

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

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

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

Los términos “tratar”, “tratando” y “tratamiento”, como se usan en la presente memoria, se refieren a aliviar síntomas asociados con una enfermedad o afección, por ejemplo, un cáncer sólido, incluyendo prevenir o retardar la aparición de los síntomas de la enfermedad, y/o reducir la gravedad o frecuencia de los síntomas de la enfermedad o

afección. Se define que los términos “sujeto”, “paciente” e “individuo” en la presente memoria incluyen animales, tales como mamíferos, incluyendo, pero sin limitación, primates, vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, cobayas, ratas, ratones u otras especies bovinas, ovinas, equinas, caninas, felinas, roedoras o murinas. Preferentemente el animal es un ser humano.

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

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

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

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

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

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

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

40 Los productos génicos de miR que se expresan a partir de plásmidos recombinantes pueden aislarse de sistemas de expresión de células cultivadas por técnicas convencionales. Los productos génicos de miR que se expresan a partir de plásmidos recombinantes también pueden suministrarse a, y expresarse directamente en, las células cancerosas.

El uso de plásmidos recombinantes para suministrar los productos génicos de miR a células cancerosas se analiza en más detalle posteriormente.

5 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.*).

15 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.

20 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.

30 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.

35 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.

40 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.

50 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.

55 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.

65 Son vectores virales particularmente adecuados los derivados de AV y AAV. Se describen un vector de AV adecuado para expresar los productos génicos de miR, un método para construir el vector de AV recombinante y un método para suministrar el vector a células diana, en Xia *et al.* (2002), Nat. Biotech. 20: 1006-1010. Se describen vectores de AAV adecuados para expresar los productos génicos de miR, métodos para construir el vector de AAV recombinante y métodos para suministrar los vectores a células diana en Samulski *et al.* (1987), J. Virol. 61: 3096-

3101; Fisher *et al.* (1996), J. Virol., 70: 520-532; Samulski *et al.* (1989), J. Virol. 63: 3822-3826; Patente de Estados Unidos N° 5.252.479; Patente de Estados Unidos N° 5.139.941; Solicitud de Patente Internacional N° WO 94/13788; y Solicitud de Patente Internacional N° WO 93/24641. En una realización, los productos génicos de miR se expresan a partir de un único vector de AAV recombinante que comprende el promotor intermedio temprano de CMV.

5 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
10 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.

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

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

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

30 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.

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

40 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".

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

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

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

- Una o ambas cadenas del ARNip también puede comprender un saliente 3'. Como se usa en la presente memoria, un "saliente 3'" se refiere a al menos un nucleótido no emparejado que se extiende desde el extremo 3' de una cadena de ARN bicatenaria. Por lo tanto, el ARNip puede comprender al menos un saliente 3' de 1 a aproximadamente 6 nucleótidos (que incluye ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos) de longitud, de 1 a aproximadamente 5 nucleótidos de longitud, de 1 a aproximadamente 4 nucleótidos de longitud, o de aproximadamente 2 a aproximadamente 4 nucleótidos de longitud. El saliente 3' puede estar presente en ambas cadenas del ARNip, y es de 2 nucleótidos de longitud. Por ejemplo, cada cadena del ARNip puede comprender salientes 3' de ácido ditimidílico ("TT") o ácido diuridílico ("uu").
- 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 a modo de ejemplo 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.*
- La expresión de un gen de miR dado también puede inhibirse por un ácido nucleico antisentido. Como se usa en la presente memoria, un "ácido nucleico antisentido" se refiere a una molécula de ácido nucleico que se une a ARN diana por medio de interacciones de ARN-ARN, ARN-ADN o ARN-ácido peptidonucleico, que alteran la actividad del ARN diana. Son ácidos nucleicos antisentido adecuados para su uso en los presentes métodos ácidos nucleicos monocatenarios (por ejemplo, ARN, ADN, quimeras de ARN-ADN, ácido peptidonucleico (PNA)) que generalmente comprenden una secuencia de ácido nucleico complementaria de una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. El ácido nucleico antisentido puede comprender una secuencia de ácido nucleico que es 50-100 % complementaria, 75-100 % complementaria o 95-100 % complementaria de una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. Se proporcionan secuencias de ácido nucleico para los productos génicos de miR en las Tablas 1a y 1b. Sin desear quedar ligado a ninguna teoría, se cree que los ácidos nucleicos antisentido activan RNasa H u otra nucleasa celular que digiere la doble cadena de producto génico de miR/ácido nucleico antisentido.
- Los ácidos nucleicos antisentido también pueden contener modificaciones de la cadena principal de ácido nucleico o de los restos de azúcar y base (o su equivalente) para potenciar la especificidad diana, resistencia a nucleasa, suministro u otras propiedades relacionadas con la eficacia de la molécula. Dichas modificaciones incluyen restos de colesterol, intercaladores bicatenarios, tales como acridina, o uno o más grupos resistentes a nucleasa.
- Pueden producirse ácidos nucleicos antisentido de forma química o biológica, o pueden expresarse a partir de un plásmido o vector viral recombinante, como se ha descrito anteriormente para los productos génicos de miR aislados. Están dentro de la experiencia de la técnica métodos a modo de ejemplo 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 a sustrato que tiene complementariedad con una secuencia de ácido nucleico contigua de un producto génico de miR, y que es capaz de escindir específicamente el producto génico de miR. La región de unión al sustrato de ácido nucleico enzimático puede ser, por ejemplo, 50-100 % complementaria, 75-100 % complementaria o 95-100 % complementaria de una secuencia de ácido nucleico contigua en un producto génico de miR. Los ácidos nucleicos enzimáticos también pueden comprender modificaciones en los grupos de base, azúcar y/o fosfato. Un ácido nucleico enzimático a modo de ejemplo 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 aislados. Se describen métodos a modo de ejemplo 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 o temporalmente o ralentizar el crecimiento de la célula. La inhibición de la proliferación de células cancerosas puede inferirse si el número de dichas células en el sujeto permanece constante o se reduce después de la administración de los productos génicos de miR o los compuestos de inhibición de la expresión del gen de miR. Una inhibición de la proliferación de células cancerosas puede también inferirse si el número absoluto de dichas células aumenta, pero la tasa de crecimiento tumoral disminuye.
- El número de células cancerosas en el cuerpo de un sujeto puede determinarse por medición directa, o mediante estimación del tamaño de las masas tumorales primarias o metastásicas. Por ejemplo, el número de células cancerosas en un sujeto puede medirse por métodos inmunohistológicos, citometría de flujo, u otras técnicas diseñadas para detectar marcadores de superficie característicos de células cancerosas.

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

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

Se conocen bien en la técnica métodos de transfección para células eucariotas e incluyen, por ejemplo, inyección directa del ácido nucleico en el núcleo o pronúcleo de una célula; electroporación; transferencia de liposomas 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.

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 0,5 microgramos de vector plasmídico en 3 microgramos de DOTAP por cada 10⁵ células.

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

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, poliisina) y liposomas.

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.

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

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

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

liposoma. Un liposoma puede comprender tanto un resto de inhibición de la opsonización como un ligando.

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

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

El resto inhibidor de la opsonización puede estar unido a la membrana del liposoma por una cualquiera de numerosas técnicas bien conocidas. Por ejemplo, un éster de N-hidroxisuccinimida de PEG puede estar unido a un anclaje soluble en lípidos de fosfatidiletanolamina, y después unido a una membrana. De forma similar, un polímero de dextrano puede derivatizarse con un anclaje soluble en lípidos de estearilamina mediante aminación reductora usando $\text{Na}(\text{CN})\text{BH}_3$ 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, 17ª 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 vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender un gen o producto génico de miR que no es miR-15 y/o miR-16.

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

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

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

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

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

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

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 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 tumorigénesis. Al menos un producto génico de miR asociado con los niveles de expresión reducidos en células cancerosas puede seleccionarse del grupo que consiste en miR-145, miR-155, miR-218-2 y combinaciones de los mismos.

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

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

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

20 Ejemplificación

Los siguientes Materiales y Métodos se usaron en los Ejemplos:

25 Muestras

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

35 Microseries de microARN

Se realizó análisis de microseries 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 microseries 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 microseries 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 microseries (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)).

50 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 microseries usando GenePix Pro (Axon). De los valores medios de los puntos repetidos de cada miARN se restó el fondo, se normalizaron y se sometieron a análisis adicional. Se realizó normalización usando un método de normalización de mediana por microplaca, usando la mediana de la serie como una referencia. Finalmente, se seleccionaron los miARN medidos como presentes en al menos la menor de las dos clases en un conjunto de datos. Las ausencias tuvieron un umbral de 4,5 antes del análisis estadístico. Este nivel es el nivel de intensidad mínimo 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 microseries (SAM) (Tusher, V. G., *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 5116-21 (2001)). SAM calcula una puntuación para cada gen basándose en el cambio de la expresión en relación con la desviación típica de todas las mediciones. Dentro de SAM, se usó el ensayo de t. Los distintivos de microARN se determinaron aplicando el método de centroides hundidos más cercanos. Este método identifica un subgrupo de genes que caracteriza mejor cada cáncer sólido de su homólogo normal respectivo. Se calculó el error de predicción por medio de validación cruzada 10 veces, y para cada cáncer se obtuvo el distintivo de miR que daba como resultado el error mínimo de predicción. Se realizó un ensayo de nueva toma de muestras por análisis de permutación aleatoria para calcular el p valor del distintivo compartido.

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

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

Como una alternativa al ensayo de T, se usó análisis de significación de microseries (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 microseries). Se calculó el error de predicción por medio de validación cruzada 10 veces. Los microARN se seleccionaron produciendo el error de clasificación equivocada mínimo después de validación cruzada.

Resultados

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

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

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

miR	ID	Media de Cáncer	Media Normal	Estadística de ensayo	p sin procesar	p Aj
miR-21	Nº 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	11,27987	12,539366	-7,40557	2,00E-06	2,00E-06
miR-23b	Nº 51	14,169748	15,949736	-8,37744	2,00E-06	2,00E-06
miR-195	Nº 184	10,343991	9,172985	5,763262	2,00E-06	1,00E-05
miR-212 prec	Nº 209	12,686966	13,661763	-5,83132	4,00E-06	1,00E-05
miR-29b-2	Nº 95	11,27556	9,940731	5,660854	2,00E-06	1,40E-05
miR-199a-1	Nº 191	10,032008	8,920183	5,528849	2,00E-06	3,00E-05
miR-9-3	Nº 28	11,461922	12,570412	-5,43006	2,00E-06	4,60E-05
miR-128a	Nº 114	13,024235	13,856624	-5,35102	6,00E-06	7,20E-05
let-7a-1	Nº 1	12,616569	13,455246	-5,35346	2,00E-06	7,20E-05
let-7b	Nº 5	13,42636	14,068521	-5,17701	1,00E-05	0,000146
miR-16-2	Nº 39	10,460707	9,305895	5,048375	4,00E-06	0,000224
miR-199a-2	Nº 192	9,714225	8,759237	4,862553	1,00E-05	0,000494
miR-152 prec	Nº 151	11,388676	12,357529	-4,83716	2,00E-06	0,00053
miR-16-1	Nº 38	10,443169	9,338182	4,755358	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	8,804294	4,235968	4,80E-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	0,000104	0,008242
miR-138-1	Nº 132	8,299613	9,200253	-4,05204	5,60E-05	0,00931
miR-29c	Nº 65	11,291005	10,326912	4,019385	0,000144	0,010312
miR-29a	Nº 62	11,381359	10,461075	4,013697	0,00015	0,010398
miR-96	Nº 86	11,37218	12,136636	-3,94825	0,000138	0,012962
miR-191	Nº 177	13,498207	12,729872	3,817228	0,000158	0,02015
miR-27a	Nº 59	10,399338	9,548582	3,715048	0,000344	0,028096
let-7g	Nº 15	10,819688	10,01157	3,653239	0,000426	0,033874
miR-9-1	Nº 24	10,102819	9,212988	3,651886	0,000388	0,033874
miR-125a	Nº 107	10,960998	10,005312	3,651356	0,000452	0,033874
miR-95	Nº 84	9,435733	8,751331	3,59406	0,000478	0,039594
miR-155	Nº 157	12,505359	13,231221	-3,58369	0,000614	0,040394
miR-199b	Nº 194	9,755066	9,082751	3,55934	0,000588	0,04314
miR-24-2	Nº 54	12,611696	11,612557	3,518774	0,00087	0,048278
let-7e	Nº 11	12,497795	13,055093	-3,51589	0,00054	0,048354
miR-92-1	Nº 81	16,081074	16,592426	-3,50446	0,000928	0,49828

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

ES 2 604 324 T3

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

miR	ID	Valor d.	devtip	Valor p	Valor q	Factor de R
miR-21	Nº 47	3,156	0,24	0	0	2,593
miR-23b	Nº 51	3,117	0,212	0	0	0,443
miR-138-2	Nº 133	-2,514	0,2	0	0	0,402
miR-218-2	Nº 221	-2,383	0,17	0	0	0,384
miR-29b-2	Nº 95	2,246	0,236	0	0	1,868
miR-128a	Nº 113	-2,285	0,177	0	0	0,368
prec						
miR-195	Nº 184	2,085	0,203	0	0	1,695
miR-141	Nº 137	2,08	0,179	0	0	2,459
miR-199a-1	Nº 191	1,987	0,201	0	0	1,945
miR-9-3	Nº 28	-1,97	0,204	0	0	0,433
miR-16-2	Nº 39	1,966	0,229	0	0	1,788
miR-17-5p	Nº 41	1,964	0,296	0	0	0,725
miR-20a	Nº 46	1,898	0,283	0	0	0,969
miR-16-1	Nº 38	1,87	0,232	0	0	1,447
miR-212	Nº 209	-1,854	0,167	0	0	0,509
prec						
miR-34a	Nº 78	1,756	0,232	0	0	1,219
miR-152	Nº 151	-1734	0,2	0	0	0,46
prec						
miR-199a-2	Nº 192	1,721	0,196	0	0	1,838
miR-128b	Nº 115	1,674	0,238	0	0	1,266
miR-212	Nº 208	-1,659	0,121	0	0	0,627
let-7a-1	Nº 1	-1,628	0,157	0	0	0,461
miR-200b	Nº 195	1,626	0,225	0	0	1,432
miR-128a	Nº 114	-1,619	0,156	0	0	0,511
miR-29c	Nº 65	1,611	0,24	0	0	1,225
let-7a-3	Nº 4	1,581	0,226	0	0	1,109
miR-29a	Nº 62	1,565	0,229	0	0	1,706
miR-24-2	Nº 54	1,555	0,284	0	0	0,831
miR-138-1	Nº 132	-1,551	0,222	0	0	0,432
miR-125a	Nº 107	1,541	0,262	0	0	1,164
miR-106a	Nº 99	1,514	0,275	0	0	0,952
miR-132	Nº 121	1,496	0,192	0	0	2,158
miR-30d	Nº 72	-1,491	0,174	0	0	0,424
miR-9-1	Nº 24	1,478	0,244	0	0	0,763
miR-27a	Nº 59	1,448	0,229	0	0	1,174
miR-181b-1	Nº 21	1,435	0,18	0	0	1,525
prec						
let-7g	Nº 15	1,394	0,221	0	0	1,072
miR-96	Nº 86	-1,384	0,194	0	0	0,519
miR-191	Nº 177	1,372	0,201	0	0	1,165
miR-93-1	Nº 83	1,363	0,266	0	0	0,775
miR-136	Nº 130	-1,355	0,267	0	0	0,364
miR-205	Nº 201	1,343	0,309	0	0	1,281
miR-185	Nº 170	1,287	0,222	0,001	0,001	0,609
miR-125b-1	Nº 109	1,262	0,283	0,001	0,001	1,215
miR-10a	Nº 30	1,252	0,227	0,001	0,001	1,643
miR-95	Nº 84	1,247	0,19	0,001	0,001	1,509
miR-199b	Nº 194	1,228	0,189	0,001	0,001	1,246

miR-10b	Nº 32	1,219	0,232	0,002	0,001	1,342
let-7i	Nº 10	1,216	0,203	0,002	0,001	1,026
miR-210	Nº 205	1,213	0,237	0,002	0,001	1,088

