(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 715 874**

(51) Int. CI.:

C12Q 1/68 (2008.01)
G01N 33/574 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.03.2014 PCT/US2014/021199**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **12.09.2014 WO14138396**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.03.2014 E 14717250 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.12.2018 EP 2964786**

(54) Título: **Métodos de detección del cáncer de la vejiga**

(30) Prioridad:

06.03.2013 US 201361773724 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.06.2019

(73) Titular/es:

CEPHEID (100.0%)
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089, US

(72) Inventor/es:

MCCANN, LEENA;
WALLACE, STACEY ELLEN;
LAI, EDWIN WEI-LUNG;
HIGUCHI, RUSSELL y
LYKKE, CHRIS

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

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 de detección del cáncer de la vejiga

1. CAMPO DE LA INVENCIÓN.

[0001] Se proporcionan las composiciones y métodos para detectar el cáncer de vejiga. En particular, se proporcionan marcadores de cáncer de vejiga y paneles de marcadores útiles en la detección del cáncer de vejiga.

2. ANTECEDENTES

[0002] 386.000 casos de cáncer de vejiga se diagnostican globalmente cada año, incluyendo 70.500 casos por año en los Estados Unidos. La incidencia de cáncer de vejiga es tres veces mayor en hombres que en mujeres. La mayor incidencia y prevalencia se encuentran en la Unión Europea, América del Norte, África del Norte y Oriente Medio.

[0003] El tabaquismo es el mayor factor de riesgo para el cáncer de vejiga. Los factores de riesgo adicionales incluyen la exposición química, la quimioterapia (como Cytoxan), el tratamiento de radiación y la infección crónica de vejiga.

[0004] Los tumores de vejiga incluyen tumores papilares, que son carcinomas uroteliales que crecen, las proyecciones en forma de dedos estrechos; y tumores no papilares (sésiles), como el carcinoma in situ, que son menos comunes pero tienen un alto riesgo de volverse invasivos.

[0005] Los síntomas de cáncer de vejiga pueden incluir dolor abdominal, sangre en la orina, dolor de huesos o sensibilidad, la fatiga, el dolor al orinar, micción frecuente, urgencia urinaria, incontinencia, y pérdida de peso. El diagnóstico generalmente se basa en imágenes, análisis de orina y/o biopsia.

[0006] El pronóstico para el cáncer de vejiga depende de la etapa del cáncer al momento del diagnóstico. El pronóstico para tumores tempranos es favorable, mientras que el pronóstico para tumores avanzados es malo. Se recomienda un seguimiento a largo plazo para detectar la recurrencia del cáncer, que ocurre en hasta el 70% de los cánceres de vejiga. Durante los primeros dos años, la cistoscopia y la citología de orina se recomiendan cada 3 a 4 meses, y luego en intervalos más largos en los años subsiguientes, a menudo durante la vida del paciente. Estos métodos son invasivos y costosos, por lo que el cáncer de vejiga es uno de los cánceres más caros de tratar desde el diagnóstico hasta la muerte.

[0007] Pruebas de diagnóstico no invasivas existentes incluyen ImmunoCyt™ (Scimedx, Denville, NJ) y UroVysion® (Abbott Molecular, Abbott Park, IL). ImmunoCyt™ es un ensayo de citología que utiliza un cóctel de tres anticuerpos monoclonales marcados con marcadores fluorescentes para detectar ciertos marcadores celulares de cáncer de vejiga en células exfoliadas aisladas de muestras de orina. ImmunoCyt™ se usa junto con la citología de orina estándar para mejorar la sensibilidad de la citología para detectar células tumorales. UroVysion® también es un ensayo basado en citología, que detecta aneupoloidía en ciertos cromosomas mediante hibridación in situ fluorescente (FISH). La determinación de los resultados se realiza enumerando las señales mediante un examen microscópico del núcleo de las células en la orina.

[0008] Se necesitan los métodos mejorados para la detección temprana de cáncer de vejiga. En particular, una prueba diagnóstica precisa basada en la orina que no se basa en la citología podría reducir la necesidad de realizar una cistoscopia costosa e invasiva, y los análisis de citología intensivos en trabajo y potencialmente subjetivos.

[0009] Olsburgh et al. THE JOURNAL OF PATHOLOGY, (2003) vol. 199 (1), páginas 41-49, se refiere a métodos para detectar la expresión del gen uroplakin en tejidos humanos normales y en cáncer de vejiga localmente avanzado.

[0010] Williams et al. MODERN PATHOLOGY, (2013) vol. 26 (Suplemento. 2), página 258A se refiere a la expresión del receptor de andrógenos en neoplasias genitourinarias.

[0011] Zheng et al. CANCER, (2011) vol. 18 (4), páginas 451-464, se relacionan con el efecto de la dihidrotestosterona en la expresión de EGFR y ERBB2 en células de cáncer de vejiga positivas para andrógenos.

3. RESUMEN

[0012] Se proporcionan composiciones y métodos, como se definen en las reivindicaciones, para detectar cáncer de vejiga. En particular, se proporcionan marcadores de cáncer de vejiga y paneles de marcadores útiles en la detección del cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, los niveles de ARNm del receptor de andrógenos (AR) y/o uroplakin 1B (UPK1B), y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2,

MGEA5 y PIK3A, son medidos, por ejemplo, mediante TA-PCR cuantitativa, y los resultados se pueden usar para determinar si un sujeto tiene cáncer de vejiga o no. En algunas realizaciones, los niveles de ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, se normalizan a un control endógeno. En algunas realizaciones, el control endógeno es ABL ARNm. En algunas realizaciones, se selecciona un control endógeno que se espera que se exprese a niveles similares en células uroteliales de vejiga de sujetos con y sin cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, la muestra es una muestra de orina. En algunas realizaciones, los métodos actuales se usan para monitorear sujetos con antecedentes de cáncer de vejiga para la recurrencia del tumor. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido tratado con Bacillus Calmette-Guerin (BCG) en los últimos tres meses. En algunas realizaciones, los métodos actuales se usan para detectar cáncer de vejiga en sujetos sin antecedentes de cáncer de vejiga. En algunas de tales realizaciones, los sujetos tienen síntomas de cáncer de vejiga. Los síntomas ejemplares no limitativos del cáncer de vejiga incluyen dolor abdominal, sangre en la orina, dolor o sensibilidad en los huesos, fatiga, micción dolorosa, micción frecuente, urgencia urinaria, incontinencia y pérdida de peso. En algunas realizaciones, el cáncer de vejiga es un cáncer de vejiga de bajo grado.

[0013] En algunas realizaciones, se proporcionan métodos para detectar la presencia de cáncer de vejiga en un sujeto. El método comprende detectar los niveles de cada marcador de un conjunto de marcadores de cáncer de vejiga en una muestra del sujeto, en donde el conjunto de marcadores de cáncer de vejiga comprende receptor de andrógenos (AR) o uroplakina 1B (UPK1B), o tanto AR como UPK1B. La detección de un nivel elevado de AR y/o UPK1B indica la presencia de cáncer de vejiga en el sujeto.

[0014] En algunas realizaciones, están dentro de los métodos de monitorización de la terapia anti-andrógenos en un sujeto con cáncer de vejiga. Los métodos comprenden la detección de los niveles de cada marcador de un conjunto de marcadores de cáncer de vejiga en una muestra del sujeto en un primer momento, en donde el conjunto de marcadores de cáncer de vejiga comprende el receptor de andrógenos (AR) o uroplakina 1B (UPK1B), o tanto AR como UPK1B. Una disminución en el nivel de al menos un marcador en el primer punto de tiempo en relación con un segundo punto de tiempo indica que el sujeto está respondiendo a la terapia anti-andrógeno. En algunas realizaciones, los métodos comprenden comparar el nivel de al menos un marcador en el primer punto de tiempo con el nivel de al menos un marcador en el segundo punto de tiempo. En algunas realizaciones, el sujeto está recibiendo terapia anti-andrógeno en el primer punto de tiempo. En algunas realizaciones, el segundo punto de tiempo es antes de que el sujeto comience la terapia con antiandrógenos. En algunas realizaciones, el sujeto está recibiendo terapia anti-andrógeno en el segundo punto de tiempo.

[0015] En algunas realizaciones, el conjunto de marcadores de cáncer de vejiga comprende además al menos un marcador seleccionado de hormona liberadora de corticotropina (CRH), factor de crecimiento similar a la insulina 2 (IGF2), queratina 20 (KRT20) y anexina 10 (genes ANXA10). En algunas realizaciones, el conjunto de marcadores de cáncer de vejiga comprende: a) AR, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; b) AR, CRH, IGF2 y KRT20; c) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; d) UPK1B, CRH, IGF2 y KRT20; e) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; f) AR, UPK1B, CRH, IGF2 y KRT20; g) UPK1B, CRH, IGF2 y ANXA10; o h) UPK1B, CRH, KRT20 y ANXA10.

[0016] De algunas realizaciones, un procedimiento comprende además la detección de un control endógeno. En algunas realizaciones, el control endógeno se selecciona de ABL, GUSB, GAPDH, TUBB y UPK1a. En algunas realizaciones, el control endógeno es ABL. En algunas realizaciones, un método comprende detectar un control exógeno. En algunas realizaciones, el control exógeno es un ARN. En algunas de estas realizaciones, el control exógeno es un RNA blindado. En algunas realizaciones, el método comprende detectar en una sola reacción múltiplex: a) AR, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, un control endógeno y un control exógeno; b) AR, CRH, IGF2, KRT20, un control endógeno y un control exógeno; c) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, un control endógeno y un control exógeno; d) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, un control endógeno y un control exógeno; e) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; f) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, un control endógeno y un control exógeno; g) UPK1B, CRH, IGF2, ANXA10, un control endógeno y un control exógeno; o h) UPK1B, CRH, KRT20, ANXA10, un control endógeno y un control exógeno. En algunas realizaciones, el método comprende detectar en una única reacción múltiplex: a) AR, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, ABL y un control exógeno; b) AR, CRH, IGF2, KRT20, ABL y un control exógeno; c) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, ABL y un control exógeno; d) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ABL y un control exógeno; e) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; f) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ABL y un control exógeno; g) UPK1B, CRH, IGF2, ANXA10, ABL y un control exógeno; o h) UPK1B, CRH, KRT20, ANXA10, ABL y un control exógeno.