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

Tabla 5. MicroARN seleccionados por PAM (análisis de predicción de 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
miR-9-3	Nº 28	-0,0357	0,1176
miR-212 prec	Nº 209	-0,0342	0,1129
miR-20a	Nº 46	0,0322	-0,1061
miR-141	Nº 137	0,0322	-0,1061
miR-199-1	Nº 191	0,0319	-0,1053
miR-16-2	Nº 39	0,0315	-0,1037
miR-152 prec	Nº 151	-0,0283	0,0933
miR-16-1	Nº 38	0,0277	-0,0913
miR-34a	Nº 78	0,0269	-0,0886
miR-212	Nº 208	-0,0265	0,0875
let-7a-1	Nº 1	-0,0264	0,0872
miR-128a	Nº 114	-0,0259	0,0855
miR-128b	Nº 115	0,0254	-0,0839
miR-24-2	Nº 54	0,0244	-0,0803
miR-29c	Nº 65	0,0224	-0,0738
miR-199a-2	Nº 192	0,0223	-0,0736
let-7a-3	Nº 4	0,0221	-0,073
miR-191	Nº 177	0,0188	-0,062
miR-125a	Nº 107	0,0186	-0,0613
miR-30d	Nº 72	-0,0185	0,061
miR-29a	Nº 62	0,0184	-0,0608
miR-106a	Nº 99	0,0177	-0,0584
miR-93-1	Nº 83	0,0163	-0,0537
miR-200b	Nº 195	0,0159	-0,0524
let-7g	Nº 15	0,0158	-0,0521
miR-27a	Nº 59	0,0157	-0,0518
miR-96	Nº 86	-0,0156	0,0514
let-7b	Nº 5	-0,0152	0,0501
miR-138-1	Nº 132	-0,0151	0,0499
miR-9-1	Nº 24	0,0136	-0,0448
miR-181b-1 prec	Nº 211	0,0134	-0,0442
miR-155	Nº 157	-0,0128	0,0423
miR-132	Nº 121	0,0127	-0,0418

miR-136	Nº 130	-0,0112	0,037
let-7i	Nº 10	0,0103	-0,034
miR-210	Nº 205	0,0074	-0,0245
miR-205	Nº 201	0,0073	-0,024
*. miR-185	Nº 170	0,0071	-0,0234
miR-24-1	Nº 52	0,007	-0,023
miR-199b	Nº 194	0,0064	-0,021
miR-125b-1	Nº 109	0,006	-0,0199
miR-206 prec	Nº 203	-0,005	0,0166
miR-10a	Nº 30	0,0045	-0,015
miR-95	Nº 84	0,0045	-0,0149
let-7e	Nº 11	-0,0039	0,013
miR-124a-3	Nº 106	-0,0028	0,0091
miR-10b	Nº 32	0,002	-0,0066
miR-185 prec.	Nº 171	-0,0014	0,0047
miR-92-1	Nº 81	-2,00E-04	5,00E-04

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

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

5 Resultados

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

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

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

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

Tabla 7. microARN desregulados en cánceres comunes sólidos*.

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

Próstata	39	49 (FDR=0,06)	6	3
----------	----	---------------	---	---

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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-21 (Nº 47)	0,0331	-0,4364
miR-29b-2 (Nº 95)	0,0263	-0,3467
miR-146 (Nº 144)	0,0182	-0,2391
miR-125b-2 (Nº 111)	-0,0174	0,2286
miR-125b-1 (Nº 109)	-0,0169	0,222
miR-10b (Nº 32)	-0,0164	0,2166
miR-145 (Nº 143)	-0,0158	0,2076
miR-181a (Nº 158)	0,0153	-0,201
miR-140 (Nº 136)	-0,0122	0,1613
miR-213 (Nº 160)	0,0116	-0,1527
miR-29a prec (Nº 63)	0,0109	-0,1441
miR-181b-1 (Nº 210)	0,0098	-0,1284
miR-199b (Nº 194)	0,0089	-0,1172
miR-29b-1 (Nº 64)	0,0084	-0,1111
miR-130a (Nº 120)	-0,0076	0,1001
miR-155 (Nº 157)	0,0072	-0,0951
let-7a-2 (Nº 3)	-0,0042	0,0554
miR-205 (Nº 201)	-0,004	0,0533
miR-29c (Nº 65)	0,0032	-0,0423
miR-224 (Nº 228)	-0,003	0,0399
miR-100 (Nº 91)	-0,0021	0,0283
miR-31 (Nº 73)	0,0017	-0,022
miR-30c (Nº 70)	-7,00E-04	0,009
miR-17-5p (Nº 41)	7,00E-04	-0,0089
miR-210 (Nº 205)	4,00E-04	-0,0057
miR-122a (Nº 101)	4,00E-04	-0,005
miR-16-2 (Nº 39)	-1,00E-04	0,0013

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

5 Tabla 9. MicroARN seleccionados por análisis de predicción de microserie (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* (N° 102)	0,0199	-0,1144
miR-128b (N° 115)	0,0177	-0,102
miR-21 (N° 47)	0,0162	-0,0929
miR-24-2 (N° 54)	0,0145	-0,0835
miR-99b prec (N° 88)	0,0125	-0,0721
miR-155 (N° 157)	0,0092	-0,0528
miR-213 (N° 160)	0,0091	-0,0522
miR-150 (N° 148)	0,0042	-0,0243
miR-107 (N° 100)	0,003	-0,0173
miR-191 (N° 177)	0,0028	-0,0159
miR-221 (N° 224)	0,002	-0,0116
miR-9-3 (N° 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

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

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-21 (N° 47)	0,175	-0,175
miR-205 (N° 201)	0,1317	-0,1317
miR-200b (N° 195)	0,1127	-0,1127
miR-9-1 (N° 24)	0,1014	-0,1014
miR-210 (N° 205)	0,0994	-0,0994
miR-148 (N° 146)	0,0737	-0,0737
miR-141 (N° 137)	0,0631	-0,0631
miR-132 (N° 121)	0,0586	-0,0586
miR-128b (N° 115)	0,0559	-0,0559
let-7g (N° 15)	0,0557	-0,0557
miR-16-2 (N° 39)	0,0547	-0,0547
miR-129-1/2 prec (N° 118)	0,0515	-0,0515
miR-126* (N° 102)	-0,0406	0,0406
miR-142-as (N° 139)	0,0366	-0,0366
miR-30d (N° 72)	-0,0313	0,0313
miR-30a-5p (N° 66)	-0,0297	0,0297
miR-7-2 (N° 21)	0,0273	-0,0273
miR-199a-1 (N° 191)	0,0256	-0,0256
miR-127 (N° 112)	0,0254	-0,0254
miR-34a prec (N° 79)	0,0214	-0,0214
miR-34a (N° 78)	0,0188	-0,0188
miR-136 (N° 130)	0,0174	-0,0174
miR-202 (N° 196)	0,0165	-0,0165
miR-196-2 (N° 188)	0,0134	-0,0134
miR-199a-2 (N° 192)	0,0126	-0,0126
let-7a-2 (N° 3)	0,0109	-0,0109
miR-124a-1 (N° 104)	0,0081	-0,0081
miR-149 (N° 147)	0,0079	-0,0079
miR-17-5p (N° 41)	0,0061	-0,0061
miR-196-1 prec (N° 186)	0,0053	-0,0053
miR-10a (N° 30)	0,0049	-0,0049
miR-99b prec (N° 88)	0,0045	-0,0045
miR-196-1 (N° 185)	0,0044	-0,0044
miR-199b (N° 194)	0,0039	-0,0039
miR-195 (N° 184)	7,00E-04	-7,00E-04

miR-155 (N° 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 microserie (PAM) en cáncer pancreático (cáncer frente a tejidos normales)*.

miR	Puntuación de cáncer	Puntuación normal
miR-103-2 (N° 96)	0,4746	-1,582
miR-103-1 (N° 97)	0,4089	-1,3631
miR-24-2 (N° 54)	0,4059	-1,3529
miR-107 (N° 100)	0,3701	-1,2336
miR-100 (N° 91)	0,3546	-1,182
miR-125b-2 (N° 111)	0,3147	-1,0489
miR-125b-1 (N° 109)	0,3071	-1,0237
miR-24-1 (N° 52)	0,2846	-0,9488
miR-191 (N° 177)	0,2661	-0,887
miR-23a (N° 50)	0,2586	-0,8619
miR-26a-1 (N° 56)	0,2081	-0,6937
miR-125a (N° 107)	0,1932	-0,644
miR-130a (N° 120)	0,1891	-0,6303
miR-26b (N° 58)	0,1861	-0,6203
miR-145 (N° 143)	0,1847	-0,6158
miR-221 (N° 224)	0,177	-0,59
miR-126* (N° 102)	0,1732	-0,5772
miR-16-2 (N° 39)	0,1698	-0,5659
miR-146 (N° 144)	0,1656	-0,552
miR-214 (N° 212)	0,1642	-0,5472
miR-99b (N° 89)	0,1636	-0,5454
miR-128b (N° 115)	0,1536	-0,512
miR-155 (N° 157)	-0,1529	0,5098
miR-29b-2 (N° 95)	0,1487	-0,4956
miR-29a (N° 62)	0,1454	-0,4848
miR-25 (N° 55)	0,1432	-0,4775
miR-16-1 (N° 38)	0,1424	-0,4746
miR-99a (N° 90)	0,1374	-0,4581
miR-224 (N° 228)	0,1365	-0,4549
miR-30d (N° 72)	0,1301	-0,4336
miR-92-2 (N° 82)	0,116	-0,3865
miR-199a-1 (N° 191)	0,1158	-0,3861
miR-223 (N° 227)	0,1141	-0,3803
miR-29c (N° 65)	0,113	-0,3768
miR-30b (N° 68)	0,1008	-0,3361
miR-129-112 (N° 117)	0,1001	-0,3337
miR-197 (N° 189)	0,0975	-0,325
miR-17-5p (N° 41)	0,0955	-0,3185
miR-30c (N° 70)	0,0948	-0,316
miR-7-1 (N° 19)	0,0933	-0,311
miRs-93-1 (N° 83)	0,0918	-0,3061
miR-140 (N° 136)	0,0904	-0,3015
miR-30a-5p (N° 66)	0,077	-0,2568
miRs-132 (N° 121)	0,0654	-0,2179
miR-181b-1 (N° 210)	0,0576	-0,1918
miR-152 prec (N° 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 microserie (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 microserie (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.

5

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

miR	N	Tipo de Tumor
miR-21	6	Mama Colon Pulmón Páncreas Próstata Estómago
miR-17-5p	5	Mama Colon Pulmón Páncreas Próstata

miR-191	5	Colon Pulmón Páncreas Próstata Estómago
miR-29b-2	4	Mama Colon Páncreas Próstata
miR-223	4	Colon Páncreas Próstata Estómago
miR-128b	3	Colon Pulmón Páncreas
miR-199a-1	3	Pulmón Páncreas Próstata
miR-24-1	3	Colon Páncreas Estómago
miR-24-2	3	Colon Páncreas Estómago
miR-146	3	Mama Páncreas Próstata
miR-155	3	Mama Colon Pulmón
miR-181b-1	3	Mama Páncreas Próstata
miR-20a	3	Colon Páncreas Próstata
miR-107	3	Colon Páncreas Estómago
miR-32	3	Colon Páncreas Próstata
miR-92-2	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-214	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-30c	3	Colon Páncreas Próstata
miR-25	3	Páncreas Próstata Estómago
miR-221	3	Colon Páncreas Estómago
miR-106a	3	Colon Páncreas Próstata
* - La lista incluye 21 microARN regulados positivamente habitualmente en 3 o más (N) tipos de cánceres sólidos (p valor = $2,5 \times 10^{-3}$).		

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

5

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

10

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.

15

20

25

Varias observaciones refuerzan estos resultados. En primer lugar, en el presente estudio, los niveles de expresión tanto del pre-miARN precursor como del miARN maduro se determinaron para la mayoría de los genes. Debe observarse que con la excepción de miR-212 y miR-128a, en todos los otros casos, la región expresada de forma anómala era la correspondiente al producto génico activo. En segundo lugar, como se muestra en la FIGURA 3, la variación de expresión de los miARN en el subconjunto exhaustivo era con frecuencia unívoca (concretamente

30

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 microseries 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 microseries.

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

Materiales y métodos:

Predicciones de diana de oncogén y supresor de tumores

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

Ensayos in vitro de diana

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

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).

Resultados

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

Las predicciones informáticas para tres genes de cáncer diferentes, Retinoblastoma (Rb), receptor de TGF-beta-2 (TGFBR2) y gen de adenoma pleiomórfico 1 (PLAG1), se confirmaron experimentalmente por ensayos *in vitro*. Usando un ensayo de indicador de luciferasa, tres microARN ensayados (miR-106a, miR-20a y miR-26a-1) provocaron una reducción significativa de la traducción de proteínas en relación con los oligoARN de control mezclados en células MEG-01 transfectadas (FIGURA 6). Se descubrió, por ejemplo, que las UTR 3' de retinoblastoma 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 TFGBR2 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: 939-943 (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:Bc12. Notablemente, miR-17-5p y miR-16 son miembros del distintivo de cáncer sólido de miARN descrito en la presente memoria.

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

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

miR-20	E2F1	factor de transcripción de E2F 1
miR-20	ELK3	ELK3, proteína de dominio ETS (proteína accesoria de SRF 2)
miR-24	ELL	gen de ELL (gen de leucemia rica en lisina 11-19)
miR-26a, miR-138	ERBB4	tipo homólogo de oncogén viral de leucemia eritroblástica aviar v-erb-a 4
miR-221, miR-155, miR-125b	ETS1	homólogo 1 del oncogén E26 de virus de eritroblastosis aviar v-ets
miR-20	ETV1	gen variante de ets 1
miR-125b	ETV6	gen variante de ets 6 (oncogén TEL)
miR-223	FAT	homólogo de supresor de tumores FAT (<i>Drosophila</i>)
miR-223, miR-125b, miR-218	FGFR2	receptor de factor de crecimiento de fibroblastos 2
miR-92	FLI1	integración de virus de leucemia de Friend 1
miR-24, miR-20	FLT1	tirosina quinasa 1 relacionada con fins (factor de crecimiento endotelial vascular/receptor de factor de permeabilidad vascular)
miR-221	FOS	homólogo del oncogén viral de osteosarcoma murino v-fos FBJ
miR-92	FOXG1B	G1B de caja forkhead
miR-223	FOXO3A	O3A de caja forkhead box
miR-125b	GOLGA5	autoantígeno de golgi, subfamilia a de golgina, 5 (PTC5)
miR-138	GPHN	gefirina (GPH)
miR-107, miR-223, miR-20, miR-218	HLF	factor de leucemia hepática
miR-26a, miR-107	HMGA1	gancho AT de grupo de alta movilidad 1
miR-20	HOXA13	A13 de caja homeótica
miR-92	HOXA9	A9 de caja homeótica
miR-125b	IRF4	factor regulador de interferón 4
miR-146, miR-20, miR-138	JAZF1	yuxtapuesto con otro gen de dedo de cinc 1
miR-92	JUN	homólogo del oncogén 17 del virus de sarcoma aviar v-jun
miR-155	KRAS	homólogo del oncogén viral de sarcoma de rata de Kirsten 2 v-Ki-ras 2
miR-218	LASP1	proteína LIM y SH3 1
miR-218	LHFP	compañero de fusión de HMGIC de lipoma
miR-125b, miR-218	LIFR	receptor de factor inhibidor de leucemia
miR-223	LM02	dominio de LIM solamente 2 (tipo rombotina 1) (RBTN2)
miR-223, miR-155, miR-125b, miR-92	MAF	homólogo del oncogén de fibrosarcoma musculaponeurótico (aviar v-maf)
miR-92	MAP2K4	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 4
miR-146, miR-20	MAP3K8	proteína quinasa quinasa activada por mitógeno 8
miR-125b	MAX	proteína MAX
miR-218	MCC	mutada en cánceres colorrectales
miR-24	MEN1	neoplasia endocrina múltiple I
miR-138	MLLT6	leucemia mieloide/linfoide o de linaje mixto (homólogo de trithorax, <i>Drosophila</i>) translocado a 6 (AF17)
miR-192	MSN	moesina
miR-24	MYB	homólogo del oncogén viral de mieloblastosis aviar v-myb
miR-107, miR-223, miR-146, miR-221, miR-155, miR-218	MYBL1	tipo homólogo de oncogén viral de mieloblastosis aviar v-myb 1
miR-107, miR-20	MYCN	derivado de neuroblastoma de oncogén relacionado con virus de mielocistomatosis aviar v-myc
miR-107, miR-92	MYH9	miosina, polipéptido pesado 9, no muscular
miR-24	MYST4	histona acetiltransferasa MYST (leucemia monocítica) 4 (MORF)
miR-20	NBL1	neuroblastoma, supresión de tumorogenicidad 1
miR-125b	NIN	nineína (proteína que interacciona con GSK3B)
miR-26a, miR-107	NKTR	secuencia de reconocimiento de tumor de citolítica natural
miR-92	NOTCH1	homólogo de Notch 1, asociado a translocación (<i>Drosophila</i>) (TAN1)
miR-24	NTRK3	tirosina quinasa neurotrófica, receptor, tipo 3
miR-125b	PCSK7	subtilisina de proproteína convertasa/quexina tipo 7
miR-24, miR-146	PER1	homólogo de periodo 1 (<i>Drosophila</i>)
miR-146, miR-125b, miR-138,	PHOX28	homeocaja de tipo emparejado 2b

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

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

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

5

LISTADO DE SECUENCIAS

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

10 <120> MÉTODOS Y COMPOSICIONES BASADAS EN MICROARN PARA EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE CÁNCERES SÓLIDOS

ES 2 604 324 T3

<130> 1-28349

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

5 <150> PCT/US07/000159
<151> 03-01-2007

10 <150> 60/756.585
<151> 05-01-2006

<160> 498

15 <170> PatentIn versión 3.5

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

20 <400> 1

cacuguggga ugagguagua gguuguauag uuuuaggguc acaccaccca cugggagaua 60

acuauacaau cuacugucuu uccuaacgug 90

25 <210> 2
<211> 72
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

30 <400> 2

agguugaggu aguagguugu auaguuuga auuacaucaa gggagauaac uguacagccu 60

ccuagcuuuc cu 72

35 <210> 3
<211> 74
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

40 <400> 3

gggugaggua guagguugua uaguuuuggg cucugcccug cuaugggaua acuauacaau 60

cuacugucuu uccu 74

45 <210> 4
<211> 107
<212> ARN
<213> *Homo sapiens*

<400> 4

gugacugcau gcucccaggu ugagguagua gguuguauag uuuagaaua cacaagggag 60

50 **auaacuguac agccuccuag cuuuccuugg gucuugcacu aaacaac 107**

ES 2 604 324 T3

	<210> 5		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 5		
		ggcgggguga gguaguaggu ugugugguuu cagggcagug auguugcccc ucggaagaua	60
		acuauacaac cuacugccuu cccug	85
10	<210> 6		
	<211> 84		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 6		
		gcauccgggu ugagguagua gguuguaugg uuuagaguua caccuggga guuaacugua	60
		caaccuucua gcuuuccuug gage	84
20	<210> 7		
	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 7		
		ccuaggaaga gguaguaggu ugcauaguuu uagggcaggg auuuugccca caaggaggua	60
		acuauacgac cugcugccuu ucuuagg	87
30	<210> 8		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 8		
		cuaggaagag guaguaguuu gcauaguuu agggcaaaga uuuugccac aaguaguug	60
35		cuauacgacc ugcagccuuu uguag	85
40	<210> 9		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 9		
		cuggcugagg uaguaguug ugcuguuggu cggguuguga cauugccccg ucuggagaua	60
		acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
45	<210> 10		
	<211> 79		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 10		

ES 2 604 324 T3

	ccccgggcuga gguaggaggu uguauaguug aggaggacac ccaaggagau cacuauacgg	60
	ccuccuagcu uccccagg	79
5	<210> 11 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 11	
	ucagagugag guaguagauu guauaguugu gggguaguga uuuuaccug uucaggagau	60
10	aacuauaca ucuauugccu ucccuga	87
15	<210> 12 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 12	
	cugugggaug agguaguaga uuguauaguu gugggguagu gauuuuacc uguucaggag	60
20	auaacuauac aaucuauugc cuuccuga	89
25	<210> 13 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 13	
	cugugggaug agguaguaga uuguauaguu uuagggucuu accccaucuu ggagauaacu	60
30	auacagucua cugucuuucc cacgg	85
35	<210> 14 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 14	
	uugccugauu ccaggcugag guaguaguuu guacaguug agggucuaug auaccaccg	60
	guacaggaga uaacuguaca ggccacugcc uugccaggaa cagcgcgc	108
40	<210> 15 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 15	
	cuggcugagg uaguaguug ugcuguuggu cggguuguga cauugcccgc uguggagaua	60
	acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85

ES 2 604 324 T3

	<210> 16		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 16		
	accuacucag aguacauacu ucuuuaugua cccauaugaa cauacaaugc uauggaaugu	60	
	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85	
10	<210> 17		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 17		
	cagcuaacaa cuuaguaaau ccuacucaga guacauacuu cuuuauaugc ccuauugaac	60	
	auacaauugcu auggaaugua aagaaguau guuuuuuggu aggcaaua	108	
20	<210> 18		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 18		
	gccugcuugg gaaacauacu ucuuuauaug cccauaugga ccugcuaagc uauggaaugu	60	
	aaagaaguau guaucucagg ccggg	85	
30	<210> 19		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 19		
	ugggaaacau acuucuuuau augcccuaau ggaccugcua agcuauaggaa uguaaagaag	60	
35	uauguaucuc a	71	
40	<210> 20		
	<211> 85		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 20		
	accuacucag aguacauacu ucuuuauaug cccauaugaa cauacaaugc uauggaaugu	60	
45	aaagaaguau guauuuuugg uaggc	85	
50	<210> 21		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 21		

ES 2 604 324 T3

	uggauguugg ccuaguucug uguggaagac uagugauuuu guuguuuuuu gaaacuaaa	60
	ucgacaacaa aucacagucu gccauauggc acaggccaug ccucuaca	108
5	<210> 22 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 22	
	uuggauguug gccuaguucu guguggaaga cuagugauuu uguuguuuuu agauaacuaa	60
10	aucgacaaca aaucacaguc ugccaauugg cacaggccaug gccucuacag	110
15	<210> 23 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 23	
	cuggauacag aguggaccgg cuggccccau cuggaagacu agugauuuug uguugucuu	60
20	acugcgcuca acaacaaauc ccagucuaacc uaauggugcc agccaucgca	110
25	<210> 24 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 24	
	agauuagagu ggcugugguc uagugcugug uggaagacua gugauuuugu uguucugaug	60
30	uacuacgaca acaagucaca gccggccuca uagcgcagac ucccuucgac	110
35	<210> 25 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 25	
	cggggguuggu uguuauuuuu gguuauucuag cuguaugagu gguguggagu cuucauaaag	60
40	cuagauaacc gaaaguaaaa auaacccca	89
	<210> 26 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 26	
45	ggaagcgagu uguuauuuuu gguuauucuag cuguaugagu guauuggucu ucauaaagcu	60
	agauaaccga aaguaaaaac uccuua	87
	<210> 27 <211> 90	

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 27		
5		ggaggcccgu uucucucuuu gguuaucuag cuguauagagu gccacagagc cgucauaaag	60
		cuagauaacc gaaaguagaa augauucuca	90
	<210> 28		
	<211> 110		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 28		
		gaucugucug ucuucugua uauaccugua gaucggaaau uguguaagga auuuuguggu	60
15		cacaaauucg uaucuagggg aauauguagu ugacauaaac acuccgcucu	110
	<210> 29		
	<211> 110		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 29		
		ccagagguug uaacguuguc uauauauacc cuguagaacc gaauuugugu gguaucggua	60
25		uagucacaga uucgauucua ggggaauaua uggucgaugc aaaaacuca	110
	<210> 30		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 30		
		gcgcgaaugu guguuuuuuu aaaaauuuuu cuuggaguaa aguagcagca cauaaugguu	60
		uguggauuuu gaaaaggugc aggccauuuu gugcugccuc aaaaauac	108
35	<210> 31		
	<211> 83		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 31		
		ccuuggagua aaguagcagc acauaauggu uuguggauuu ugaaaaggug caggccauau	60
		ugugcugccu caaaaauaca agg	83
	<210> 32		
45	<211> 64		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 32		
50			

ES 2 604 324 T3

	cuguagcagc acaucauggu uuacaugcua cagucaagau gcgaaucuu auuugcugcu	60
	cuag	64
5	<210> 33 <211> 98 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 33	
	uugaggccuu aaaguacugu agcagcacau caugguuuac augcuacagu caagaugcga	60
10	aucauuuuu gcugcucuag aaauuuagg aaauucau	98
	<210> 34 <211> 89 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 34	
	gucagcagug ccuuagcagc acguaaaauu uggcguaag auucuaaaau uaucuccagu	60
20	auuaacugug cugcugaagu aagguugac	89
	<210> 35 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 35	
	guuccacucu agcagcacgu aaauauuggc guagugaaau auauuuuuu caccauuuu	60
30	acugugcugc uuuaguguga c	81
	<210> 36 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 36	
	gcagugccuu agcagcacgu aaauauuggc guuaagauuc uaaaauuau uccaguauua	60
40	acugugcugc ugaaguaagg u	81
	<210> 37 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 37	
	gucagaauaa ugucaaagug cuuacagugc agguagugau augugcaucu acugcaguga	60
	aggcacuugu agcauuagg ugac	84
	<210> 38 <211> 71	

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 38		
5		uguucuaagg ugcaucuagu gcagauagug aaguagauua gcaucuacug cccuaagugc	60
		uccuucuggc a	71
	<210> 39		
	<211> 81		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 39		
		uuuuuguucu aaggugcauc uagugcagau agugaaguag auuagcaucu acugcccuaa	60
15		gugcuccuuc uggcauaaga a	81
	<210> 40		
	<211> 82		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 40		
		gcaguccucu guuaguuuug cauaguugca cuacaagaag aauguaguug ugcaaaucua	60
25		ugcaaaacug augguggccu gc	82
	<210> 41		
	<211> 80		
30	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 41		
		caguccucug uuaguuuugc auaguugcac uacaagaaga auguaguugu gcaaaucua	60
35		gcaaaacuga ugguggccug	80
	<210> 42		
	<211> 87		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 42		
		cacuguucua ugguuaguuu ugcagguuug cauccagcug ugugauauuc ugcugugcaa	60
		auccaugcaa aacugacugu gguagug	87
	<210> 43		
45	<211> 96		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 43		
50			

ES 2 604 324 T3

	acaauugcuac uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcguauauau guauaugugg	60
	cugugcaaaau ccaugcaaaa cugauuguga uaaugu	96
5	<210> 44 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 44	
	uucuaugguu aguuuugcag guuugcaucc agcuguguga uauucugcug ugcaaaacca	60
10	ugcaaaacug acugugguag	80
15	<210> 45 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 45	
	uuacaauuag uuuugcaggu uugcauuuca gcguauauau guauaugugg cugugcaaaau	60
20	ccaugcaaaa cugauuguga u	81
25	<210> 46 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 46	
	guagcacuaa agugcuuava gugcagguag uguuuaguua ucuacugcau uaugagcacu	60
30	uaaaguacug c	71
35	<210> 47 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 47	
	ugucggguag cuuauagac ugauugugac uguugaauca cauggcaaca ccagucgaug	60
40	ggcugucuga ca	72
45	<210> 48 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 48	
	accuugcgg guagcuuauc agacugaugu ugacuguuga aucucauggc aacaccaguc	60
50	gaugggcugu cugacauuuu g	81
	<210> 49 <211> 85 <212> ARN	

ES 2 604 324 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 49		
	ggcugagccg caguaguucu ucaguggcaa gcuuuuguc cugaccagc uaaagcugcc	60	
5	aguugaagaa cuguugcccu cugcc	85	
	<210> 50		
	<211> 73		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 50		
	ggccggcugg gguuccuggg gaugggauuu gcuuccuguc acaaaucaca uugccagga	60	
15	uuuccaaccg acc	73	
	<210> 51		
	<211> 97		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 51		
	cucaggugcu cuggcugcuu gguuccugg caugcugauu ugugacuuaa gauuaaauc	60	
	acaaugccag ggauuaccac gcaaccacga ccuuggc	97	
25	<210> 52		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 52		
	ccacggccgg cugggguucc uggggauggg auuugcuucc ugucacaaau cacauugcca	60	
	gggauuucca accgaccug a	81	
35	<210> 53		
	<211> 68		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 53		
40	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuaca cacuggcuca guucagcagg	60	
	aacaggag	68	
45	<210> 54		
	<211> 73		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 54		

ES 2 604 324 T3

	cucugccucc cgugccuacu gagcugaaac acaguugguu uguguacacu ggcucaguuc	60
	agcaggaaca ggg	73
5	<210> 55 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 55	
	cccugggcuc ugccucccgu gccuacugag cugaaacaca guugguuugu guacacuggc	60
10	ucaguucagc aggaacaggg g	81
	<210> 56 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 56	
	cccuccggug ccuacugagc ugauaucagu ucucuuuuu cacacuggcu caguucagca	60
20	ggaacagcau c	71
	<210> 57 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 57	
	ggccaguguu gagaggcggg gacuugggca auugcuggac gcugcccugg gcauugcacu	60
	ugucucgguc ugacagugcc ggcc	84
30	<210> 58 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 58	
	aggccguggc cucguucaag uauccagga uaggcugugc aggucccaau ggcuaucuu	60
	gguuacuugc acggggacgc gggccu	86
40	<210> 59 <211> 77 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 59	
	guggccucgu ucaaguaauc caggauaggc ugugcagguc ccaaugggcc uauucuuugu	60
	uacuugcagc gggacgc	77
	<210> 60 <211> 84	