[0017] En algunas realizaciones, la detección comprende TA-PCR. En algunas realizaciones, la detección comprende TA-PCR cuantitativa. En algunas realizaciones, un método comprende comparar un valor C_t o un valor ΔCt con un valor umbral C_t o un valor ΔCt. En algunas realizaciones, ΔCt es el valor de C_t para el control endógeno menos el valor de C_t para el marcador. En algunas realizaciones, la reacción de TA-PCR tarda menos de tres horas o menos de 2 horas desde un paso de desnaturalización inicial hasta un paso de extensión final.

[0018] En algunas realizaciones, un método comprende poner en contacto el ARN de la muestra con un conjunto de pares de cebadores de marcadores de cáncer de vejiga, en donde el conjunto de pares de cebadores de marcador

del cáncer de vejiga comprende un primer par de cebadores para la detección de AR, o un primer par de cebadores para detectar UPK1B, o un primer par de cebadores para detectar AR y un segundo par de cebadores para detectar UPK1B. En algunas realizaciones, el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un tercer par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A. En algunas realizaciones, el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un cuarto par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, en donde el tercer par de cebadores y el cuarto par de cebadores detectan diferentes marcadores. En algunas realizaciones, el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un quinto par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, en donde el tercer par de cebadores, el cuarto par de cebadores y el quinto par de cebadores detecta diferentes marcadores. En algunas realizaciones, el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un par de cebadores separado para detectar cada marcador en un conjunto de marcadores seleccionados de a) AR, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; b) AR, CRH, IGF2 y KRT20; c) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; d) UPK1B, CRH, IGF2 y KRT20; e) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; f) AR, UPK1B, CRH, IGF2 y KRT20; g) UPK1B, CRH, IGF2 y ANXA10; o h) UPK1B, CRH, KRT20 y ANXA10. En algunas realizaciones, el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un par de cebadores separado para detectar cada marcador y control en un conjunto seleccionado de a) AR, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, un control endógeno y un control exógeno; b) AR, CRH, IGF2, KRT20, un control endógeno y un control exógeno; c) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, un control endógeno y un control exógeno; d) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, un control endógeno y un control exógeno; e) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; f) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, un control endógeno y un control exógeno; g) UPK1B, CRH, IGF2, ANXA10, un control endógeno y un control exógeno; o h) UPK1B, CRH, KRT20, ANXA10, un control endógeno y un control exógeno. En algunas realizaciones, el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un par de cebadores separado para detectar cada marcador y control en un conjunto seleccionado de: a) AR, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, ABL y un control exógeno; b) AR, CRH, IGF2, KRT20, ABL y un control exógeno; c) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, ABL y un control exógeno; d) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ABL y un control exógeno; e) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; f) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ABL y un control exógeno; g) UPK1B, CRH, IGF2, ANXA10, ABL y un control exógeno; o h) UPK1B, CRH, KRT20, ANXA10, ABL y un control exógeno.

[0019] En algunas realizaciones, en donde cada par de cebadores marcadores de cáncer de vejiga produce un amplicón que es de 50 a 500 nucleótidos de longitud, de 50 a 400 nucleótidos de longitud, de 50 a 300 nucleótidos de longitud, de 50 a 200 nucleótidos de longitud, o 50 a 150 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, al menos uno, al menos dos, o al menos tres pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga atraviesan un intrón en la secuencia genómica. En algunas realizaciones, cada par de cebadores de cáncer de vejiga abarca un intrón en la secuencia genómica.

[0020] En algunas realizaciones, el par de cebadores para la detección de AR comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 54 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 55, en donde cada cebador es menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35, o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, el par de cebadores para detectar UPK1B comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 51 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 52, en donde cada cebador es menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de largo.

[0021] En algunas realizaciones, un método comprende además poner en contacto el ARN de la muestra con un par de cebadores control endógeno. En algunas de tales realizaciones, el par de cebadores de control endógeno para detectar un control endógeno se selecciona de ABL, GUSB, GAPDH, TUBB y UPK1a. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control endógeno es para detectar ABL. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control endógeno comprende un primer cebador que comprende la SEQ ID NO: 8 y un segundo cebador que comprende la SEQ ID NO: 9, en donde cada cebador es menor que 50, menor que 45, menor que 40, menor que 35 o menor que 30 nucleótidos de largo. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control endógeno comprende un primer cebador que comprende la SEQ ID NO: 41 y un segundo cebador que comprende la SEQ ID NO: 42, en donde cada cebador es menor que 50, menor que 45, menor que 40, menor que 35, o menor que 30 nucleótidos de largo. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control endógeno comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de SEQ ID NO: 8 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 9, en donde cada cebador tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control endógeno comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al

menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 41 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 42, en donde cada cebador tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud.

[0022] En algunas realizaciones, el método comprende poner en contacto el ARN de la muestra con un par de cebadores de control exógeno. En algunas de tales realizaciones, el par de cebadores de control exógeno es para detectar un ARN exógeno. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control exógeno comprende un primer cebador que comprende la SEQ ID NO: 23 y un segundo cebador que comprende la SEQ ID NO: 24, en donde cada cebador es menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de largo. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control exógeno comprende un primer cebador que comprende la SEQ ID NO: 44 y un segundo cebador que comprende la SEQ ID NO: 45, en donde cada cebador es menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35, o menos de 30 nucleótidos de largo. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control exógeno comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 23 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 24, en donde cada cebador tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control exógeno comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 44 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, a al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 45, en donde cada cebador tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud.

[0023] En algunas realizaciones, el método comprende la formación de un conjunto de amplicones marcador de cáncer de vejiga, en el que el conjunto de amplicones marcador de cáncer de vejiga comprende un amplicón AR, o un amplicón de UPK1B, o ambos un amplicón AR y un amplicón UPK1B, y poner en contacto los amplicones de marcadores de cáncer de vejiga con un conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga, en donde el conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprende una primera sonda para detectar el amplicón de AR, o una primera sonda para detectar el amplicón de UPK1B, o una primera sonda para detectar el amplicón de AR y una segunda sonda para detectar el amplicón UPK1B. En algunas realizaciones, el conjunto de amplicones marcadores de cáncer de vejiga comprende un tercer amplicón seleccionado de entre un amplicón CRH, un amplicón IGF2, un amplicón KRT20, un amplicón ANXA10, un amplicón UPK2, un amplicón MGEA5 y un amplicón PIK3A, y en donde el conjunto de las sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprende una tercera sonda para detectar el tercer amplicón. En algunas realizaciones, el conjunto de amplicones marcadores de cáncer de vejiga comprende un cuarto amplicón seleccionado entre un amplicón CRH, un amplicón IGF2, un amplicón KRT20, un amplicón ANXA10, un amplicón UPK2, un amplicón MGEA5 y un amplicón PIK3A, en donde el conjunto de las sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprenden una cuarta sonda para detectar el cuarto amplicón, y en el que el tercer amplicón y el cuarto amplicón son diferentes. En algunas realizaciones, el conjunto de amplicones marcadores de cáncer de vejiga comprende un quinto ampliçon seleccionado de entre un amplicón CRH, un ampliçon IGF2, un ampliçon KRT20, un ampliçon ANXA10, un ampliçon UPK2, un ampliçon MGEA5 y un ampliçon PIK3A, en donde el conjunto de las sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprenden una quinta sonda para detectar el quinto ampliçon, y en donde el tercer ampliçon, el cuarto ampliçon y el quinto ampliçon son diferentes.

[0024] En algunas realizaciones, la sonda para la detección de AR comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 56, en donde la sonda tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, la sonda para detectar UPK1B comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 53, en donde la sonda tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, cada sonda de marcador de cáncer de vejiga comprende un colorante, y en el que cada colorante es detectable diferente de los otros tres marcadores. En algunas realizaciones, cada sonda de marcador de cáncer de vejiga comprende un tinte fluorescente y una molécula de extinción.

[0025] En algunas realizaciones, un procedimiento comprende la formación de un amplicón de control endógeno, y poner en contacto el amplicón de control endógeno con una sonda de control endógeno. En algunas realizaciones, la sonda de control endógeno comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 10, 11, 12 o 43, en donde la sonda de control endógena tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, la sonda de control endógena comprende un tinte que es detectable diferente de los tintes de las sondas marcadoras de cáncer de vejiga.

[0026] En algunas realizaciones, un procedimiento comprende la formación de un amplicón de control exógeno, y en contacto con el amplicón de control exógeno con una sonda de control exógena. En algunas realizaciones, la sonda de control exógena comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de SEQ ID NO: 25 o 46, en donde la sonda de control exógena tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, la sonda de control exógena comprende un colorante que es detectable diferente de los colorantes de las sondas marcadoras de cáncer de vejiga y la sonda de control endógena.

[0027] En algunas realizaciones, el conjunto de marcadores de cáncer de vejiga son detectados en una única reacción multiplex. En algunas realizaciones, el método comprende utilizar un análisis discriminante lineal (ADL) para combinar dos o más de los niveles de marcadores de cáncer de vejiga en una puntuación combinada. En algunas realizaciones, la ADL se usa para combinar todos los niveles de marcadores de cáncer de vejiga en una puntuación combinada.

[0028] En algunas realizaciones, la muestra comprende células uroteliales. La muestra se selecciona de una muestra de orina y una muestra de lavado de vejiga. En algunas realizaciones, el sujeto tiene un historial de cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, el sujeto está siendo monitoreado para detectar la recurrencia del cáncer de vejiga.

[0029] En algunas realizaciones, se proporcionan las composiciones, como se define en la reivindicación 11. En algunas realizaciones, una composición comprende un conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga, en donde el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un primer par de cebadores para detectar AR, o un primer par de cebadores para detectar UPK1B, o un primer par de cebadores para detectar AR y un segundo par de cebadores para detectar UPK1B. En algunas realizaciones, el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un tercer par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A. En algunas realizaciones, el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un cuarto par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, en donde el tercer par de cebadores y el cuarto par de cebadores detectan diferentes marcadores. En algunas realizaciones, el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un quinto par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, en donde el tercer par de cebadores, el cuarto par de cebadores y el quinto par de cebadores detecta diferentes marcadores.

[0030] En algunas realizaciones, cada par de cebadores marcadores de cáncer de vejiga produce un amplicón que es 50 a 500 nucleótidos de largo, 50 a 400 nucleótidos, 50 a 300 nucleótidos, 50 a 200 nucleótidos, o 50 a 150 nucleótidos. En algunas realizaciones, al menos uno, al menos dos, o al menos tres pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga atraviesan un intrón en la secuencia genómica. En algunas realizaciones, cada par de cebadores de cáncer de vejiga abarca un intrón en la secuencia genómica.

[0031] En algunas realizaciones, el par de cebadores para la detección de AR comprende una primera imprimación que comprende al menos 8, por lo menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 54 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, a al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 55, en donde cada cebador es menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35, o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, el par de cebadores para detectar UPK1B comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 51 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 52, en donde cada cebador es menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de largo.

[0032] En algunas realizaciones, la composición comprende además un conjunto de sondas marcadoras de cáncer de vejiga, en donde el conjunto de sondas marcadoras del cáncer de vejiga comprende una primera sonda para detectar un amplicón AR, o una primera sonda para detectar un ampliçon UPK1B, o una primera sonda para detectar un amplicón AR y una segunda sonda para detectar un ampliçon UPK1B. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprende una tercera sonda para detectar un tercer ampliçon seleccionado entre un ampliçon CRH, un ampliçon IGF2, un ampliçon KRT20, un ampliçon ANXA10, un ampliçon UPK2, un ampliçon MGK5 y un ampliçon PIK3A. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprende una cuarta sonda para detectar un cuarto ampliçon seleccionado entre un ampliçon CRH, un ampliçon IGF2, un ampliçon KRT20, un ampliçon ANXA10, un ampliçon UPK2, un ampliçon MGK5 y un ampliçon PIK3A., en donde el tercer ampliçon y el cuarto ampliçon son diferentes. En algunas realizaciones, el conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprende una cuarta sonda para detectar un quinto ampliçon seleccionado de un ampliçon CRH, un ampliçon IGF2, un ampliçon KRT20, un ampliçon ANXA10, un ampliçon UPK2, un ampliçon MGEA5 y un ampliçon PIK3A. en donde el tercer ampliçon, el cuarto

amplicón y el quinto amplicón son diferentes.

[0033] En algunas realizaciones, la sonda para la detección de AR comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 56, en donde la sonda tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de largo. En algunas realizaciones, la sonda para detectar UPK1B comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 53, en donde la sonda tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, cada sonda de marcador de cáncer de vejiga comprende un colorante, y en el que cada colorante es detectable diferente de los otros tres marcadores. En algunas realizaciones, cada sonda de marcador de cáncer de vejiga comprende un tinte fluorescente y una molécula de extinción.

[0034] En algunas realizaciones, la composición comprende además un par de cebadores de control endógeno para la detección de un control endógeno. En algunas realizaciones, el control endógeno se selecciona de ABL, GUSB, GAPDH, TUBB y UPK1a. En algunas realizaciones, el control endógeno es ABL. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control endógeno comprende un primer cebador que comprende la SEQ ID NO: 8 y un segundo cebador que comprende la SEQ ID NO: 9, en donde cada cebador es menor que 50, menor que 45, menor que 40, menor que 35 o menos de 30 nucleótidos de largo. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control endógeno comprende un primer cebador que comprende la SEQ ID NO: 41 y un segundo cebador que comprende la SEQ ID NO: 42, en donde cada cebador es menor que 50, menor que 45, menor que 40, menor que 35, o menos de 30 nucleótidos de largo. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control endógeno comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de SEQ ID NO: 8 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 9, en donde cada cebador tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, el par de cebadores de control endógeno comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 41 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 42, en donde cada cebador tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud.

[0035] En algunas realizaciones, la composición comprende además una sonda de control endógeno para la detección de un amplicón de control endógeno. En algunas realizaciones, el control endógeno se selecciona de ABL, GUSB, GAPDH, TUBB y UPK1a. En algunas realizaciones, el control endógeno es ABL. En algunas realizaciones, la sonda de control endógeno comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 10, 11, 12 o 43, en donde la sonda de control endógena tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, la sonda de control endógeno comprende un colorante que es detectable diferente de los tintes de las sondas marcadoras de cáncer de vejiga

[0036] En algunas formas de realización, la composición es una composición liofilizada. En algunas realizaciones, la composición es una solución. En algunas realizaciones, la composición comprende además células uroteliales. En algunas realizaciones, las células uroteliales son de una muestra de orina.

[0037] A continuación se describen realizaciones adicionales y detalles de las invenciones.

4. DESCRIPCIÓN DETALLADA

4.1. Definiciones

[0038] Para facilitar la comprensión de la presente invención, una serie de términos y frases se definen a continuación:

[0039] Como se usa en el presente documento, los términos "detectar", "detectado" o "detección" pueden describir bien la regla general de descubrir o discernir o la observación específica de una composición marcada de forma detectable.

[0040] Tal como se utiliza aquí, el término "forma detectable diferente" se refiere a un conjunto de etiquetas (tales como colorantes) que pueden ser detectadas y distinguidas simultáneamente.

[0041] Como se usa en el presente documento, los términos "paciente" y "sujeto" se utilizan indistintamente para referirse a un ser humano. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento pueden

usarse en muestras de animales no humanos.

[0042] Como se usa en el presente documento, "cáncer de vejiga" es un tumor, como un carcinoma de células de transición, que surge del revestimiento de la vejiga, e incluye cánceres de vejiga de grado bajo y alto, así como cáncer de vejiga metastásico. El "cáncer de vejiga de bajo grado" se refiere a los tumores superficiales que se proyectan hacia el interior de la cavidad de la vejiga. Los cánceres de vejiga de bajo grado tienen una alta tasa de recurrencia. "Cáncer de vejiga de alto grado" se refiere a un tumor invasivo y de rápido crecimiento que invade la pared de la vejiga. Los cánceres de vejiga de alto grado tienen el potencial de propagarse (es decir, hacer metástasis) a otras áreas del cuerpo. El "cáncer de vejiga metastásico" se refiere al cáncer de vejiga invasivo que se ha diseminado a una o más ubicaciones en el cuerpo más allá de la vejiga.

[0043] Como se usa en el presente documento, los términos "oligonucleótido", "polinucleótido", "molécula de ácido nucleico", y similares, se refieren a moléculas que contienen ácido nucleico, incluyendo, pero no limitado a, ADN o ARN. El término abarca secuencias que incluyen cualquiera de los análogos de base conocidos de ADN y ARN que incluyen, entre otros, 4-acetilcitosina, 8-hidroxi-N6-metiladenosina, aziridinilcitosina, pseudoisocitosis, 5 (carboxihidroxilmetilo) uracilo, 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-carboximetilaminometilo-2-tiouracilo, 5-carboximetilo-aminometiluracilo, dihidrouracilo, inosina, N6-isopenteniladenina, 1-metiladenina, 1-metilpseudouracilo, 1-metilguanina, 1-metilinosina, 2,2-dimetilguanina, 2-metilo-adenina, 2-metilguanina, 3-metilcitosina, 5-metilcitosina, N6-metiladenina, 7-metilguanina, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometilo-2-tiouracilo, beta-D-manosilqueosina, 5'-metoxicarbonilmetiluracilo, 5-metoxiuracilo, 2-metiltio-N6-isopenteniladenina, metiléster del ácido uracilo-5-oxiacético, ácido uracilo-5-oxiacético, oxibutoxosina, pseudouracilo, queosina, 2-tiocitosina, 5-metilo-2-tiouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-metiluracilo, metiléster del ácido N-uracilo-5-oxiacético, ácido uracilo-5-oxiacético, pseudouracilo, queosina, 2-tiocitosina y 2,6-diaminopina.

[0044] Tal como se utiliza aquí, el término "oligonucleótido" se refiere a un polinucleótido monocatenario que tiene menos de 500 nucleótidos. En algunas realizaciones, un oligonucleótido es de 8 a 200, de 8 a 100, de 12 a 200, de 12 a 100, de 12 a 75 o de 12 a 50 nucleótidos. Los oligonucleótidos pueden referirse por su longitud, por ejemplo, un oligonucleótido de 24 residuos puede denominarse un "24-mer".

[0045] Tal como se utiliza aquí, el término "complementario" a un ARN diana (o región diana del mismo), y el porcentaje de "complementariedad" de la secuencia de la sonda a la de la secuencia de ARN diana es el porcentaje de "identidad" a la secuencia de ARN diana o al complemento inverso de la secuencia del ARN diana. Al determinar el grado de "complementariedad" entre las sondas utilizadas en las composiciones descritas en el presente documento (o sus regiones) y un ARN diana, como los descritos en el presente documento, el grado de "complementariedad" se expresa como el porcentaje de identidad entre la secuencia de la sonda (o región de la misma) y la secuencia del ARN diana o el complemento inverso de la secuencia del ARN diana que mejor se alinea con la misma. El porcentaje se calcula contando el número de bases alineadas que son idénticas entre las 2 secuencias, dividiendo por el número total de nucleótidos contiguos en la sonda y multiplicando por 100. Cuando se usa el término "complementario", el oligonucleótido en cuestión es al menos 90% complementario a la molécula diana, a menos que se indique lo contrario. En algunas realizaciones, el oligonucleótido sujeto es al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, o 100% complementario a la molécula diana.