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 60		
5		ggcuguggcg ggauucaagu aauccaggau aggcuguuuc caucugugag gccuauucuu	60
		gauuacuugu uucuggaggc agcu	84
	<210> 61		
	<211> 77		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 61		
		ccgggaccca guucaaguaa uucaggauag guugugugcu guccagccug uucuccauua	60
15		cuuggcucgg ggaccgg	77
	<210> 62		
	<211> 78		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 62		
		cugaggagca gggcuuagcu gcuugugagc aggguccaca ccaagucgug uucacagugg	60
25		cuaaguuccg cccccag	78
	<210> 63		
	<211> 73		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 63		
		aggugcagag cuuagcugau uggugaacag ugauugguuu ccgcuuuguu cacaguggcu	60
		aaguucugca ccu	73
35	<210> 64		
	<211> 97		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 64		
		accucucuaa caaggugcag agcuuagcug auuggugaac agugauuggu uuccgcuug	60
		uucacagugg cuaaguucug caccugaaga gaaggug	97
	<210> 65		
45	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 65		
50			

ES 2 604 324 T3

	ccugaggagc agggcuuagc ugcuuugugag caggguccac accaagucgu guucacagug	60
	gcuaaguucc gccccccagg	80
5	<210> 66 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 66	
	gguccuugcc cucaaggagc ucacagucua uugaguuacc uuucugacuu ucccacuaga	60
10	uugugagcuc cuggagggca ggcacu	86
15	<210> 67 <211> 108 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 67	
	ccuucuguga ccccuuagag gaugacugau uucuuuuggu guucagaguc aaauaauuu	60
20	ucuagcacca ucugaaaucg guuauaauga uuggggaaga gcaccaug	108
25	<210> 68 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 68	
	augacugauu ucuuuuggug uucagaguca auauaauuuu cuagcaccou cugaaaucgg	60
30	uuau	64
35	<210> 69 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 69	
	cuucaggaag cugguuucou auggugguuu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccouu	60
40	ugaaaucagu guucuuuggg g	81
45	<210> 70 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 70	
	cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuuucc aucuuuguau cuagcaccou	60
	uugaaaucag uguuuuagga g	81

ES 2 604 324 T3

<210> 71
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5 <400> 71
 accacuggcc caucucuua acaggcugac cgauuucucc ugguguucag agucuguuuu 60
 ugucuagcac cauuugaaau cgguuuugau guagggggaa aagcagcagc 110
 10 <210> 72
 <211> 71
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15 <400> 72
 gcgacuguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gaugggcuuu cagucggaug 60
 uuugcagcug c 71
 20 <210> 73
 <211> 60
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25 <400> 73
 auguaaaca ccaucacuca gcuguaauac auggauuggc ugggaggugg auguuuacgu 60
 30 <210> 74
 <211> 88
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 74
 accaaguuuc aguucaugua acauccuac acucagcugu aaucacugga uggcuggga 60
 35 <400> 74
 gguggauguu uacuucagcu gacuugga 88
 40 <210> 75
 <211> 72
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 75
 agauacugua acauccuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug 60
 uuuacucuuu cu 72
 45 <210> 76
 <211> 70
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 76

ES 2 604 324 T3

	guuguuguaa acauccccga cuggaagcug uaagacacag cuaagcuuc agucagaugu	60
	uugcugcuac	70
5	<210> 77 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 77	
	cuguaaacau ccuugacugg aagcuguaag guguucagag gagcuucag ucggauguuu	60
10	acag	64
15	<210> 78 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 78	
	ggagaggagg caagaugcug gcuaugcugu ugaacuggga accugcuug ccaacauuu	60
20	gccaucuuuc c	71
25	<210> 79 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 79	
	ggagauauug cacauuacua aguugcaugu ugucacggcc ucaaugcaau uuagugugug	60
30	ugauauuuuc	70
35	<210> 80 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 80	
	ggggggccgag agaggcgggc ggccccgcgg ugcauugcug uugcauugca cgugugugag	60
40	gcgggugcag ugccucggca gugcagcccg gagccggccc cuggcaccac	110
45	<210> 81 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 81	
	accaaguuuc aguucaugua acauccuac acucagcugu aaucaugga uggcuggga	60
	gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

	cuuucuacac agguugggau cgguugcaau gcuguguuuc uguaugguau ugcacuuguc	60
	ccggccuguu gaguuugg	78
5	<210> 88 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 88	
	ucaucccugg guggggauuu guugcauuac uuguguucua uauaaaguau ugcacuuguc	60
10	ccggccugug gaaga	75
15	<210> 89 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 89	
	cugggggcuc caaagugcug uucgugcagg uagugugauu acccaaccua cugcugagcu	60
20	agcacuuccc gagccccgg	80
25	<210> 90 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 90	
	aacacagugg gcacucaaua aaugucuguu gaaugaaau gcguuacauu caacggguau	60
30	uuauugagca cccacucugu g	81
35	<210> 91 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 91	
	uggccgauuu uggcacuagc acuuuuuugc uugugucucu cgcucugag caaucaugug	60
	cagugccaau augggaaa	78
40	<210> 92 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 92	
45	gugagcgacu guaaacaucc ucgacuggaa gcugugaagc cacagauggg cuuucagucg	60
	gauguuugca gcugccuacu	80
	<210> 93	

ES 2 604 324 T3

	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 93		
	gugagguagu aaguuguauu guuguggggu agggauauua ggccccaaau agaagauaac	60	
	uauacaacuu acuacuuucc	80	
10	<210> 94		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 94		
	ggcaccacc cguagaaccg accuugcggg gccuucgccg cacacaagcu cgugucugug	60	
	gguccguguc	70	
20	<210> 95		
	<211> 81		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 95		
	cccauuggca uaaacccgua gauccgaucu uguggugaag uggaccgcac aagcucgcuu	60	
25	cuaugggucu gugucagugu g	81	
30	<210> 96		
	<211> 108		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 96		
	aagagagaag auauugaggc cuguugccac aaacccguag auccgaacuu gugguauuag	60	
35	uccgcacaag cuuguaucua uagguaugug ucuguuaggc aaucucac	108	
40	<210> 97		
	<211> 80		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 97		
	ccuguugcca caaacccgua gauccgaacu ugugguauua guccgcacaa gcuuguaucu	60	
	auagguaugu gucuguuagg	80	
45	<210> 98		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 98		

ES 2 604 324 T3

	aggcugcccu ggcucaguua ucacagugcu gaugcugucu auucuaaagg uacaguacug	60
	ugauaacuga aggauggcag ccaucuuacc uuccaucaga ggagccucac	110
5	<210> 99 <211> 57 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 99	
10	ucaguuauca cagugcugau gcuguccauu cuaaagguac aguacuguga uacuga	57
15	<210> 100 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 100	
20	ugcccuggcu caguuauca agugcugaug cugucuauuc uaaagguaca guacugugau	60
	aacugaagga uggca	75
25	<210> 101 <211> 79 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 101	
30	acuguccuuu uucgguauc augguaccga ugcuguaauu cugaaaggua caguacugug	60
	auaacugaag aaugguggu	79
35	<210> 102 <211> 75 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 102	
40	uguccuuuuu cgguaucuu gguaccgaug cuguaauuc gaaagguaca guacugugau	60
	aacugaagaa uggug	75
45	<210> 103 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i> <400> 103	
50	cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaccuu	60
	uugaaucag uguuuuagga g	81
	<210> 104 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 604 324 T3

	<400> 104		
		cuucaggaag cugguuucau auggugguuu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccauu	60
		ugaaaucagu guucuugggg g	81
5	<210> 105 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 105		
		uugugcuuuc agcuucuuua cagugcugcc uuguagcauu caggucaagc aacauuguac	60
		agggcuauga aagaacca	78
15	<210> 106 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 106		
		uacugcccuc ggcuucuuua cagugcugcc uuguugcaua uggaucaagc agcauuguac	60
		agggcuauga aggcuuug	78
25	<210> 107 <211> 78 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 107		
		aaaugucaga cagcccucg acugguguug ccaugagauu caacagucua caucagucug	60
30		auaagcuacc cgacaagg	78
35	<210> 108 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 108		
		ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cucaugcacc acggauguuu	60
40		gagcaugugc uacggugucu a	81
45	<210> 109 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 109		
		ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cuuauugcacc acggauguuu	60
		gagcaugugc uauuggugucu a	81
50	<210> 110 <211> 81		

ES 2 604 324 T3

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 110
 5
 ccuuggccau guaaaagugc uuacagugca gguagcuuuu ugagaucuac ugcaauguaa 60
 gcacuucuaa cauuaccaug g 81
 <210> 111
 <211> 82
 10 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 111
 ccugccgggg cuaaagugcu gacagugcag auaguggucc ucuccgugcu accgcacugu 60
 15 <210> 112
 <211> 81
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 112
 cucucugcuu ucagcuucuu uacaguguug ccuuguggca uggaguucuaa gcagcauugu 60
 25 <210> 113
 <211> 90
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 113
 acacugcaag aacaauaagg auuuuuaggg gcuuuugac ugagucagaa aacacagcug 60
 ccccugaaag ucccucauuu uucugcugu 90
 35 <210> 114
 <211> 80
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 114
 acugcaagag caauaaggau uuuuaggggc auuugauag uggaauggaa acacaucugc 60
 ccccaaaagu cccucauuuu 80
 45 <210> 115
 <211> 85
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 115

ES 2 604 324 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 uauuaaugcg	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
	gcggugaaug ccaagaaugg ggcug	85
30	<210> 119 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 119	
	aucaagauua gaggcucugc ucuccguguu cacagcggac cuugauuuua ugucauacaa	60
	uuaggcacg cggugaaugc caagagcggg gccuacggcu gcacuugaag	110
40	<210> 120 <211> 87 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 120	
	ugagggcccc ucugcguguu cacagcggac cuugauuuua ugucuauaca auuaaggcac	60
	gcggugaaug ccaagagagg cgccucc	87
50	<210> 121 <211> 68 <212> ARN	

ES 2 604 324 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 121		
	cucugcgugu ucacagcggg ccuugauuuu augucuauac aauuaaggca cgcggugaau	60	
5	gccaagag	68	
	<210> 122		
	<211> 67		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 122		
	cucuccgugu ucacagcggg ccuugauuuu augucauaca auaaaggcac gcggugaaug	60	
	ccaagag	67	
15	<210> 123		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 123		
	ugccagucuc uaggucccug agaccuuuuu accugugagg acauccaggg ucacagguga	60	
	gguuucuuagg agccuggcgu cuggcc	86	
25	<210> 124		
	<211> 65		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 124		
	ggucccugag acccuuuuac cugugaggac auccaggguc acaggugagg uucuuaggag	60	
	ccugg	65	
	<210> 125		
	<211> 88		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 125		
	ugcgcuccuc ucagucccug agaccuaac uugugauguu uaccguuuu auccacgggu	60	
	uaggcucuuu ggagcugcga gucgugcu	88	
	<210> 126		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 126		

ES 2 604 324 T3

	accagacuuu uccuaguccc ugagaccua acuuugugagg uauuuuagua acaucacaag	60
	ucaggcucuu gggaccuagg cggagggga	89
5	<210> 127 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 127	
	cgcuaggcgac gggacauuau uacuuuuggu acgcgcugug acacuucaaa cucguaccgu	60
10	gaguaaauau gcgccgucca cggca	85
15	<210> 128 <211> 61 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 128	
	acaauuuuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uauuaaugcg	60
20	c	61
25	<210> 129 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 129	
	ugugaucacu gucuccagcc ugcugaagcu cagagggcuc ugauucagaa agaucaucgg	60
	auccgucuga gcuuggcugg ucggaagucu caucauc	97
30	<210> 130 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 130	
	ccagccugcu gaagcucaga gggcucugau ucagaaagau caucggaucc gucugagcuu	60
	ggcuggucgg	70
40	<210> 131 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 131	
	ugagcuguug gauucggggc cguagcacug ucugagaggu uuacauuucu cacagugaac	60
	cggucucuuu uucagcugcu uc	82
	<210> 132 <211> 110	

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 132		
5		gcccggcagc cacugugcag ugggaagggg ggccgauaca cuguacgaga gugaguagca	60
		ggucucacag ugaaccgguc ucuuuccua cugugucaca cuccuaaugg	110
	<210> 133		
	<211> 70		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 133		
		guuggauucg gggccguagc acugucugag agguuuacau uucucacagu gaaccggucu	60
15		cuuuuucagc	70
	<210> 134		
	<211> 74		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 134		
		uggaucuuuu ugcggucugg gcuugcuguu ccucucaaca guagucagga agcccuuacc	60
25		ccaaaaagua ucua	74
	<210> 135		
	<211> 90		
30	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 135		
		ugcccuucgc gaaucuuuuu gggucuggg cuugcuguac auaacucaau agccggaagc	60
		ccuuacccca aaaagcauuu gcgaggggcg	90
35	<210> 136		
	<211> 89		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 136		
		ugcugcuggc cagagcucuu uucacauugu gcuacugucu gcaccuguca cuagcagugc	60
		aauguuaaaa gggcauuggc cguguagug	89
	<210> 137		
45	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 137		
50			

ES 2 604 324 T3

	gccaggaggc gggguugguu guuauuuug guuaucuagc uguaugagug guguggaguc	60
	uucauaaagc uagauaacgg aaaguaaaa uaaccccaua cacugcgcag	110
5	<210> 138 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 138	
	cacggcgcg g cagcggcacu ggcuaagggg ggcccguuuc ucucuuggu uaucuagcug	60
10	uauagagugcc acagagccgu cauaaagcua gauaacccgaa aguagaaaug	110
15	<210> 139 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 139	
	guuguuaucu uugguuaucu agcuguauga guguauggu cuucauaaag cuagauaac	60
20	gaaaguaaaa ac	72
25	<210> 140 <211> 101 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 140	
	ccgccccgc gucuccaggg caaccguggc uuucgauugu uacuguggga acuggaggua	60
30	acagucuaca gccauggucg ccccgagca cgcccacgcg c	101
35	<210> 141 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 141	
	gggcaaccgu ggcuuucgau uguuacugug ggaacuggag gaaacagucu acagccaugg	60
40	ucgccc	66
	<210> 142 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 142	
	acaaugcuuu gcuaagcug guaaaugga accaaaucgc cucuuaaug gauuuggucc	60
	ccuuaacca gcuguagcua ugcauuga	88
	<210> 143 <211> 102	

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 143		
5		gggagcctaaa ugcuuugcua gagcugguaa aauggaacca aaucgacugu ccaauggauu	60
		ugguueccuu caaccagcug uagcugugca uugauggcgc cg	102
	<210> 144		
	<211> 68		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 144		
		gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuucaaug gauuuggucc ccuucaccca	60
15		gcuguagc	68
	<210> 145		
	<211> 119		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 145		
		ccucagaaga aauguagccc cugcucuggc uggucacacg gaaccaaguc cgucuuuccug	60
25		agagguuugg uccccucaa ccagcuacag cagggcuggc aaugcccagu ccuuggaga	119
	<210> 146		
	<211> 80		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 146		
		gccccugcu cuggcugguc aaacggaacc aaguccgucu uccugagagg uuuggucccc	60
		uucaaccagc uacagcagg	80
35	<210> 147		
	<211> 73		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 147		
		cagggugugu gacugguuga ccagaggggc augcacugug uucaccugu gggccaccua	60
		gucaccaacc cuc	73
	<210> 148		
45	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 148		
50			

ES 2 604 324 T3

	agggugugug acugguugac cagaggggca ugcacugugu ucacccugug ggccaccuag	60
	ucaccaaccc u	71
5	<210> 149 <211> 90 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 149	
	aggccucgcu guucucuaug gcuuuuuuu ccuaugugau ucuacugcuc acucauauag	60
10	ggauuggagc cguggcgcac ggcggggaca	90
15	<210> 150 <211> 100 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 150	
	agauaaauc acucuagugc uuuauggcuu uuuaauccua ugugauagua auaaagucuc	60
20	auguagggau ggaagccaug aaauacauug ugaaaaauca	100
25	<210> 151 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 151	
	cuauggcuuu uuauuccuau gugauucuaac ugcucacuca uauagggauu ggagccgugg	60
30	<210> 152 <211> 97 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 152	
	cacucugcug uggccuaugg cuuuucauuc cuaugugauu gcugucccaa acucauguag	60
	ggcuaaaagc caugggcuac agugaggggc gagcucc	97
40	<210> 153 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 153	
	ugagcccucg gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc	60
	aaugagucu ucagaggguu cu	82
50	<210> 154 <211> 62 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 604 324 T3

	<400> 154		
		gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugcucca ucaucgucuc aaaugagucu	60
		uc	62
5	<210> 155 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 155		
		cuucggugac ggguaauucu ggguggauaa uacggauuac guuguuauug cuuaagaaua	60
		cgcguaugucg agg	73
15	<210> 156 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 156		
		cccuggcaug gugugguggg gcagcuggug uugugaauca ggccguugcc aaucagagaa	60
		cgguacuuc acaacaccag ggccacacca cacuacagg	99
25	<210> 157 <211> 84 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 157		
		cguugcugca gcugguguug ugaauccaggc cgacgagcag cgcauccucu uaccggcua	60
30		uuucacgaca ccaggguugc auca	84
35	<210> 158 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 158		
		cagcuggugu ugugaauccag gccgacgagc agcgcauccu cuuaccggc uauuucacga	60
40		caccaggguu g	71
45	<210> 159 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 159		
		guguauucua cagugcacgu gucuccagug uggcucggag gcuggagacg cggcccuguu	60
		ggaguaac	68
50	<210> 160		

ES 2 604 324 T3

	<211> 100 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 160		
	ugugucucuc ucuguguccu gccagugguu uuacccuaug guagguuacg ucaugcuguu	60	
	cuaccacagg guagaaccac ggacaggaua cgggggcacc	100	
10	<210> 161 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 161		
	uccugccagu gguuuuaccc uaugguaggu uacgucaugc uguucuacca cagguagaa	60	
	ccacggacag ga	72	
20	<210> 162 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 162		
	ccugccagug guuuuacccu augguaggu acgucaugc guucuaccac agguagaa	60	
25	cacggacagg	70	
30	<210> 163 <211> 95 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 163		
	cggccggccc ugguccauc uuccaguaca guguuggaug gucuaauugu gaagcuccua	60	
35	acacugucug guaaagaugg cucccgggug gguuc	95	
40	<210> 164 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 164		
	ggguccaucu uccaguacag uguuggaugg ucuaauugug aagcuccuaa cacugucugg	60	
	uaaagauggc cc	72	
45	<210> 165 <211> 64 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 165		

ES 2 604 324 T3

	acccauaaag uagaaagcac uacuaacagc acuggagggg guaguguuuc cuacuuuaug	60
	gaug	64
5	<210> 166 <211> 106 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 166	
	gcgagcgcc cugucuccca gccugaggug cagugcugca ucucugguca guugggaguc	60
10	ugagaugaag cacuguagcu caggaagaga gaaguuguuc ugcagc	106
15	<210> 167 <211> 63 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 167	
	ccugaggugc agugcugcau cucuggucag uugggagucu gagaugaagc acuguagcuc	60
20	agg	63
25	<210> 168 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 168	
	uggggcccug gcugggauau caucauauac uguaaguug cgaugagaca cuacaguaua	60
	gaugauguac uaguccgggc accccc	86
30	<210> 169 <211> 66 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 169	
	ggcugggaua ucaucauaua cuguaaguuu gccaugagac acuacaguau agaugaugua	60
	cuaguc	66
40	<210> 170 <211> 88 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 170	
	caccuugucc ucacggucca guuuucccag gaaucccuua gaugcuaaga uggggauucc	60
	uggaaauacu guucuuagg ucaugguu	88
	<210> 171	

ES 2 604 324 T3

	<211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 171		
	cucacggucc aguuuuccca ggaaucccuu agaugcuaag auggggauuc cuggaaauac	60	
	uguucuugag	70	
10	<210> 172 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 172		
	ccgaugugua uccucagcuu ugagaacuga auuccauggg uugugucagu gucagaccuc	60	
	ugaaaauucag uucuucagcu gggauaucuc ugucaucgu	99	
20	<210> 173 <211> 65 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 173		
	agcuuugaga acugaauucc auggguuugug ucagugucag accugugaaa uucaguucuu	60	
25	cagcu	65	
30	<210> 174 <211> 72 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 174		
	aaucuaaaga caacauuucu gcacacacac cagacuaugg aagccagugu guggaaaugc	60	
35	uucugcuaga uu	72	
40	<210> 175 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 175		
	gaggcaaagu ucugagacac uccgacucug aguaugauag aagucagugc acuacagaac	60	
	uuugucuc	68	
45	<210> 176 <211> 99 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 176		
	caagcacgau uagcauuuga ggugaaguuc uguuauacac ucaggcugug gcucucugaa	60	

ES 2 604 324 T3

	agucagugca ucacagaacu uugucucgaa agcuuucua	99
	<210> 177	
	<211> 70	
5	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 177	
	aagcacgauu agcauuugag gugaaguucu guuauacacu caggcugugg cucucugaaa	60
10	gucagugcau	70
	<210> 178	
	<211> 89	
15	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 178	
	gccggcgccc gagcucuggc uccgugucu cacucccgug cuuguccgag gagggagggga	60
20	gggacggggg cugugcuggg gcagcugga	89
	<210> 179	
	<211> 53	
	<212> ARN	
25	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 179	
	gcucuggcuc cgugucuuca cucccgugcu uguccgagga gggagggagg gac 53	
30	<210> 180	
	<211> 84	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 180	
	cuccccaugg cccugucucc caaccuuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg	60
	ccugggggac agggaccugg ggac	84
40	<210> 181	
	<211> 64	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 181	
	cccugucucc caaccuuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg ccugggggac	60
	aggg	64
50	<210> 182	
	<211> 72	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 182	

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

<210> 194
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 194

 gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucucc **60**
 cucuggcugc caauuccaau ggucacaggu auguucgccu caaugccagc **110**
 10
 <210> 195
 <211> 80
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 15
 <400> 195

 ucccgccccc uguaacagca acuccaugug gaagugccca cugguuccag uggggcugcu **60**
 guuaucuggg gcgagggcca **80**
 20
 <210> 196
 <211> 70
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <400> 196

 aaagcugggu ugagagggcg aaaaaggau aggugacugg ucugggcuac gcuaugcugc **60**
 ggcgcucggg **70**
 30
 <210> 197
 <211> 64
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 197

 cauuggccuc cuaagccagg gauugugggu ucgaguccca cccgggguaa agaaaggccg **60**
 aauu **64**
 35
 <210> 198
 <211> 70
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40
 <400> 198

 ccuaagccag ggauuguggg uucgaguccc accuggggua gaggugaaa g uuccuuuuac **60**
 ggaauuuuuu **70**
 45
 <210> 199
 <211> 108
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50
 <400> 199

ES 2 604 324 T3

	caaugucagc agugccuuag cagcacguaa auauuggcgu uaagauucua aaauuauuc	60
	caguauuaac ugugcugcug aaguaagguu gaccuauuc uacaguug	108
5	<210> 200 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 200	
	gggcuucaa gucacuagug guuccguua guagaugauu gugcauugu ucaaaauggu	60
10	gcccuaguga cuacaaagcc c	81
15	<210> 201 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 201	
	acgcaagugu ccuaagguga gcucagggag cacagaaacc uccaguggaa cagaaggga	60
20	aaagcucauu	70
25	<210> 202 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 202	
	caugugucac uuucaggugg aguuucaaga gucccuuccu gguucaccgu cuccuuugcu	60
	cuuccacaac	70
30	<210> 203 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 203	
	agaagggcua ucaggccagc cuucagagga cuccaaggaa cauucaacgc ugucggugag	60
	uuugggauuu gaaaaacca cugaccguug acuguaccuu gggguccua	110
40	<210> 204 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 204	
	ccugugcaga gauuuuuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug	60
	aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcu	110
50	<210> 205 <211> 89 <212> ARN	

ES 2 604 324 T3

	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 205		
	cugauggcug cacucaacau ucauugcugu cgguggguuu gagucugaau caacucacug	60	
5	aucaaugaau gcaaacugcg gaccaaaca	89	
	<210> 206		
	<211> 110		
	<212> ARN		
10	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 206		
	cggaaaauuu gccaaagguu ugggggaaca uucaaccugu cggugaguuu gggcagcuca	60	
15	ggcaaaccou cgaccguuga guggaccoug aggccuggaa uugccaucou	110	
	<210> 207		
	<211> 110		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 207		
	gagcugcuug ccucuccccg uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg	60	
	auccgguggu ucuagacuug ccaacuauug ggcgaggacu cagccggcac	110	
25	<210> 208		
	<211> 70		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 208		
	uuuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg auccgguggu ucuagacuug	60	
	ccaacuauug	70	
35	<210> 209		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 209		
	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		
	ccagucacgu ccccuuauca cuuuuccagc ccagcuuugu gacuguaagu guuggacgga	60	
50	gaacugauaa ggguaagguga uuga	84	

ES 2 604 324 T3

	<210> 211		
	<211> 65		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 211		
	ccuuaucacu uuuccagccc agcuuuguga cuguaagugu uggacggaga acugauaagg	60	
	guagg	65	
10	<210> 212		
	<211> 82		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 212		
	agggggcgag ggauuggaga gaaaggcagu uccugauggu cccuucccca ggggcuggcu	60	
	uuccucuggu ccuuccucc ca	82	
20	<210> 213		
	<211> 66		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
25	<400> 213		
	agggauugga gagaaaggca guuccugaug gucccccucc caggggcugg cuuuccucug	60	
	guccuu	66	
30	<210> 214		
	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
35	<400> 214		
	ugcuuguaac uuuccaaaga auucuccuuu ugggcuuucu gguuuuauuu uaagcccaaa	60	
	ggugaauuuu uggggaaguu ugagcu	86	
40	<210> 215		
	<211> 71		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
45	<400> 215		
	acuuuccaaa gaauucccu uuugggcuuu cugguuuuau uuaagccca aaggugaauu	60	
	uuuugggaag u	71	
50	<210> 216		
	<211> 109		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 216		

ES 2 604 324 T3

	ggucgggcuc accaugacac agugugagac ucgggcuaca acacaggacc cggggcgcug	60
	cucugacccc ucgugucuug uguugcagcc ggagggacgc agguccgca	109
5	<210> 217 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 217	
	ugcucccucu cucacauccc uugcauggug gaggggugagc uuucugaaaa ccccucccac	60
10	augcagggguu ugcaggaugg cgagcc	86
15	<210> 218 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 218	
	ucucacaucc cuugcauggu ggagggugag cuuucugaaa accccuccca caugcaggggu	60
20	uugcagga	68
25	<210> 219 <211> 102 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 219	
	cugucgauug gacccgccc cccggugccua cugagcugau aucaguucuc auuuuacaca	60
30	cuggcucagu ucagcaggaa caggagucga gcccuugagc aa	102
35	<210> 220 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 220	
	cuccggugcc uacugagcug auaucaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg	60
40	aacaggag	68
45	<210> 221 <211> 85 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 221	
	ugcaggccuc ugugugauau guuugauaua uuagguuguu auuuaucca acuauauauc	60
	aaacauauuc cuacaguguc uugcc	85
	<210> 222 <211> 67	

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 222		
5		cugugugaua uguuugauau auuagguugu uauuuauucc aacuaauauu caaacauuu	60
		ccuacag	67
	<210> 223		
	<211> 92		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 223		
		cggcuggaca ggggcaacg gaaucacaa agcagcuguu gucuccagag cauuccagcu	60
15		gcgcuuggau uucgucuccu gcucuccugc cu	92
	<210> 224		
	<211> 74		
20	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 224		
		agcgggcaac ggaaucccaa aagcagcugu ugucuccaga gcauuccagc ugcgcuugga	60
25		uuucgucucc ugcu	74
	<210> 225		
	<211> 108		
	<212> ARN		
30	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 225		
		ccgagaccga gugcacagg cucugaccua ugaauugaca gccagugcuc ucgucuccc	60
		ucuggcugcc aauuccauag gucacaggua uguucgccuc aaugccag	108
35	<210> 226		
	<211> 110		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40	<400> 226		
		gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucuccc	60
		cucuggcugc caauuccaau ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110
45	<210> 227		
	<211> 88		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 227		

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

	ggcuacaguc uuucuucaug ugacucgugg acuucccuuu gucauccuau gccugagaau	60
	auaugaagga ggcugggaag gcaaaggac guucaauugu caucacuggc	110
5	<210> 251 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 251	
	aaagauccuc agacaaucca ugugcuucuc uuguccuua uuccaccgga gucugucuca	60
10	uacccaacca gauuucagug gagugaagu caggaggcau ggagcugaca	110
15	<210> 252 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 252	
	ugcuucccga ggccacaugc uucuuuauau ccccauauagg auuacuuugc uauggaauyu	60
20	aaggaagugu gugguuucgg caagug	86
25	<210> 253 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 253	
	aggccacaug cuucuuuaua ucccacauaug gauuacuuug cuauggaug uaaggaagug	60
30	ugugguuuu	69
35	<210> 254 <211> 71 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 254	
	ugacgggcga gcuuuuggcc cggguuauac cugaugcuca cguauaagac gagcaaaaag	60
40	cuuguugguc a	71
45	<210> 255 <211> 110 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 255	
	accgcgcagu gccuccaggc gcagggcagc cccugcccac cgcacacugc gcugccccag	60
	accacugug cgugugacag cggcugaucu gugccugggc agcgcgaccc	110
	<210> 256 <211> 110	

ES 2 604 324 T3

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 256
 5
 ucaccuggcc augugacuug ugggcuuccc uuugucaucc uucgccuagg gcucugagca 60
 gggcagggac agcaaagggg ugcucaguug uacauccca cagcacggag 110
 <210> 257
 <211> 110
 10 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 257
 cggggcacc cgcceggaca gcgcgccgc accuuggcuc uagacugcuu acugcccggg 60
 15 <210> 258
 <211> 110
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 258
 ccugugcaga gauuuuuuu uaaaagguca caaucaacu ucauugcugu cgguggguug 60
 aacugugugg acaagcucac ugaacaauga augcaacugu ggccccgcuu 110
 25 <210> 259
 <211> 108
 <212> ARN
 30 <213> *Homo sapiens*
 <400> 259
 gaguuugag guugcuucag ugaacauca acgcugucgg ugaguuugga auuuuuuauca 60
 aaaccaucga ccguugauug uaccuauug cuaaccauca ucuacucc 108
 35 <210> 260
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40 <400> 260
 ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucuac acuugcugug cagaacaucc 60
 gcucaccugu acagcaggca cagacaggca gucaaugac aaccagccu 110
 <210> 261
 45 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 261
 50

ES 2 604 324 T3

aucauucaga aaugguauac aggaaaauga ccuaugaauu gacagacaau auagcugagu 60
uugucuguca uuucuuuagc ccaauauucu guaugacugu gcuacuucaa 110

5 <210> 262
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

<400> 262

gauggcugug aguuggcuua aucucagcug gcaacuguga gauguucaua cauuccuca 60
caguggucuc ugggauuagc cuaaacagag cauuuuccua gccucacga 110