[0046] Un "cebador" o "sonda" tal como se utiliza aquí, se refiere a un oligonucleótido que comprende una región que es complementaria a una secuencia de al menos 8 nucleótidos contiguos de una molécula de ácido nucleico diana, tal como un ARNm o un ADN transcrito inversamente de un ARNm. En algunas realizaciones, un cebador o sonda comprende una región que es complementaria a una secuencia de al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 26, al menos 27, al menos 28, al menos 29, o al menos 30 nucleótidos contiguos de una molécula diana. Cuando un cebador o sonda comprende una región que es "complementaria a al menos x nucleótidos contiguos de una molécula diana", el cebador o la sonda es al menos 95% complementario a al menos x nucleótidos contiguos de la molécula diana. En algunas realizaciones, el cebador o la sonda es al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, o el 100% complementario a la molécula diana.

[0047] Una "muestra", como se usa aquí, incluye muestras de orina (incluyendo muestras derivadas de las muestras de orina), y otros tipos de muestras humanas. Como se usa en el presente documento, las muestras de orina incluyen, pero no se limitan a, orina completa, una muestra que comprende células de una muestra de orina, una muestra que comprende el sedimento celular aislado por centrifugación de una muestra de orina, una muestra que comprende células aisladas por filtración de una orina muestra, y similares. En algunas realizaciones, una muestra de orina comprende un conservante, tal como un conservante que causa daño, tal como lisis, de glóbulos rojos y/o blancos. En algunas realizaciones, una muestra es una muestra de lavado de vejiga.

[0048] Como se usa en este documento, "hormona liberadora de corticotropina" o "CRH" se refiere a un ARNm que codifica CRH, así como la proteína de CRH. En algunas realizaciones, CRH es CRH humana. Secuencias no

limitantes de CRH de ARNm humanos ejemplares se encuentran en GenBank nº de acceso NM_000756, y en SEQ ID NO: 1.

[0049] Como se usa en este documento, "factor de crecimiento similar a la insulina 2" o "IGF2" se refiere a un ARNm que codifica IGF2, así como la proteína IGF2. En algunas realizaciones, IGF2 es IGF2 humano. Las secuencias de ARNm de IGF2 humano ejemplares no limitantes se muestran en las SEQ ID NO: 2 a 4.

[0050] Como se usa en este documento, "queratina 20" o "KRT20" se refiere a un ARNm que codifica KRT20, así como la proteína KRT20. En algunas realizaciones, KRT20 es KRT20 humano. Secuencias de KRT20 no limitantes de ARNm humanos ejemplares se encuentran en GenBank nº de acceso NM_019010, y en SEQ ID NO: 5.

[0051] Como se usa en este documento, "A10 anexina" o "genes ANXA10" se refiere a un ARNm que codifica genes ANXA10, así como la Proteína ANXA10. En algunas realizaciones, ANXA10 es ANXA10 humano. Se encuentran secuencias de ARNm de ANXA10 humano no limitativas a modo de ejemplo en el número de acceso de GenBank NM_007193 y en la SEQ ID NO: 6.

[0052] Como se usa en este documento, "receptor de andrógenos" o "AR" se refiere a un ARNm que codifica AR, así como la proteína de AR. En algunas realizaciones, AR es AR humana. Secuencias AR ARNm no limitantes ejemplares humanas se encuentran en GenBank números de acceso NM_000044 y NM_001011645, y en SEQ ID NOs:. 49 y 57.

[0053] Como se usa en este documento, "uroplakin 1B" o "UPK1B" se refiere a un ARNm que codifica UPK1B, así como la proteína UPK1B. En algunas realizaciones, UPK1B es UPK1B humano. Las secuencias de ARNm de UPK1B humanas ejemplares no limitantes se encuentran en el número de acceso de GenBank NM_006952 y en la SEQ ID NO: 50.

[0054] Como se usa en este documento, "uroplakin 2" o "UPK2" se refiere a un ARNm que codifica UPK2, así como la proteína UPK2. En algunas realizaciones, UPK2 es UPK2 humano. Secuencias no limitantes de UPK2 de ARNm humanos ejemplares se encuentran en GenBank Accession nº NM_006760,3. y en SEQ ID NO: 58.

[0055] Como se usa en este documento, "antígeno 5 que expresa meningioma" o "MGEA5" se refiere a un ARNm que codifica MGEA5, así como la proteína MGEA5. En algunas realizaciones, MGEA5 es MGEA5 humano. Se encuentran secuencias de ARNm de MGEA5 humanas no limitativas a modo de ejemplo en los números de acceso de GenBank NM_001142434.1 y NM_012215,3. y en las SEQ ID NO: 59 y 60.

[0056] Como se usa en este documento, "fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 3-quinasa, subunidad catalítica alfa" o "PIK3CA" se refiere a un ARNm que codifica PIK3CA, así como la proteína PIK3CA. En algunas realizaciones, PIK3CA es PIK3CA humano. Las secuencias de ARNm de PIK3CA humanas no limitantes ejemplares se encuentran en el número de acceso de GenBank NM_006218.2, y en la SEQ ID NO: 61.

[0057] Un "control endógeno," tal como se utiliza aquí, se refiere a un resto que está naturalmente presente en la muestra a ser utilizado para la detección, y que se puede utilizar para normalizar los niveles de los marcadores de cáncer de vejiga descritas en este documento (incluyendo, pero no limitado a, AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10). Por lo tanto, un control endógeno es típicamente un resto que está presente en niveles similares de célula a célula, y en niveles similares en células de sujetos con cáncer de vejiga y células de sujetos sin cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, un control endógeno es un ARN (tal como un ARNm, ARNt, ARN ribosómico, etc.). Los controles endógenos ejemplares no limitativos incluyen ARNm de ABL, ARNm de GUSB, ARNm de GAPDH, ARNm de TUBB y ARNm de UPK1a. Se encuentran secuencias de ARNm ABL humanas ejemplares no limitantes en el número de acceso de GenBank NM_007313, y en la SEQ ID NO: 7. En algunas realizaciones, se selecciona un control endógeno que puede detectarse de la misma manera que se detectan los marcadores de cáncer de vejiga y, en Algunas realizaciones, simultáneamente con los marcadores de cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, además de ser un control endógeno indicativo de suficiencia de la muestra (es decir, indicativo de un número suficiente de células en una muestra para detectar niveles de los marcadores de cáncer de vejiga), un control endógeno también puede indicar niveles elevados de células uroteliales en una muestra, que en sí misma puede ser un indicador de cáncer de vejiga.

[0058] Un "control exógeno", como se usa aquí, se refiere a un resto que se añade a una muestra para ser utilizado para la detección. Normalmente, se selecciona un control exógeno que no se espera que esté presente en la muestra para ser utilizado para la detección, o está presente en niveles muy bajos en la muestra, de modo que la cantidad del resto naturalmente presente en la muestra es indetectable o es detectable a un nivel mucho más bajo que la cantidad agregada a la muestra como un control exógeno. En algunas realizaciones, un control exógeno comprende una secuencia de nucleótidos que no se espera que esté presente en el tipo de muestra utilizada para la detección de los marcadores de cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, un control exógeno comprende una secuencia de nucleótidos que no se sabe que esté presente en la especie de la que se toma la muestra. En algunas realizaciones, un control exógeno comprende una secuencia de nucleótidos de una especie diferente a la del sujeto

de quien se tomó la muestra. En algunas realizaciones, un control exógeno comprende una secuencia de nucleótidos que no se sabe que esté presente en ninguna especie. En algunas realizaciones, se selecciona un control exógeno que puede detectarse de la misma manera que se detectan los marcadores de cáncer de vejiga y, en algunas realizaciones, simultáneamente con los marcadores de cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, un control exógeno es un ARN. En algunas realizaciones, un ARN es un ARN blindado, que comprende ARN empaquetado en una capa protectora de bacteriófagos. *Véase, por ejemplo,* WalkerPeach et al., Clin. Chem. 45:12: 2079-2085 (1999).

[0059] En las secuencias de la presente memoria, "U" y "T" se usan de forma intercambiable, de tal manera que ambas letras indican un uracilo o timina en esa posición. Un experto en la materia entenderá por el contexto y/o el uso previsto si un uracilo o timina está destinado y/o debe usarse en esa posición en la secuencia. Por ejemplo, un experto en la técnica entendería que las moléculas de ARN nativas incluyen típicamente uracilo, mientras que las moléculas de ADN nativas incluyen típicamente timina. Por lo tanto, cuando una secuencia de ARN incluye "T", un experto en la técnica entendería que esa posición en el ARN nativo es probablemente un uracilo.

[0060] En la presente descripción, "una secuencia seleccionada de" abarca tanto "una secuencia seleccionada de" como "una o más secuencias seleccionadas de". Por lo tanto, cuando se usa "una secuencia seleccionada de", se debe entender que se puede elegir una o más de las secuencias enumeradas.

[0061] En la presente descripción, un método que comprende la detección de un "conjunto de marcadores de cáncer de vejiga que consisten en" implica la detección de sólo los marcadores de cáncer de vejiga del conjunto, y ningunos marcadores adicionales de cáncer de vejiga. El método puede comprender componentes o pasos adicionales, sin embargo, como la detección de controles endógenos y/o exógenos. De manera similar, un método o composición que comprende "un conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga" y/o "un conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga" puede incluir pares de cebadores y/o sondas solo para los marcadores de cáncer de vejiga del conjunto, y no para cualquier otro marcador de cáncer de vejiga. El método o composición puede comprender componentes adicionales, sin embargo, tales como uno o más pares de cebadores de control endógenos y/o uno o más pares de cebadores de control exógenos.