10 <210> 263
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

15 <400> 263

aguauaaaua uuacauaguu uuugaugucg cagauacugc aucaggaacu gauuggauaa 60
gaaucaguca ccaucaguuc cuaaugcauu gccuucagca ucuaaacaag 110

20 <210> 264
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

25 <400> 264

gugauaaugu agcgagauuu ucuguugugc uugaucuaac caugugguug cgagguauga 60
guaaaacaug guuccgucaa gcaccaugga acgucacgca gcuuucuaca 110

30 <210> 265
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

35 <400> 265

gaccagucgc ugcggggcuu uccuuugugc uugaucuaac cauguggugg aacgauggaa 60
acggaacaug guucugucua gcaccgcgga aagcaccgug cucuccugca 110

40 <210> 266
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

45 <400> 266

ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuau ggcuccggcc 60
gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gccccaaac cucgagcggg 110

50 <210> 267
 <211> 110
 <212> ARN

ES 2 604 324 T3

<213> *Homo sapiens*
 <400> 267

5 **ccgccccggg ccgcggcucc ugauugucca aacgcaauuc ucgagucuau ggcuccggcc 60**
 gagaguugag ucuggacguc ccgagccgcc gcccccaaac cucgagcggg 110

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

10 <400> 268

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

15 <210> 269
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

20 <400> 269

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

25 <210> 270
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

30 <400> 270

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

35 <210> 271
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

40 <400> 271

gcugcuggaa gguguaggua cccucaaugg cucaguagcc aguguagauc cugucuuucg 60
 uaaucagcag cuacaucugg cuacuggguc ucugauggca ucuucuageu 110

45 <210> 272
 <211> 110
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 272

ES 2 604 324 T3

	ccuggccucc ugcagugcca cgcuccgugu auuugacaag cugaguugga cacuccaugu	60
	gguagagugu caguuuguca aauaccccaa gugcggcaca ugcuuaccag	110
5	<210> 273 <211> 81 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 273	
	gggcuuucaa gucacuagug guuccguuaa guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
10	gcccuauguga cuacaaagcc c	81
15	<210> 274 <211> 60 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 274	
20	caaucuuccu uaucauggu auugauuuuu cagugcuucc cuuuugugug agagaagaua	60
25	<210> 275 <211> 80 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 275	
	aggaccuccu cagagggccc ccccucaauc cuguugugcc uaaucagag gguugggugg	60
	aggcucuccu gaagggcucu	80
30	<210> 276 <211> 63 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 276	
	aagaaauggu uuaccguccc acauacauuu ugaauaugua uguggggaugg uaaaccgcuu	60
	cuu	63
40	<210> 277 <211> 86 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 277	
	acugcuaacg aaugcucuga cuuuauugca cuacuguacu uuacagcuag cagugcaaua	60
	guauugucaa agcaucugaa agcagg	86
50	<210> 278 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 604 324 T3

	<400> 278		
		ccaccacuua aacguggaug uacuugcuuu gaaacuaaag aaguaagugc uuccauguuu	60
		uggugaugg	69
5	<210> 279 <211> 73 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
10	<400> 279		
		gcucccuuca acuuuaacau ggaagugcuu ucugugacuu uaaaaguaag ugcuuccaug	60
		uuuuaguagg agu	73
15	<210> 280 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
20	<400> 280		
		ccuuugcuuu aacauggggg uaccugcugu gugaaacaaa aaguaagugc uccauguuuc	60
		aguggagg	68
25	<210> 281 <211> 68 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
30	<400> 281		
		ccucuacuuu aacauggagg cacuugcugu gacaugacaa aaauaagugc uuccauguuu	60
		gagugugg	68
35	<210> 282 <211> 82 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 282		
		gcuucgcucc ccuccgccuu cucuucccgg uucuucccgg agucgggaaa agcuggguug	60
40		agagggcgaa aaaggauagag gu	82
45	<210> 283 <211> 59 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 283		
		uuggccuccu aagccagggga uuguggguuc gagucccacc cgggguaaag aaaggccga	59
50	<210> 284		

ES 2 604 324 T3

	<211> 86		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
5	<400> 284		
	uugguacuug gagagaggug guccguggcg cguucgcuuu auuuauaggcg cacauuacac	60	
	ggucgaccuc uuugcaguau cuaauc	86	
10	<210> 285		
	<211> 83		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
15	<400> 285		
	cugacuauagc cuccccgc au ccccuagggc auugguguaa agcuggagac ccacugcccc	60	
	aggugcugcu gggggguugua guc	83	
20	<210> 286		
	<211> 98		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 286		
	auacagugcu ugguuccuag uaggugucca gaaaguguu gugacuaau uuguuuauug	60	
25	aggaccuccu aucaaucaag cacugugcua ggcucugg	98	
30	<210> 287		
	<211> 95		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 287		
	cucaucuguc uguuugggug gaggcagggc cuuugugaag ggggguggug cucagaucgc	60	
35	cucuggggccc uuccuccagc cccgagggcg auuca	95	
40	<210> 288		
	<211> 75		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 288		
	uggagugggg gggcaggagg ggcucagggg gaaagugcau acagccccug gccucucug	60	
	cccuuccguc ccug	75	
45	<210> 289		
	<211> 94		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
50	<400> 289		

ES 2 604 324 T3

	cuuuggcgau cacugccucu cugggccugu gucuuaggcu cugcaagauc aaccgagcaa	60
	agcacacggc cugcagagag gcagcgcucu gccc	94
5	<210> 290 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 290	
	gaguuuugguu uuguuugggu uuguucuagg uaugguccca gggauccag 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 gucauaaacc guuuuucuu	60
20	auugcuccug accuccucuc auuugcuaua uuca	94
25	<210> 292 <211> 93 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 292	
	guagucagua guugggggu gggaacggcu ucauacagga guugaugcac aguuauccag	60
30	cuccuauaug augccuuucu ucauccccuu caa	93
35	<210> 293 <211> 67 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 293	
	ucuccaaca uauccuggug cugagugaug acucagggca succagcauc agugauuuug	60
40	uugaaga	67
45	<210> 294 <211> 94 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 294	
	cggggcggcc gcucuccug uccuccagga gcucacgugu gccugccugu gagcgcucg	60
	acgacagagc cggcgcucg cccagugucu gcgc	94
	<210> 295 <211> 95	

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

	aaaaggugga uauuccuucu auguuuauugu uauuuuaggu uaaacauaga ggaaauucca	60
	cguuuu	66
5	<210> 301 <211> 70 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 301	
	uugaagggag aucgaccgug uuauuuucgc uuuauugacu 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 aaugugggagc acuuuucuga uguccaagug gaaagugcug cgacuuuuga	60
40	gcgucac	67
45	<210> 305 <211> 69 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 305	
	gggauacuca aaaugggggc gcuuuccuuu uugucuguac ugggaagugc uucgauuuug	60
	ggguguccc	69
	<210> 306 <211> 72	

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 306		
5		uacaucgggc auuauauac aaccugauaa guguuauagc acuuauacaga uuguauugua	60
		auugucugug ua	72
	<210> 307		
	<211> 102		
10	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 307		
		auggagcugc ucaccucugug ggccucaaau guggaggaac uauucugaug uccaagugga	60
15		aagugcugcg acuuugagc gucaccggug acgcccauau ca	102
	<210> 308		
	<211> 101		
	<212> ARN		
20	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 308		
		gcauucccuc agccuguggc acucaaaacug ugggggcacu uucugcucuc uggugaaagu	60
		gccgccaucu uuugaguguu accgcuugag aagacucaac c	101
25			
	<210> 309		
	<211> 102		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
30			
	<400> 309		
		cgaggagcuc auacugggau acucaaaaug gggggcguu cccuuuuguc uguuacuggg	60
		aagugcuucg auuuuggggu gucccuuuu gaguagggca uc	102
35			
	<210> 310		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
40		<400> 310	
		ugagguagua gguuguauag uu	22
	<210> 311		
	<211> 22		
45	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		
	<400> 311		
50		ugagguagua gguugugugg uu	22
	<210> 312		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> <i>Homo sapiens</i>		

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

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 329 uaaggugcau cuagugcaga ua	22
10	<210> 330 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 330 ugugcaaauc uaugcaaaac uga	23
20	<210> 331 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 331 ugugcaaauc caugcaaaac uga	23
30	<210> 332 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 332 uaaagugcuu auagugcagg ua	22
40	<210> 333 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 333 uagcuuauc gacugauguu ga	22
50	<210> 334 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 334 aagcugccag uugaagaacu gu	22
60	<210> 335 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 335 aucacauugc cagggauuuc c	21
70	<210> 336 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
75	<400> 336 aucacauugc cagggauuac cac	23
80	<210> 337 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

	<210> 346	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
5		
	<400> 346	
	uagcaccauu ugaaaucggu ua	22
10		
	<210> 347	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
15		
	<400> 347	
	uguaaacauc cucgacugga agc	23
20		
	<210> 348	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 348	
	cuuucagucg gauguuugca gc	22
25		
	<210> 349	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30		
	<400> 349	
	uguaaacauc cuacacucag c	21
35		
	<210> 350	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 350	
	uguaaacauc cuacacucuc agc	23
40		
	<210> 351	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
45		
	<400> 351	
	uguaaacauc cccgacugga ag	22
50		
	<210> 352	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
55		
	<400> 352	
	uguaaacauc cuugacugga	20
60		
	<210> 353	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 353	
	ggcaagauc uggcauagcu g	21
65		
	<210> 354	
	<211> 21	

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

	<400> 362 uuuggcacua gcacauuuuu gc	22
5	<210> 363 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 363 ugagguagua aguuguauug uu	22
15	<210> 364 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 364 aaccgguaga uccgaucuug ug	22
25	<210> 365 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 365 cacccguaga accgaccuug cg	22
35	<210> 366 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 366 uacaguacug ugauaacuga ag	22
45	<210> 367 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 367 uacaguacug ugauaacuga ag	22
55	<210> 368 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 368 agcagcauug uacagggcua uga	23
65	<210> 369 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
70	<400> 369 ucaaauugcuc agacuccugu	20
75	<210> 370 <211> 24 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
80	<400> 370 aaaagugcuu acagugcagg uagc	24

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

	<211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 379 ucggauccgu cugagcuugg cu	22
10	<210> 380 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 380 ucacagugaa ccggucucuu uu	22
20	<210> 381 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 381 ucacagugaa ccggucucuu uc	22
25	<210> 382 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 382 cuuuuugcgg ucugggcuug c	21
35	<210> 383 <211> 20 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 383 cagugcaaug uuaaaagggc	20
45	<210> 384 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 384 cagugcaaug augaaagggc au	22
50	<210> 385 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 385 uaacagucua cagccauggu cg	22
60	<210> 386 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 386 uugguccccu ucaaccagcu gu	22
65	<210> 387 <211> 21	

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 387 uugguccccu ucaaccagcu a	21
10	<210> 388 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 388 ugugacuggu ugaccagagg g	21
20	<210> 389 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 389 uauggcuuuu uauuccuaug uga	23
30	<210> 390 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 390 uauggcuuuu cauuccuaug ug	22
40	<210> 391 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 391 acuccauuug uuuugaugau gga	23
50	<210> 392 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 392 uauugcuuaa gaauacgcgu ag	22
60	<210> 393 <211> 17 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 393 agcugguguu gugaauc	17
70	<210> 394 <211> 18 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
75	<400> 394 ucuacagugc acgugucu	18
80	<210> 395 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

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

ES 2 604 324 T3

	<210> 404	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
5		
	<400> 404	
	ucagugcacu acagaacuuu gu	22
10		
	<210> 405	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
15		
	<400> 405	
	ucagugcauc acagaacuuu gu	22
20		
	<210> 406	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 406	
	ucuggcuccg ugucuucacu cc	22
25		
	<210> 407	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
30		
	<400> 407	
	ucucccaacc cuuguaccag ug	22
35		
	<210> 408	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 408	
	acuagacuga agcuccuuga gg	22
40		
	<210> 409	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
45		
	<400> 409	
	ucagugcaug acagaacuug g	21
50		
	<210> 410	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
55		
	<400> 410	
	uugcauaguc acaaaaguga	20
60		
	<210> 411	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 411	
	uagguuauccguguugccuu cg	22
65		
	<210> 412	
	<211> 22	

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 412 aauc <u>au</u> acac gguugaccua uu	22
10	<210> 413 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 413 uu <u>aa</u> ugcuaa ucgugauagg gg	22
20	<210> 414 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 414 a <u>aca</u> uucaac gcugucggug agu	23
30	<210> 415 <211> 24 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 415 a <u>aca</u> uucauu gcugucggug gguu	24
40	<210> 416 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 416 a <u>aca</u> uucaac cugucgguga gu	22
50	<210> 417 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 417 uu <u>ug</u> gcaaug guaga <u>acu</u> ca	22
60	<210> 418 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 418 u <u>gg</u> uucuaga cuug <u>cca</u> cu a	21
70	<210> 419 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
75	<400> 419 u <u>au</u> ggcacug guaga <u>uu</u> ca cug	23
80	<210> 420 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

	<210> 429 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 429 aacuggccua caaagucca g	21
10	<210> 430 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 430 uguaacagca acuccaugug ga	22
20	<210> 431 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 431 uagcagcaca gaaauauugg c	21
25	<210> 432 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 432 uagguaguuu cauguuguug g	21
35	<210> 433 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 433 uagguaguuu ccuguuguug g	21
45	<210> 434 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 434 uucaccaccu ucuccacca gc	22
50	<210> 435 <211> 19 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 435 gguccagagg ggagauagg	19
60	<210> 436 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 436 cccaguguuc agacuaccug uuc	23
65	<210> 437 <211> 22	

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 437 uacaguaguc ugcacauugg uu	22
10	<210> 438 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 438 cccaguguuu agacuaucug uuc	23
20	<210> 439 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 439 uaacacuguc ugguaacgau gu	22
30	<210> 440 <211> 24 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 440 cucuaauacu gccuguaau gaug	24
40	<210> 441 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 441 aauacugccg gguaaugaug ga	22
50	<210> 442 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 442 agagguauag ggcaugggaa ga	22
60	<210> 443 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 443 gugaaauguu uaggaccacu ag	22
70	<210> 444 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
75	<400> 444 uuccuuugu cauccaugc cu	22
80	<210> 445 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 604 324 T3

	<400> 445 uccuuc <u>auuc caccggaguc ug</u>	22
5	<210> 446 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
10	<400> 446 ugg <u>aauguaa ggaagugugu gg</u>	22
15	<210> 447 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
20	<400> 447 auaagacgag caaaaagcuu gu	22
25	<210> 448 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
30	<400> 448 cugugcgugu gacagcg <u>gcu g</u>	21
35	<210> 449 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
40	<400> 449 u <u>ucccuuugu cauccuucgc cu</u>	22
45	<210> 450 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
50	<400> 450 uaacagucuc cagucacg <u>gc c</u>	21
55	<210> 451 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
60	<400> 451 acc <u>aucgacc guugauugua cc</u>	22
65	<210> 452 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
70	<400> 452 acagcaggca cagacagg <u>ca g</u>	21
75	<210> 453 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
80	<400> 453 augaccu <u>aug aaugacaga c</u>	21

ES 2 604 324 T3

<210> 454
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 454
 uaaucucagc uggcaacugu g 21
 <210> 455
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 10
 <400> 455
 uacugcauca ggaacugauu ggau 24
 <210> 456
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 20
 <400> 456
 uugugcuuga ucuaaccaug u 21
 <210> 457
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 25
 <400> 457
 ugauugucca aacgcaauuc u 21
 <210> 458
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 35
 <400> 458
 ccacaccgua ucugacacuu u 21
 <210> 459
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 40
 <400> 459
 agcuacauug ucugcugggu uuc 23
 <210> 460
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50
 <400> 460
 agcuacaucu ggcuacuggg ucuc 24
 <210> 461
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 60
 <400> 461
 ugucaguuug ucaaaauacc c 21
 <210> 462
 <211> 23

ES 2 604 324 T3

	<212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
5	<400> 462 caagucacua gugguuccgu uua	23
10	<210> 463 <211> 21 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
15	<400> 463 agggccccc cucauuccug u	21
20	<210> 464 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
25	<400> 464 ugguuuaccg ucccacauac au	22
30	<210> 465 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
35	<400> 465 cagugcaua guauuguaa agc	23
40	<210> 466 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
45	<400> 466 uaagugcuuc cauguuuugg uga	23
50	<210> 467 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
55	<400> 467 acuuuaacau ggaagugcuu ucu	23
60	<210> 468 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
65	<400> 468 uaagugcuuc cauguuuuag uag	23
	<210> 469 <211> 22 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	
	<400> 469 uuuaacaugg gguaccugc ug	22
	<210> 470 <211> 23 <212> ARN <213> <i>Homo sapiens</i>	

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

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

ES 2 604 324 T3

<210> 487
 <211> 24
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 5
 <400> 487
 ucucacacag aaaucgcacc cguc 24
 <210> 488
 10 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 <400> 488
 15 ugucgacucc uaguccaggg c 21
 <210> 489
 <211> 23
 <212> ARN
 20 <213> *Homo sapiens*
 <400> 489
 ugucugcccg caugccugcc ucu 23
 25 <210> 490
 <211> 22
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 30 <400> 490
 aaaugcacuu uagcaauggu ga 22
 <210> 491
 <211> 22
 <212> ARN
 35 <213> *Homo sapiens*
 <400> 491
 40 acauagagga aaauccacgu uu 22
 <210> 492
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 45 <400> 492
 aaauauacau gguugaucuu u 21
 <210> 493
 <211> 21
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 50 <400> 493
 55 gccugcuggg guggaaccug g 21
 <210> 494
 <211> 21
 <212> ARN
 60 <213> *Homo sapiens*
 <400> 494
 gugccgccau cuuuugagug u 21
 65 <210> 495
 <211> 23

ES 2 604 324 T3

<212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 495
 5 aaagugcugc gacauuugag cgu 23

 <210> 496
 <211> 22
 <212> ARN
 10 <213> *Homo sapiens*

 <400> 496
 acucaaaaug ggggcgcuu cc 22
 15
 <210> 497
 <211> 23
 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*
 20
 <400> 497
 gaagugcuuc gauuuugggg ugu 23

 <210> 498
 <211> 22
 25 <212> ARN
 <213> *Homo sapiens*

 <400> 498
 uuauaaauaca accugauaag ug 22
 30

REIVINDICACIONES

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

5 medir el nivel de al menos un primer producto génico de miR-221 en una muestra de ensayo del sujeto, en donde una alteración en el nivel del primer producto génico de miR-221 en la muestra de ensayo en relación al nivel del primer producto génico de miR-221 en una muestra de control, es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer sólido seleccionado del grupo que consiste en cáncer de colon, de páncreas y de estómago.

10 2. El método de la reivindicación 1, en el que se usa un aumento en el nivel del primer producto génico de miR-221 para diagnosticar cáncer de colon.

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

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

4. El método de la reivindicación 1, en el que se usa un aumento en el primer producto génico de miR-221 para diagnosticar cáncer pancreático.

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

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

35 6. El método de la reivindicación 1, en el que se usa un aumento en el nivel del primer producto génico de miR-221 para diagnosticar cáncer de estómago.

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

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

8. Un método para diagnosticar si un sujeto tiene un cáncer sólido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la medición del nivel del al menos un producto génico de miR-221 comprende:

50 (1) transcribir de forma inversa:

al menos ARN de miR-221 de una muestra de ensayo obtenida del sujeto para proporcionar al menos un oligodesoxinucleótido diana de miR-221; y

55 (2) hibridar:

el al menos un oligodesoxinucleótido de ARN diana de miR-221 con una microserie que comprende oligonucleótidos sonda específicos de miARN que incluyen al menos un oligonucleótido sonda específico de ARN de miR-221 para proporcionar un perfil de hibridación para la muestra de ensayo;

60 y en el que la determinación de si hay una alteración en el nivel del primer producto génico de miR-221 en la muestra de ensayo, en relación al nivel del primer producto génico de miR-221 en una muestra de control comprende:

(3) comparar:

65

ES 2 604 324 T3

el perfil de hibridación de la muestra de ensayo con un perfil de hibridación generado a partir de una muestra de control, en donde una alteración en la señal de miR-221 es indicativa de que el sujeto tiene un cáncer sólido seleccionado entre el grupo que consiste en cáncer de colon, de páncreas y de estómago.