4.2. Detección de cáncer de vejiga

[0062] Los presentes inventores han desarrollado un ensayo para la detección de cáncer de vejiga que implica la detección del receptor de andrógenos (AR) y/o uroplakin 1B (UPK1B), y opcionalmente, al menos un marcador seleccionado de CRH, IGF2, KRT20 ANXA10, UPK2, MGEA5, y PIK3A. Los ensayos descritos actualmente tienen varias ventajas sobre los diagnósticos existentes y previamente descritos para el cáncer de vejiga. Por ejemplo, los ensayos actuales no se basan en la citología, que puede ser costosa y requiere de citólogos capacitados para una interpretación precisa de los resultados. En su lugar, los ensayos actuales se basan en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y se pueden llevar a cabo de manera sustancialmente automatizada, por ejemplo, utilizando el sistema GeneXpert® (Cepheid, Sunnyvale, CA). Los ensayos actuales se pueden completar en menos de 3 horas, y en algunas realizaciones, en menos de 2 horas, utilizando un sistema automatizado, por ejemplo, el sistema GeneXpert®. Las pruebas existentes pueden requerir varios días para que un laboratorio complete y envíe los resultados. Además, el presente ensayo puede llevarse a cabo en volúmenes mucho más pequeños de orina (en algunas realizaciones, 5 ml o menos). Por lo tanto, los ensayos actuales, que se basan en la PCR en lugar de la citología, permiten una reacción rápida en un solo recipiente para el diagnóstico del cáncer de vejiga, que en muchos casos se puede realizar en el punto de atención utilizando un sistema automatizado como GeneXpert®.

4.2.1. Metodos generales

[0063] Se proporcionan composiciones y métodos como se definen en las reivindicaciones, para detectar cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, se proporcionan composiciones y métodos para detectar cáncer de vejiga de bajo grado. En algunas realizaciones, se proporcionan composiciones y métodos para detectar cáncer de vejiga de alto grado. En algunas realizaciones, se proporcionan composiciones y métodos para controlar la recurrencia del cáncer de vejiga.

[0064] En algunas realizaciones, un método para detectar el cáncer de vejiga comprende detectar el nivel de AR en una muestra. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende detectar el nivel de UPK1B en una muestra. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende detectar el nivel de AR y UPK1B en una muestra. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende detectar el nivel de al menos un marcador adicional seleccionado de CRH, IGF2, KRT20 ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende detectar los niveles de un conjunto de marcadores de cáncer de vejiga que comprenden, o consisten en, AR, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; o UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; o AR, CRH, IGF2 y KRT20; o UPK1B, CRH, IGF2 y KRT20; o UPK1B, CRH, IGF2 y ANXA10.

[0065] En algunas realizaciones, un método de detección de cáncer de vejiga comprende además detectar el nivel

de al menos un control endógeno. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende además detectar el nivel de al menos un control exógeno. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende además detectar los niveles de al menos un control endógeno y al menos un control exógeno.

[0066] En algunas realizaciones, un método para detectar el cáncer de vejiga comprende detectar el nivel de AR ARNm en una muestra. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende detectar el nivel de ARNm de UPK1B en una muestra. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende detectar el nivel de ARNm de AR y ARNm de UPK1B en una muestra. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende detectar el nivel de al menos un marcador adicional seleccionado de ARNm de CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende detectar los niveles de un conjunto de marcadores de cáncer de vejiga que comprenden, o consisten en, ARN de AR, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; o UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10 ARNm; o ARN de AR, CRH, IGF2 y KRT20; o UPK1B, CRH, IGF2 y KRT20 ARNm; o UPK1B, CRH, IGF2 y ANXA10 ARNm.

[0067] En algunas realizaciones, un método de detección de cáncer de vejiga comprende además detectar el nivel de al menos un ARN de control endógeno. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende además detectar el nivel de al menos un ARN de control exógeno. En algunas realizaciones, un método para detectar cáncer de vejiga comprende además detectar los niveles de al menos un ARN de control endógeno y al menos un ARN de control exógeno.

[0068] En la presente descripción, el término "ARN diana" se usa por conveniencia para referirse a AR y UPK1B, y también para otros ARN diana, tales como CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, y PIK3A mRNAs y ARN de control exógenos y/o endógenos. Por lo tanto, se debe entender que cuando se presenta una discusión en términos de un ARN diana, esa discusión se destina específicamente a abarcar AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, y/u otros ARNs diana.

[0069] En algunas realizaciones, el nivel de uno o más ARN diana se detecta en una muestra de orina. En algunas realizaciones, el nivel de uno o más ARN diana se determina en una muestra de orina que se ha conservado de una manera que causa daño, como lisis, a glóbulos rojos y/o glóbulos blancos. En algunas realizaciones, el nivel de uno o más ARN diana se detecta en células uroteliales aisladas de una muestra de orina, con o sin tratamiento conservante. En algunas realizaciones, las células uroteliales se aíslan por filtración.

[0070] La detección de un nivel elevado de ARNm de AR en una muestra de un sujeto indica la presencia de cáncer de vejiga en el sujeto. La detección de un nivel elevado de UPK1B en una muestra de un sujeto indica la presencia de cáncer de vejiga en el sujeto. En algunas realizaciones, la detección de un nivel elevado de uno o más ARN diana seleccionados de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A en la muestra de un sujeto indica la presencia de cáncer de vejiga en el sujeto. La detección se puede hacer cuantitativamente. La detección se puede hacer cualitativamente. En algunas realizaciones, la detección de un ARN diana comprende la formación de un complejo que comprende un polinucleótido y un ácido nucleico seleccionado de un ARN diana, un amplicón de ADN de un ARN diana y un complemento de un ARN diana. En algunas realizaciones, la detección de un ARN diana comprende TA-PCR. En algunas realizaciones, la detección de un ARN diana comprende TA-PCT cuantitativa. En algunas realizaciones, el nivel del ARN diana se compara con un nivel normal o de control del ARN diana.

[0071] En algunas realizaciones, los niveles de ARN diana, como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, y ARNm PIK3A, se puede medir en muestras recogidas en una o más veces de un paciente a controlar el estado o la progresión del cáncer de vejiga en el paciente. En algunas realizaciones, un paciente con un historial de cáncer de vejiga, como un historial de cáncer de vejiga de bajo grado o un historial de cáncer de vejiga de alto grado, se monitorea detectando los niveles de AR y/o ARNm de UPK1B, y opcionalmente al menos uno ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, a intervalos regulares o semi-regulares. En algunas de tales realizaciones, el paciente es monitoreado detectando los niveles de los ARN diana al menos una vez al mes, al menos una vez cada dos meses, al menos una vez cada tres meses, al menos una vez cada cuatro meses, al menos una vez cada cinco meses, al menos una vez cada seis meses, al menos una vez cada nueve meses, al menos una vez al año o al menos una vez cada dos años.

[0072] En algunas realizaciones, los niveles de ARN diana, como UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, y ARNm PIK3A, se pueden medir en muestras recogidas en una o más veces de un paciente para monitorizar la respuesta a la terapia anti-andrógenos. Los agentes antiandrógenos ejemplares no limitativos incluyen flutamida (Eulexin®), bicalutamida (Casodex®) y nilutamida (Nilandron®). En algunas realizaciones, un paciente sometido a terapia con antiandrógenos para el cáncer de vejiga se monitoriza detectando los niveles de ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, a intervalos regulares o semi-regulares. En algunas de tales realizaciones, el paciente es monitoreado detectando los niveles de los ARN diana al menos una vez al mes, al menos una vez cada dos meses, al menos una vez cada tres meses, al menos una vez cada cuatro meses, al menos una vez cada cinco meses, al menos una vez cada seis meses, al menos una vez cada nueve meses, al menos una vez al año o al menos una vez cada dos años. Una reducción en el nivel de AR y/o UPK1B durante el tratamiento indica que el cáncer de vejiga está respondiendo

a la terapia antiandrogénica.

[0073] En algunas realizaciones, una muestra a ensayar es una muestra de orina (p. ej., una muestra de orina evacuada), o se deriva de una muestra de orina. En algunas realizaciones, se agrega un conservante a la muestra de orina, por ejemplo, para dañar (p. ej., lisar) los glóbulos rojos y/o blancos presentes en la muestra de orina. Dañando o lisando los glóbulos rojos y/o blancos antes del aislamiento de las células uroteliales, se puede reducir la contaminación por los glóbulos rojos y/o blancos. En algunas realizaciones, la muestra de orina se centrifuga para concentrar las células uroteliales. En algunas realizaciones, la muestra de orina se filtra para aislar las células uroteliales de otros materiales de orina y conservantes. En algunas de estas realizaciones, el filtro es parte de un cartucho GeneXpert (Cepheid, Sunnyvale, CA).

[0074] En algunas realizaciones, se utilizan menos de 5 ml, menos de 4 ml, menos de 3 ml, o menos de 2 ml de orina en los métodos actuales. En algunas realizaciones, la muestra de orina se analiza sin un paso de centrifugación. Así, en algunas realizaciones, los presentes métodos se llevan a cabo en ausencia de centrifugación. En algunas realizaciones, se puede usar un mayor volumen de orina, y en algunas de tales realizaciones, se puede usar una etapa de centrifugación para concentrar las células uroteliales antes del análisis.

[0075] Se da a conocer que la muestra a ensayarse es otro fluido corporal, tal como sangre, esputo, mucosidad, saliva, semen, etc. Por ejemplo sangre, tal como sangre entera, células sanguíneas, plasma o suero.

[0076] La muestra clínica a ensayarse, en algunas realizaciones, es fresca (es decir, nunca congelada). En otras realizaciones, la muestra es una muestra congelada. Se divulga que la muestra es una muestra de tejido, como una muestra incluida en parafina fijada con formalina o la muestra es una muestra de citología líquida.

[0077] En algunas realizaciones, los métodos descritos aquí se utilizan para la detección temprana de cáncer de vejiga en una muestra de células uroteliales, tales como las obtenidas de la orina evacuada. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento se utilizan para controlar la recurrencia del cáncer de vejiga utilizando una muestra de células uroteliales, como las obtenidas a partir de orina evacuada.

[0078] En algunas realizaciones, la muestra a ensayarse se obtiene de un individuo que tiene uno o más de los siguientes factores de riesgo: historia de tabaquismo, hematuria, la historia de la vejiga o de otros tipos de cáncer, y la exposición a carcinógenos conocidos, tales como benceno. En algunas realizaciones, la muestra se obtiene de un individuo que tiene signos de diagnóstico o síntomas clínicos que pueden estar asociados con cáncer de vejiga, como sangre en la orina, micción frecuente, urgencia urinaria, incontinencia, dificultad para orinar, dolor abdominal, pérdida de peso inexplicable y/o pérdida de apetito. En algunas realizaciones, la muestra a analizar se obtiene de un individuo que previamente ha sido diagnosticado con cáncer de vejiga de grado bajo o grado alto. En algunas de tales realizaciones, se monitoriza al individuo para detectar la recurrencia del cáncer de vejiga.

[0079] El cáncer de vejiga se puede dividir en etapas, que indican la estructura de crecimiento del tumor principal. La tabla A muestra las etapas del cáncer de vejiga según el American Joint Committee on Cancer (AJCC). Las etapas mostradas cubren solo la porción "T" del sistema "TNM". La porción "T" se refiere al tumor primario, mientras que "N" se refiere a la propagación del cáncer a los ganglios linfáticos, y la "M" se refiere a si el cáncer se ha metastatizado a sitios distantes.

Tabla A: Etapas del cáncer de vejiga

Etapa	descripción
T0	No hay evidencia de tumor primario
Ta	Carcinoma papilar no invasivo
Tis/CIS	Carcinoma plano no invasivo (carcinoma *in situ)*
T1	El tumor ha crecido desde el revestimiento de la vejiga hasta el tejido conectivo, pero no ha crecido hacia la capa muscular de la vejiga
T2	El tumor ha crecido hacia la capa muscular.
T2a	El tumor ha crecido hacia la mitad interna de la capa muscular.
T2b	El tumor ha crecido hacia la mitad externa de la capa muscular.
T3	El tumor ha crecido a través de la capa muscular de la vejiga y en el tejido adiposo que lo rodea.
T3a	La diseminación del tumor al tejido graso solo se puede ver bajo un microscopio
T3b	La diseminación del tumor al tejido graso se puede ver en las pruebas de imagen o puede ser vista o palpada por el cirujano
T4	El tumor se ha diseminado más allá del tejido adiposo a órganos o estructuras cercanas
T4a	El tumor se ha diseminado al estroma de la próstata o al útero y/o vagina
T4b	El tumor se ha diseminado a la pared pélvica o la pared abdominal

[0080] En algunas realizaciones, los métodos descritos en este documento pueden utilizarse para el cribado de rutina de los individuos sanos sin factores de riesgo. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento se utilizan para seleccionar individuos asintomáticos que tienen uno o más de los factores de riesgo descritos anteriormente.

[0081] En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento se pueden usar para detectar el cáncer de vejiga de bajo grado. En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento pueden usarse para detectar cáncer de vejiga de alto grado. En algunas realizaciones, los métodos descritos en este documento detectan al menos el 15%, al menos el 17%, al menos el 20%, al menos el 22%, al menos el 25%, al menos el 27%, al menos el 30%, al menos el 31%, a al menos el 32%, al menos el 33%, al menos el 34% o al menos el 35% de los cánceres de vejiga de bajo grado. En algunas realizaciones, los métodos descritos en este documento detectan al menos el 85%, al menos el 87%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, a al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de cánceres de vejiga de alto grado.

[0082] En algunas realizaciones, los métodos descritos en el presente documento pueden usarse para evaluar la eficacia de un tratamiento para el cáncer de vejiga en un paciente. En algunas realizaciones, los niveles de ARN diana, tales como los niveles de ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente, se determinan al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, en varias veces durante el tratamiento, y se comparan con los niveles de ARN diana de una muestra de archivo tomada del paciente antes del inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, los niveles de ARN diana se comparan con los niveles de ARN diana de una muestra normal de archivo tomada del paciente. Idealmente, los niveles de ARN diana en la muestra normal no evidencian cambios aberrantes en los niveles de ARN diana.

[0083] En algunas realizaciones, el uso de los niveles de AR y/o ARNm UPK1B, y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, y PIK3A, para el seguimiento de la recurrencia de cáncer de vejiga es previsto. En algunas realizaciones, un nivel elevado de uno o más, dos o más, tres o más, o cuatro o más, cinco o más, o los seis ARNm indican que el cáncer de vejiga ha recurrido en el paciente.

[0084] En cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento, los niveles de ARN se pueden detectar al mismo tiempo o simultáneamente en las mismas o separadas reacciones de ensayo. En algunas realizaciones, los niveles de ARN se detectan en diferentes momentos, por ejemplo, en reacciones de ensayo en serie.

[0085] En algunas realizaciones, un método comprende la detección de los niveles de AR y/o ARNm UPK1B, y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, y PIK3A en una muestra de un sujeto en donde la detección de un nivel de cualquiera de los ARNm que es mayor que un nivel normal del ARN indica la presencia de cáncer de vejiga en el sujeto. En algunas realizaciones, la detección de niveles elevados de dos, tres, cuatro, cinco o seis ARNm marcadores de cáncer de vejiga indica la presencia de cáncer de vejiga en el sujeto. En algunas realizaciones, la detección de niveles elevados de al menos dos, al menos

tres, al menos cuatro o al menos cinco de los ARNm marcadores de cáncer de vejiga indica un mayor riesgo de cáncer de vejiga de alto grado.

[0086] En algunas realizaciones, se proporciona un método para facilitar el diagnóstico de cáncer de vejiga en un sujeto. Dichos métodos comprenden la detección del nivel de ARNm de AR y/o UPK1B y, opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A en una muestra del sujeto. En algunas realizaciones, la información concerniente a los niveles de ARNm de AR y/o UPK1B y, opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A en la muestra del sujeto se comunica a un médico facultativo. Un "profesional médico", como se usa en este documento, se refiere a un individuo o entidad que diagnostica y/o trata a pacientes, como un hospital, una clínica, un consultorio médico, un médico, una enfermera o un agente de cualquiera de las mencionadas entidades y particulares. En algunas realizaciones, la detección de los niveles de ARNm de AR y/o UPK1B y, opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A se lleva a cabo en un laboratorio que ha recibido la muestra del sujeto del médico o agente del médico. El laboratorio lleva a cabo la detección por cualquier método, incluidos los descritos en este documento, y luego comunica los resultados al médico. Un resultado se "comunica", como se usa en este documento, cuando se proporciona por cualquier medio al médico. Dicha comunicación puede ser oral o escrita, puede ser por teléfono, en persona, por correo electrónico, por correo o por otro servicio de mensajería, o puede realizarse depositando directamente la información en, por ejemplo, una base de datos accesible por el médico, incluidas las bases de datos no controladas por el médico. La información puede ser mantenida en formato electrónico. La información se puede almacenar en una memoria u otro medio legible por computadora, como RAM, ROM, EEPROM, memoria flash, chips de computadora, discos de video digital (DVD), discos compactos (CD), unidades de disco duro (HDD), cinta magnética, etc.

[0087] Se proporcionan métodos de detección de la presencia del cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, se proporcionan métodos para diagnosticar el cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, el método comprende obtener una muestra de un sujeto y proporcionar la muestra a un laboratorio para la detección de niveles de ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10 en la muestra. En algunas realizaciones, el método comprende además recibir una comunicación del laboratorio que indica el nivel de ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A en la muestra. El cáncer de vejiga puede estar presente si el nivel de cualquiera de los cuatro ARNm es mayor que el nivel normal o de control del ARNm. Un "laboratorio", como se usa en este documento, es cualquier instalación que detecta los niveles de ARN diana en una muestra por cualquier método, incluidos los métodos descritos en este documento, y que comunica el nivel a un médico. El laboratorio puede estar bajo el control de un médico. El laboratorio no puede estar bajo el control del médico.

[0088] Cuando un laboratorio comunica el nivel de un ARN diana a un médico el laboratorio puede comunicar un valor numérico que representa el nivel del ARN en la muestra, con o sin proporcionar un valor numérico para un nivel normal. El laboratorio puede comunicar el nivel del ARN proporcionando un valor cualitativo, como "alto", "bajo", "elevado", "disminuido", "positivo" (como "AR positivo" o "AR y CRH positivo"), etc. El laboratorio puede comunicar un diagnóstico sugerido, como "cáncer de vejiga positivo" o "positivo para el cáncer" y similares; o simplemente "cáncer positivo" o "cáncer negativo".

[0089] Como se usa en el presente documento, cuando un método se refiere a la detección de cáncer de vejiga, determinar la presencia de cáncer de vejiga, el seguimiento para el cáncer de vejiga, y/o el diagnóstico de cáncer de vejiga, el método incluye actividades en las que las etapas del procedimiento se llevan a cabo, pero el resultado es negativo por la presencia de cáncer de vejiga. Es decir, detectar, determinar, monitorear y diagnósticar el cáncer de vejiga incluyen casos de llevar a cabo los métodos que dan resultados positivos o negativos.

[0090] En algunas realizaciones, más de un ARN se detecta simultáneamente en una sola reacción. En algunas realizaciones, el ARNm de AR y al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A se detectan simultáneamente en una sola reacción. En algunas realizaciones, el ARNm de UPK1B y al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A se detectan simultáneamente en una sola reacción. En algunas realizaciones, el ARNm de AR y UPK1B y al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A se detectan simultáneamente en una sola reacción. En algunas realizaciones, al menos un control endógeno y/o al menos un control exógeno se detectan simultáneamente con los marcadores de cáncer de vejiga en una sola reacción.