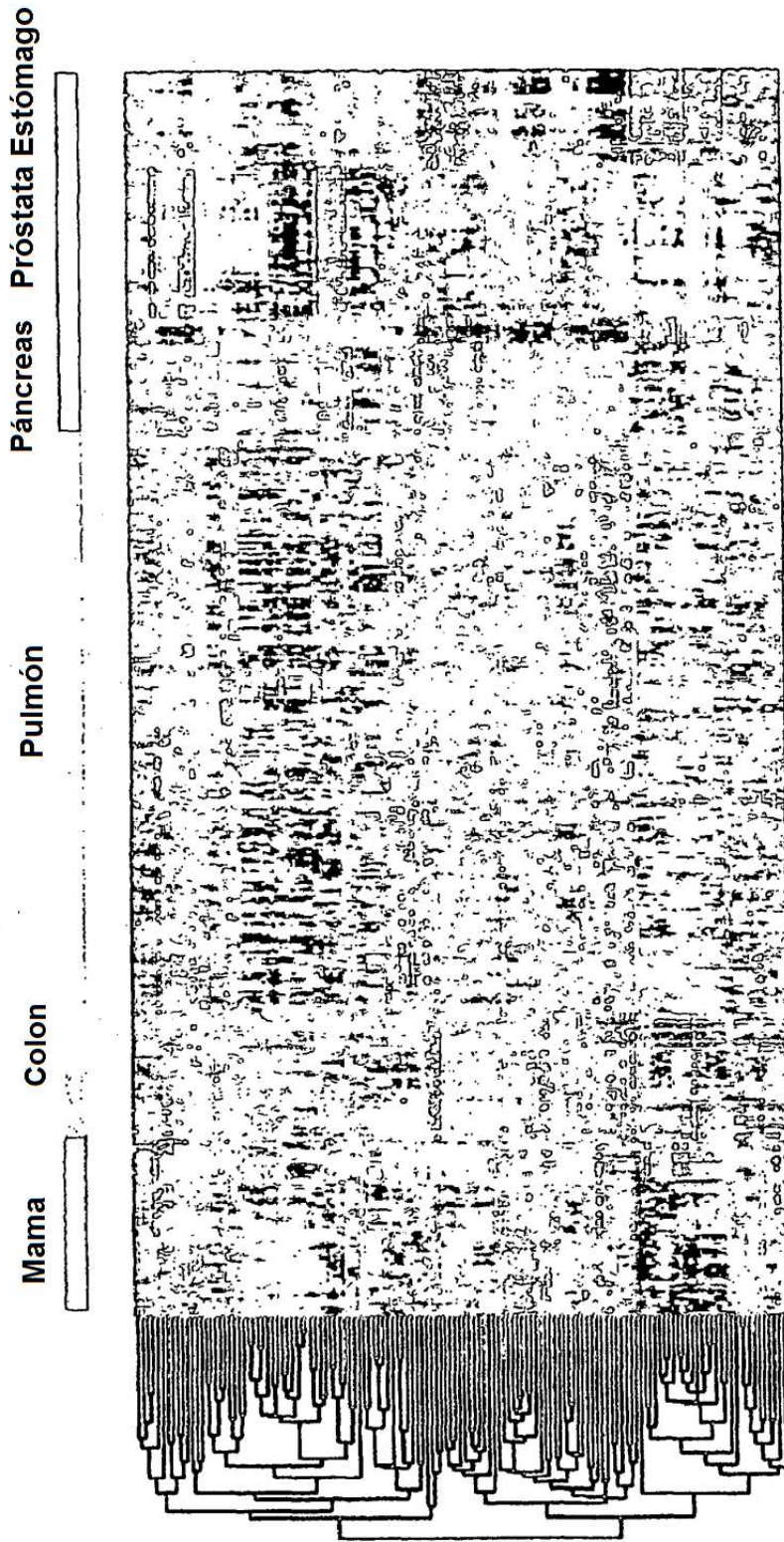


FIG. 1

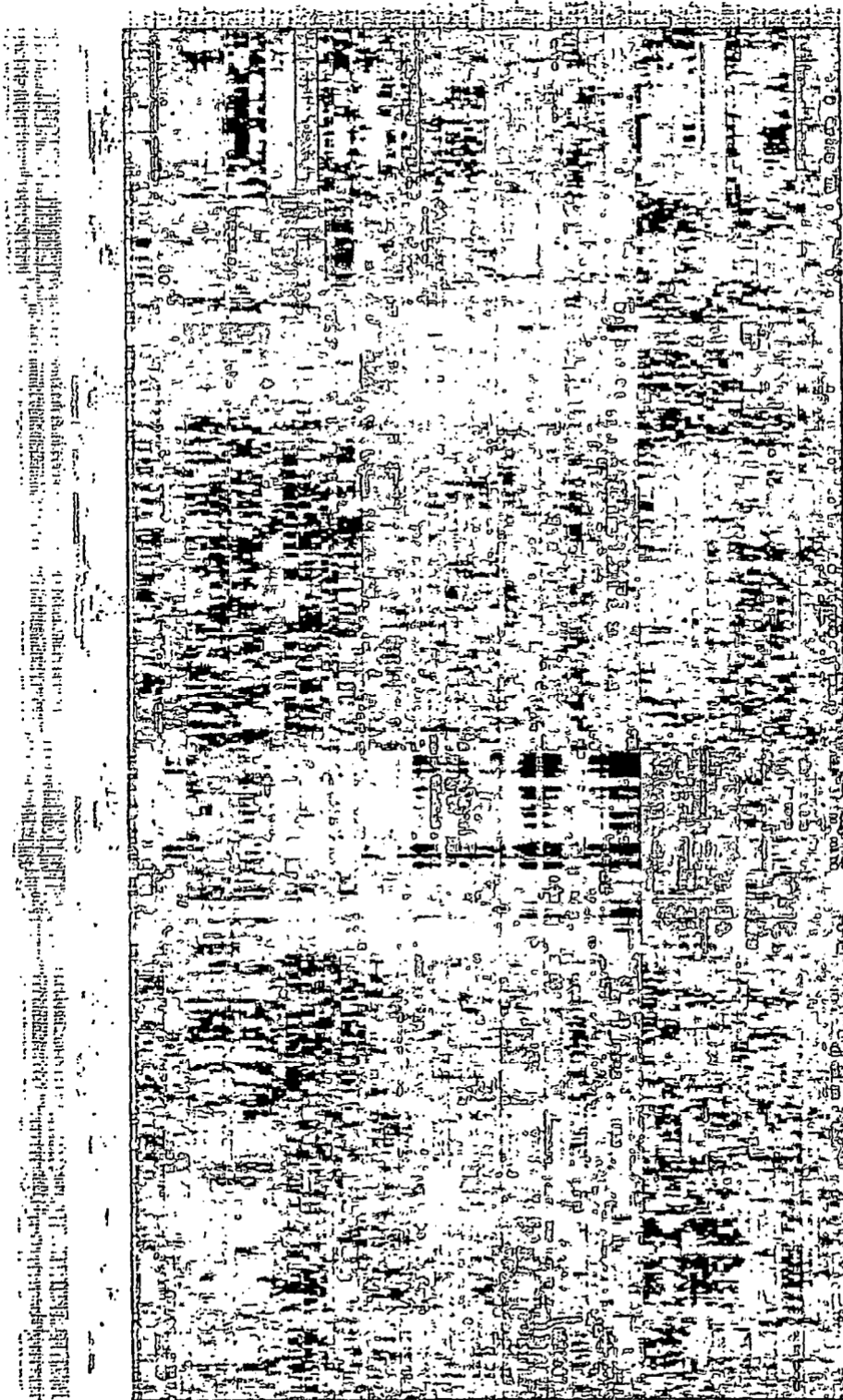


FIG. 2

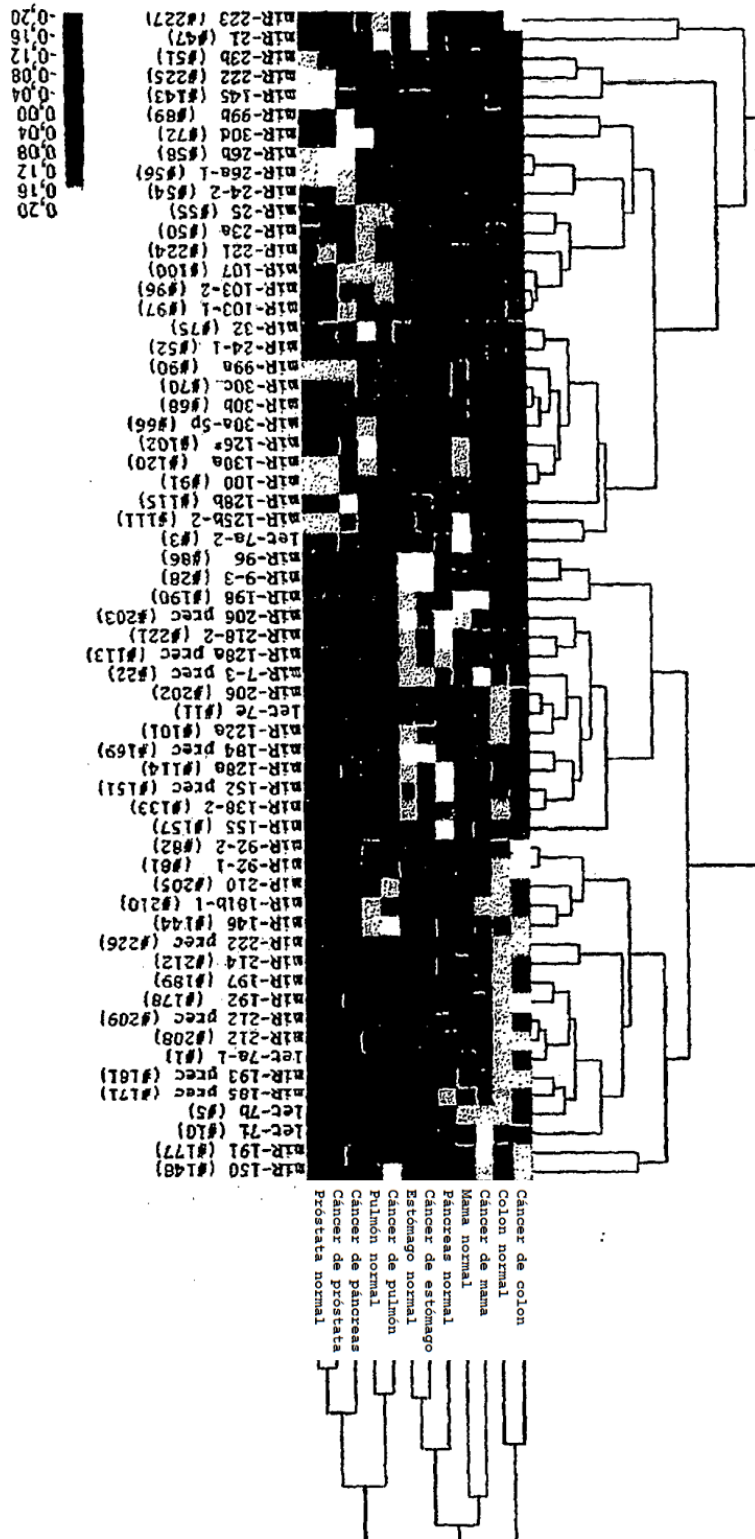


FIG. 3

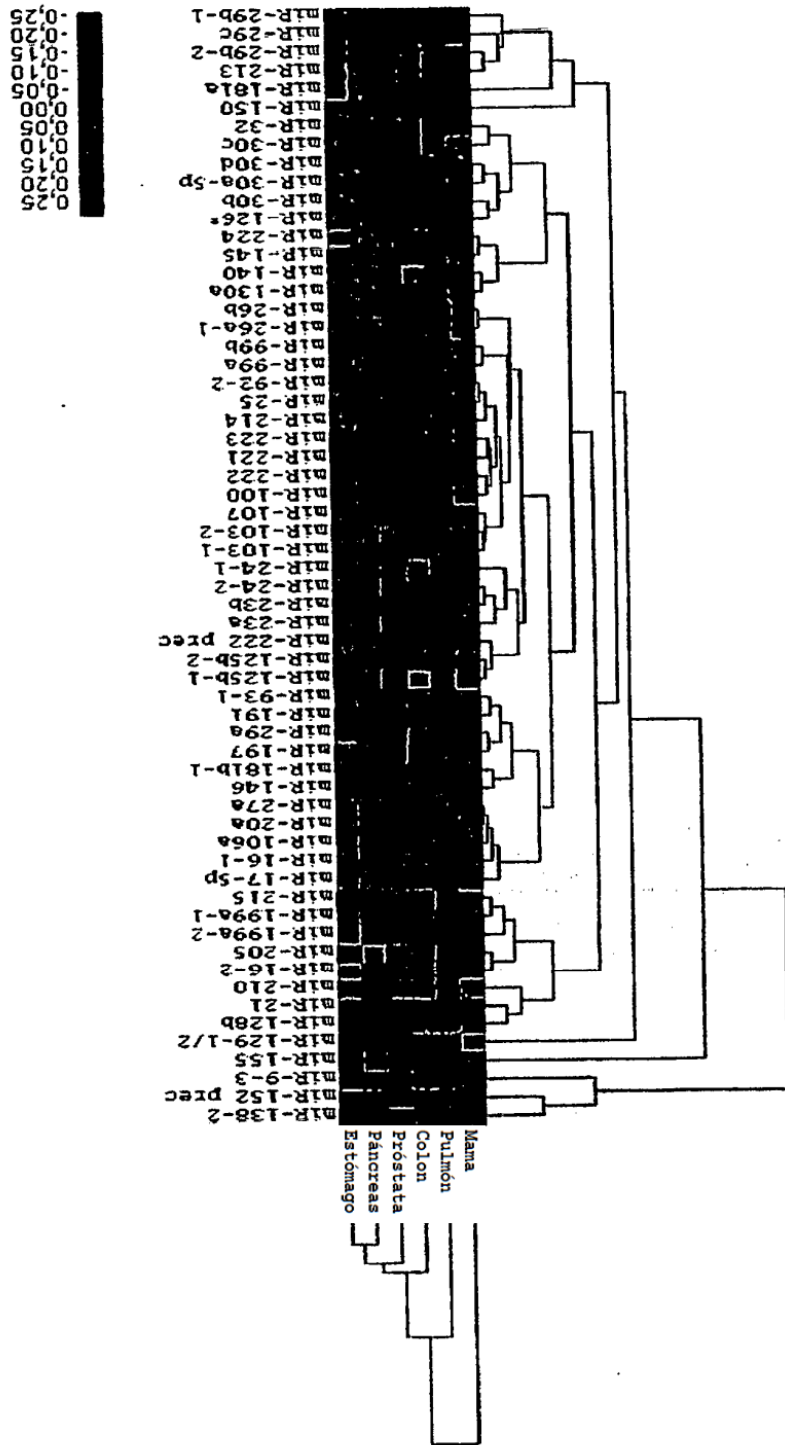


FIG. 4

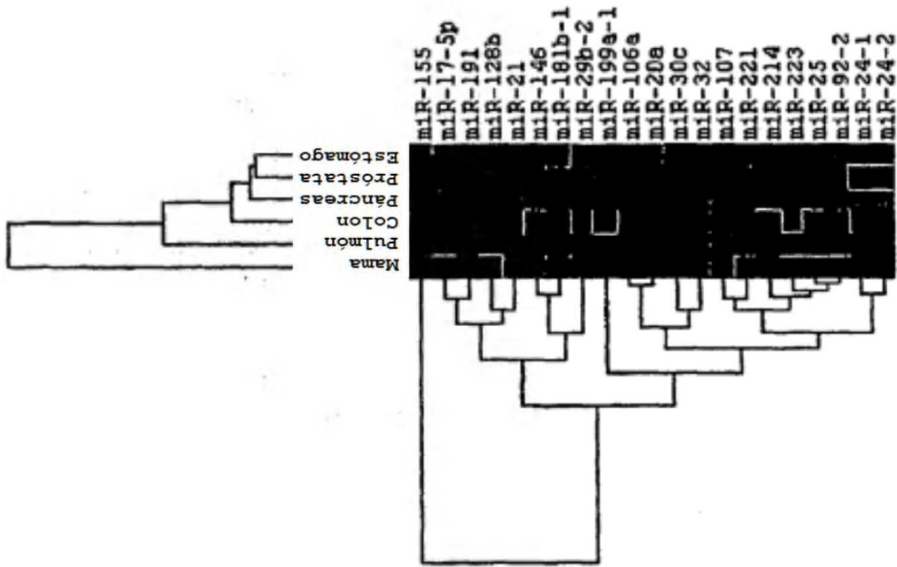


FIG. 5

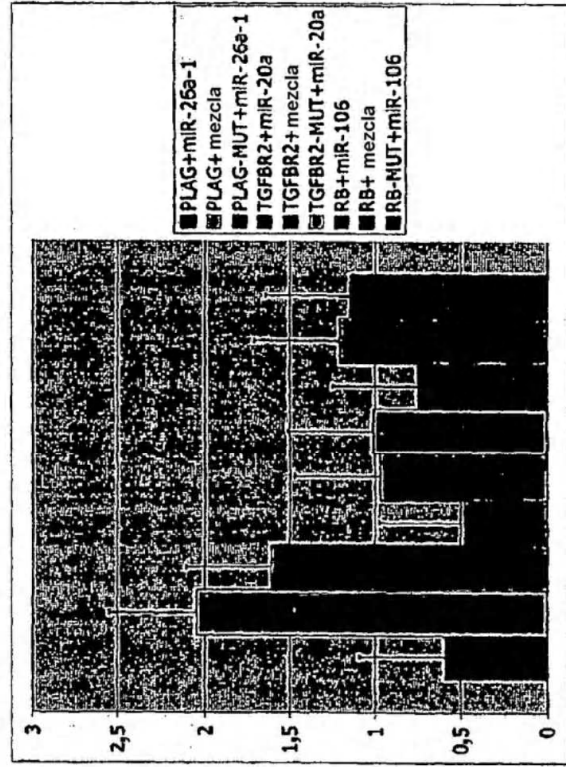
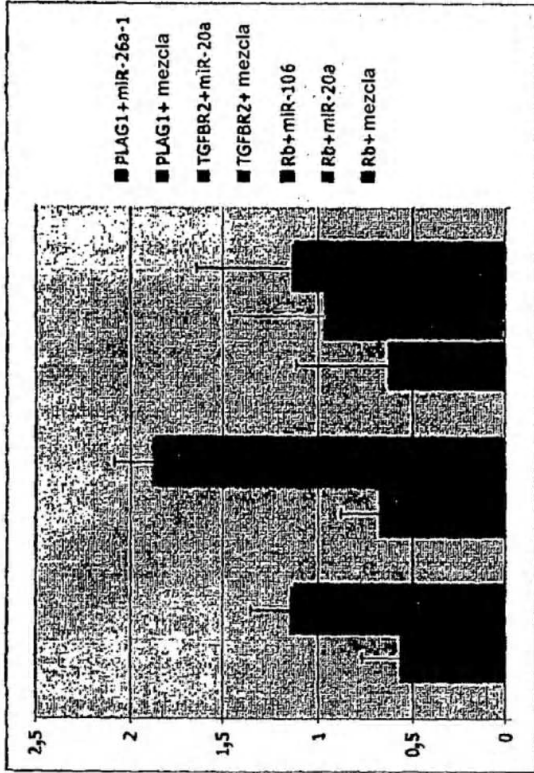


FIG. 6A



FIG. 6B

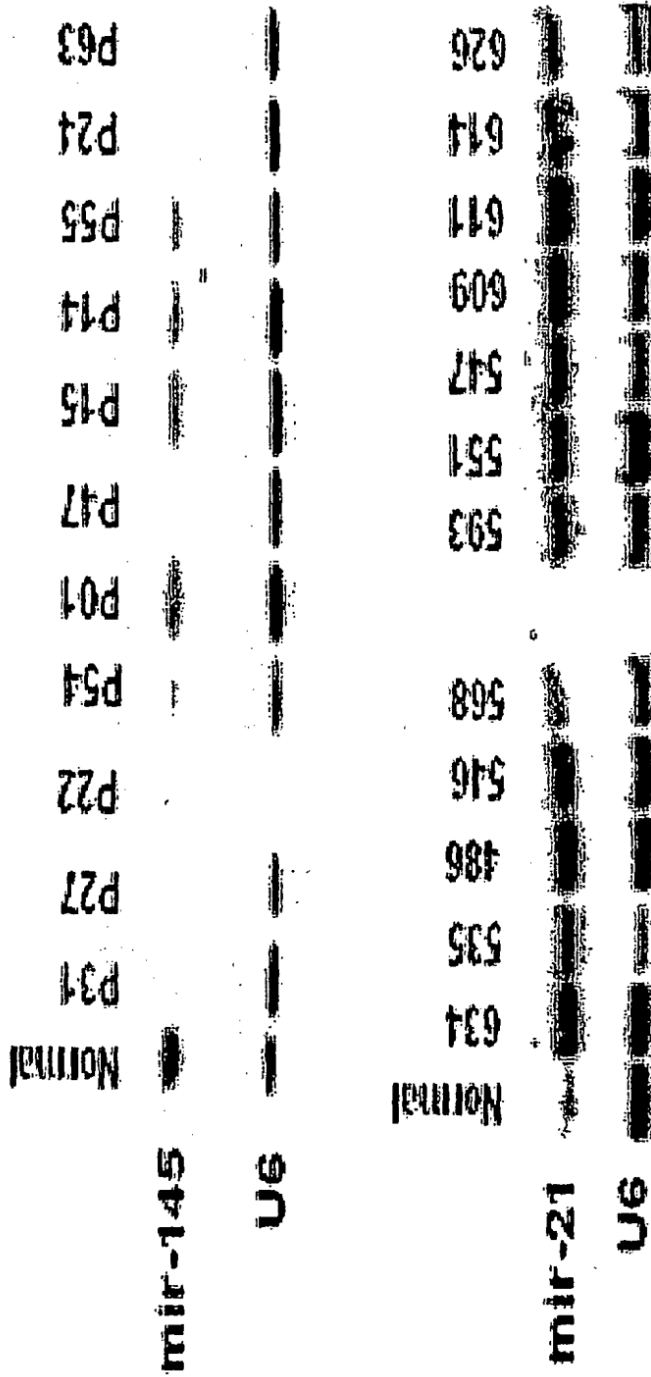


FIG. 7

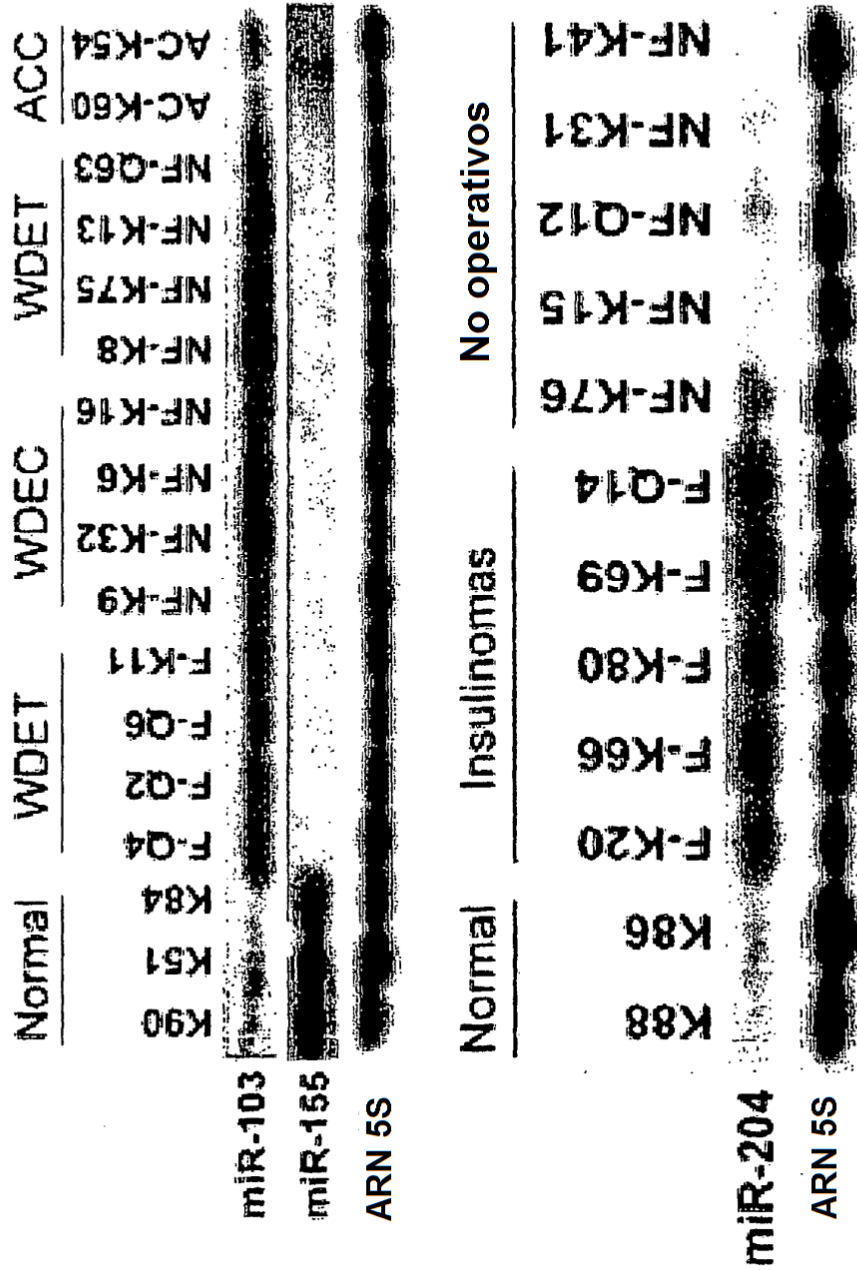


FIG. 8