4.2.2. Controles ejemplares

[0091] En algunas realizaciones, un nivel normal (un "control") de un ARN diana, tal como AR y/o ARNm UPK1B, y opcionalmente, por lo menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, y PIK3A, se puede determinar como un nivel o rango promedio que es característico de las células uroteliales normales u otro material de referencia, contra el cual se puede comparar el nivel medido en la muestra. El promedio o rango determinado de un ARN diana en sujetos normales puede usarse como punto de referencia para detectar niveles superiores al normal del ARN diana que son indicativos de cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, los niveles

normales de un ARN diana se pueden determinar utilizando muestras individuales o combinadas que contienen ARN de uno o más individuos, como a partir de células uroteliales normales aisladas de la orina de individuos sanos.

[0092] En algunas realizaciones, la determinación de un nivel normal de un ARN diana comprende detectar un complejo que comprende un polinucleótido para la detección hibridado a un ácido nucleico seleccionado de un ARN diana, un amplicón de ADN del ARN diana, y un complemento del ARN diana. Es decir, en algunas realizaciones, un nivel normal puede determinarse detectando un amplificador de ADN del ARN diana, o un complemento del ARN diana en lugar del propio ARN diana. En algunas realizaciones, un nivel normal de tal complejo se determina y se usa como control. El nivel normal del complejo, en algunas realizaciones, se correlaciona con el nivel normal del ARN diana. Por lo tanto, cuando se discute un nivel normal de un objetivo en el presente documento, ese nivel puede, en algunas realizaciones, determinarse detectando tal complejo.

[0093] En algunas realizaciones, un nivel normal de un ARN diana es, o ha sido, determinado por el mismo método que el nivel del ARN diana de una muestra de paciente. En algunas de tales realizaciones, el método es TA-PCR (tal como TA-PCR en tiempo real, TA-PCR cuantitativa, etc.).

[0094] En algunas realizaciones, un control comprende ARN de las células de un solo individuo, por ejemplo, a partir de células uroteliales normales aislados de la orina de un individuo sano. En algunas realizaciones, un control comprende ARN de sangre, tal como sangre entera o suero, de un solo individuo. En algunas realizaciones, un control comprende ARN de un conjunto de células de múltiples individuos. En algunas realizaciones, un control comprende ARN de un conjunto de orina de múltiples individuos. En algunas realizaciones, un control comprende ARN humano disponible comercialmente (véase, por ejemplo, Ambion). En algunas realizaciones, un nivel normal o un rango normal ya se ha predeterminado antes de ensayar una muestra para un nivel elevado.

[0095] En algunas realizaciones, el nivel normal de un ARN diana puede determinarse a partir de una o más líneas celulares continuas, típicamente líneas celulares demostradas previamente para tener niveles de ARN que se aproximan a los niveles en las células uroteliales normales.

[0096] En algunas realizaciones, la cuantificación de los niveles de ARN diana requiere que se hagan deducciones sobre el ARN total por célula y el grado de pérdida de la muestra durante la preparación de la muestra. Para corregir las diferencias entre diferentes muestras o entre muestras que se preparan en diferentes condiciones, las cantidades de ARN diana en algunas realizaciones se normalizan a los niveles de al menos un control endógeno y/o al menos un control exógeno.

[0097] En algunas realizaciones, un ARN de control es un ARN de control endógeno. Un ARN de control endógeno puede ser cualquier ARN adecuado para el propósito, por ejemplo, los ARN que están presentes en niveles aproximadamente constantes de célula a célula y en células uroteliales de pacientes con cáncer de vejiga y con cáncer no vesical. Los ARN de control endógeno ejemplares no limitativos incluyen ABL, GUSB, GAPDH, TUBB y UPK1a. En algunas realizaciones, un control endógeno se usa para la normalización. En algunas realizaciones, se usa más de un control endógeno para la normalización. En algunas realizaciones, un control endógeno también puede indicar niveles elevados de células uroteliales en una muestra, lo que puede ser un indicador de cáncer de vejiga. Por lo tanto, en algunas realizaciones, un control endógeno puede no solo indicar la suficiencia de la muestra, sino que también puede indicar un número elevado de células en una muestra de orina, que en sí misma es un indicador de cáncer de vejiga.

[0098] En algunas realizaciones, un ARN de control es un ARN de control exógeno. En algunas de tales realizaciones, el ARN de control exógeno es un Armored RNA®, que está protegido por un revestimiento de bacteriófagos. Se puede usar un ARN de control exógeno, en algunas realizaciones, para determinar si la reacción del ensayo de detección ha fallado y, por lo tanto, los resultados no son significativos. Por ejemplo, si un ARN de control exógeno no se amplifica en la reacción de ensayo, es probable que un resultado negativo para los ARN diana no sea significativo porque los niveles reflejan la falla de la reacción en lugar de que los niveles de ARN diana sean bajos. La falla de la reacción puede ocurrir por varios motivos, entre los que se incluyen, entre otros, la presencia de un inhibidor de la reacción en la muestra (una "muestra inhibitoria"), reactivos comprometidos, la presencia de una RNAsa, etc. Un control de RNA exógeno se puede agregar en cualquier etapa de la recolección y análisis de la muestra. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el ARN de control exógeno se agrega a la muestra en el momento en que se agrega el conservante, se agrega a la muestra cuando es recibido por el laboratorio de diagnóstico, se agrega a la muestra inmediatamente antes del análisis o se agrega a la muestra durante el análisis (como ejemplo no limitativo, durante o después de la lisis de las células uroteliales pero antes de la adición de los reactivos de amplificación).

[0099] En algunas realizaciones, el nivel de un ARN diana, tal como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, o ARNm PIK3A, se compara con un nivel de referencia, por ejemplo, de un confirmado cáncer de vejiga. En algunas de estas realizaciones, un nivel similar de un ARN diana en relación con la muestra de referencia indica cáncer de vejiga.

[0100] En algunas realizaciones, un nivel de un ARN diana, tal como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, o ARNm PIK3A, que es al menos aproximadamente 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90% más que un nivel normal del respectivo ARN diana indica la presencia de cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, un nivel de un ARN diana, como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A, que es al menos aproximadamente el doble, al menos aproximadamente el triple al menos aproximadamente 4 veces, al menos aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 6 veces, al menos aproximadamente 7 veces, al menos aproximadamente 8 veces, al menos aproximadamente 9 veces, o al menos aproximadamente 10 veces mayor que Un nivel normal del respectivo ARN diana indica la presencia de cáncer de vejiga.

[0101] En algunas realizaciones, un nivel de control de un ARN diana, como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A, se determina simultáneamente, como en el mismo ensayo o lote de ensayos, como el nivel del ARN diana en una muestra. En algunas realizaciones, un nivel de control de un ARN diana no se determina simultáneamente como el nivel del ARN diana en una muestra. En algunas de tales realizaciones, el nivel de control se ha determinado previamente.

[0102] En algunas realizaciones, el nivel de un control endógeno y/o un control exógeno se determina de manera constante, como en el mismo ensayo o lote de ensayos, como el nivel del ARN diana en una muestra. En algunas realizaciones, un ensayo comprende reactivos para determinar los niveles de ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, y un control endógeno simultáneamente en la misma reacción de ensayo. En algunas realizaciones, un ensayo comprende reactivos para determinar los niveles de ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, y un control exógeno simultáneamente en la misma reacción de ensayo. En algunas realizaciones, un ensayo comprende reactivos para determinar los niveles de ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, un control endógeno y un control exógeno simultáneamente en la misma reacción de ensayo. En algunas de tales realizaciones, por ejemplo, una reacción de ensayo comprende conjuntos de cebadores para amplificar AR y/o UPK1B, y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A un conjunto de cebadores para la amplificación de un control endógeno y/o un conjunto de cebadores para amplificar un control exógeno, y sondas marcadas detectables de manera detectable para detectar los productos de amplificación (como, por ejemplo, sondas TaqMan® con colorantes detectables de manera diferente para cada amplicón diferente a detectar).

[0103] En algunas realizaciones, el nivel de un ARN diana no está en comparación con un nivel de control, por ejemplo, cuando se sabe que el ARN diana está presente en niveles muy bajos, o nada en absoluto, en células normales. En tales realizaciones, la detección de un alto nivel del ARN diana en una muestra es indicativo de cáncer de vejiga.

4.2.3. Preparación ejemplar de la muestra.

4.2.3.1. Conservantes ejemplares de orina.

[0104] En algunas realizaciones, se añade un conservante para la muestra de orina. En algunas realizaciones, el conservante se agrega dentro de una hora, dos horas, tres horas o seis horas del momento en que se recogió la muestra de orina (p. ej., se anuló). En algunas realizaciones, se agrega un conservante a la muestra de orina dentro de una hora, dos horas, tres horas o seis horas antes de que la muestra se analice mediante los métodos descritos en este documento.

[0105] En algunas realizaciones, un conservante causa daño, como lisis, de glóbulos rojos y/o glóbulos blancos, pero no daña las células uroteliales. Los glóbulos rojos y/o glóbulos blancos pueden estar presentes en la orina como resultado de un tumor y/o infección. En algunas de tales realizaciones, la adición del conservante permite un enriquecimiento mejorado de las células uroteliales, por ejemplo, mediante filtración. En algunas realizaciones, un conservante disminuye el pH de la muestra de orina y mejora la solubilidad de las sales de orina. En algunas de tales realizaciones, el conservante facilita el paso de las sales a través de un filtro en una etapa de filtración. Un pH deseable de la orina conservada para pasar a través de un filtro es entre aproximadamente 2,5 y 4. En algunas realizaciones, un pH deseable de la orina conservada está entre aproximadamente 2,7 y 3,7. En algunas realizaciones, un pH deseable de orina conservada está entre aproximadamente 3 y 3,5. En algunas realizaciones, un pH deseable de orina conservada es aproximadamente 3,2.

[0106] En algunas realizaciones, se agrega un conservante de tal manera que la muestra de orina/conservante comprende clorhidrato de guanidina 0,875M a 2,625M, 0,25% a 0,75% de N-acetilo-L-cisteína, 6,25 a 18,75 mM de citrato de sodio y 0,625% de 1,875% de Tween-20, y tiene un pH de 3 a 3,5. En algunas realizaciones, se agrega un conservante de manera que la muestra de orina/conservante comprende aproximadamente 1,75 M de clorhidrato de guanidina, aproximadamente 0,5% de N-acetilo-L-cisteína, aproximadamente 12,5 mM de citrato de sodio, y aproximadamente el 1,25% de Tween-20, y tiene un pH de aproximadamente 3,2.

[0107] Un conservante comercial ejemplar no limitante es PreservCyt (Hologic, Bedford, MA).

4.2.3.2. Enriquecimiento de células ejemplar

[0108] En algunas realizaciones, las células uroteliales se enriquecen mediante centrifugación. En algunas de tales realizaciones, el sedimento celular se resuspende en el sobrenadante y/o un conservante. La resuspensión del sedimento celular se puede usar para ajustar la concentración de células en solución. El sedimento celular resuspendido se puede usar (p. ej., con lisis) en los métodos descritos en el presente documento, o se puede someter a una etapa de enriquecimiento adicional, como la filtración.

[0109] En algunas realizaciones, las células uroteliales se enriquecen por filtración. Los tamaños de poros de filtro ejemplares no limitativos que pueden ser adecuados para capturar células uroteliales incluyen 0,8 µM, 2 µM, 8 µM, y 10 µM. En algunas realizaciones, se selecciona un tamaño de poro de filtro que permite el paso o los glóbulos rojos y/o los glóbulos blancos, mientras que retiene la mayoría de las células uroteliales. En algunas realizaciones, un filtro está ubicado dentro de un cartucho GeneXpert diseñado para llevar a cabo un ensayo de diagnóstico de cáncer de vejiga descrito aquí.

4.2.3.3. Ejemplo de preparación de ARNm

[0110] ARN diana se puede preparar por cualquier método apropiado. El ARN total se puede aislar por cualquier método, incluidos, entre otros, los protocolos establecidos en Wilkinson, M. (1988) Nucl. Acidos Res. 16 (22): 10,933; y Wilkinson, M. (1988) Nucl. Acidos Res. 16 (22): 10934, o utilizando kits o reactivos disponibles en el mercado, como el reactivo TRIzol® (Invitrogen), el kit de extracción de ARN total (iNtRON Biotechnology), el kit de purificación de ARN total (Norgen Biotek Corp.), RNAqueous™ (Ambion), MagMAX™ (Ambion), RecoverAll™ (Ambion), RNeasy (Qiagen), etc.

[0111] En algunas realizaciones, los niveles de ARN se miden en una muestra en la que el ARN primero no se ha purificado a partir de las células. En algunas de tales realizaciones, las células se someten a una etapa de lisis para liberar el ARN. Los métodos de lisis ejemplares no limitativos incluyen la sonicación (p. ej., durante 2-15 segundos, 8-18 µM a 36 kHz); lisis química, por ejemplo, usando un detergente; y diversos reactivos de lisis disponibles comercialmente (como el tampón de lisis Rneasy, Qiagen). En algunas realizaciones, los niveles de ARN se miden en una muestra en la que se ha aislado ARN.

[0112] En algunas realizaciones, el ARN se modifica antes de un ARN diana, tal como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, o ARNm PIK3A, se detecta. En algunas realizaciones, todo el ARN en la muestra se modifica. En algunas realizaciones, solo los ARN diana particulares a analizar se modifican, por ejemplo, de una manera específica de secuencia. En algunas realizaciones, el ARN se transcribe inversamente. En algunas de estas realizaciones, el ARN se transcribe de forma inversa utilizando la transcriptasa inversa MMLV. Las condiciones ejemplares no limitantes para la transcripción inversa de ARN usando la transcriptasa inversa MMLV incluyen la incubación de 5 a 20 minutos a 40°C a 50°C.

[0113] Cuando un ARN diana se transcribe a la inversa, se forma un complemento de ADN del ARN diana. En algunas realizaciones, el complemento de un ARN diana se detecta en lugar de un ARN diana en sí mismo (o una copia de ADN del propio ARN). Por lo tanto, cuando los métodos descritos en este documento indican que se detecta un ARN diana, o se determina el nivel de un ARN diana, dicha detección o determinación se puede llevar a cabo en un complemento de un ARN diana en lugar de, o además de, el ARN diana en sí mismo. En algunas realizaciones, cuando se detecta el complemento de un ARN diana en lugar del ARN diana, se usa un polinucleótido para la detección que es complementario al complemento del ARN diana. En algunas de estas realizaciones, un polinucleótido para detección comprende al menos una porción que es idéntica en secuencia al ARN diana, aunque puede contener timidina en lugar de uridina y/o comprender otros nucleótidos modificados.

4.2.4. Métodos analíticos ejemplares

[0114] Como se describió anteriormente, los métodos se presentan para detectar cáncer de vejiga. Los métodos comprenden la detección de un panel de marcadores de cáncer de vejiga que comprende AR y/o UPK1B, y opcionalmente, al menos un marcador seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A. En algunas realizaciones, el método comprende además detectar al menos un control endógeno y/o al menos un control exógeno. En algunas realizaciones, la detección de un nivel elevado de al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, o seis marcadores de cáncer de vejiga indica la presencia de cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, el cáncer de vejiga es un cáncer de vejiga de bajo grado. En algunas realizaciones, el cáncer de vejiga es un cáncer de vejiga de alto grado. En algunas realizaciones, el cáncer de vejiga es una recurrencia del cáncer de vejiga en un paciente con antecedentes de cáncer de vejiga.

[0115] Cualquier procedimiento analítico capaz de permitir la detección específica y cuantificable (o semi-cuantificable) de un ARN diana, como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, se puede

usar en los métodos aquí presentados. Dichos procedimientos analíticos incluyen, pero no se limitan a, métodos de TA-PCR y otros métodos conocidos por los expertos en la técnica.

[0116] En algunas realizaciones, el método de detección de un ARN diana, tal como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, o ARNm PIK3A, comprende la amplificación de ADNc complementario al ARN diana. Tal ejemplificación se puede lograr por cualquier método. Los métodos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, PCR en tiempo real, PCR de punto final y amplificación usando polimerasa T7 de un promotor T7 recocido a un ADNc, tal como lo proporciona el kit SenseAmp Plus™ disponible en Implen, Alemania.

[0117] Cuando se amplifica un ARN diana o un ADNc complementario a un ARN diana, en algunas realizaciones, se forma un amplicón de ADN del ARN diana. Un amplicón de ADN puede ser monocatenario o bicatenario. En algunas realizaciones, cuando un amplicón de ADN es monocatenario, la secuencia del amplicón de ADN está relacionada con el ARN diana en sentido sentido o antisentido. En algunas realizaciones, se detecta un amplicón de ADN de un ARN diana en lugar del propio ARN diana. Por lo tanto, cuando los métodos descritos en este documento indican que se detecta un ARN diana, o se determina el nivel de un ARN diana, dicha detección o determinación puede llevarse a cabo en un amplicón de ADN del ARN diana en lugar de, o además de, el ARN diana en sí mismo. En algunas realizaciones, cuando se detecta el amplicón de ADN del ARN diana en lugar del ARN diana, se usa un polinucleótido para la detección que es complementario al complemento del ARN diana. En algunas realizaciones, cuando se detecta el amplicón de ADN del ARN diana en lugar del ARN diana, se usa un polinucleótido para la detección que es complementario al ARN diana. Además, en algunas realizaciones, se pueden usar múltiples polinucleótidos para la detección, y algunos polinucleótidos pueden ser complementarios al ARN diana y algunos polinucleótidos pueden ser complementarios al complemento del ARN diana.

[0118] En algunas realizaciones, el método de detección de uno o más ARN diana, tales como el ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A, comprende TA-PCR, como se describe a continuación. En algunas realizaciones, la detección de uno o más ARN diana comprende la monitorización en tiempo real de una reacción de TA-PCR, que se puede lograr mediante cualquier método. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, el uso de TaqMan®, Baliza Molecular o sondas de Scorpion (es decir, sondas de transferencia de energía (ET), como las sondas de FRET) y el uso de tintes intercalantes, como SYBR verde, EvaGreen, tiazol naranja, YO-PRO, TO-PRO, etc.

[0119] Las condiciones ejemplares no limitantes para amplificar el ADNc que se ha transcrito de forma inversa a partir de los ARN diana son las siguientes. Un ciclo ejemplar comprende una desnaturalización inicial de 90°C a 100°C durante 2 a 5 minutos, seguido de un ciclo que comprende una desnaturalización de 90°C a 100°C durante 1 a 10 segundos, recocido a una temperatura de 60°C a 70°C durante 10 a 30 segundos, y extensión entre 60°C y 75°C durante 10 a 40 segundos. En algunas realizaciones, para el primer ciclo que sigue a la etapa de desnaturalización inicial, se omite la etapa de desnaturalización del ciclo. En algunas realizaciones, la polimerasa Taq se usa para la amplificación. En algunas realizaciones, el ciclo se lleva a cabo al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 30 veces, al menos 35 veces o al menos 45 veces. En algunas de estas realizaciones, Taq se utiliza con una función de arranque en caliente. En algunas realizaciones, la reacción de amplificación se produce en un cartucho GeneXpert, y la amplificación de los cuatro ARN diana marcadores de cáncer de vejiga se produce en la misma reacción. En algunas realizaciones, la detección de ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente, al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A se produce en menos de 3 horas, menos de 2,5 horas o menos de 2 horas, desde la desnaturalización inicial hasta la última extensión.

[0120] En algunas realizaciones, la detección de un ARN diana comprende la formación de un complejo que comprende un polinucleótido que es complementario a un ARN diana o a un complemento de la misma, y un ácido nucleico seleccionado de entre el ARN diana, un amplicón de ADN del ARN diana, y un complemento del ARN diana. De este modo, en algunas realizaciones, el polinucleótido forma un complejo con un ARN diana. En algunas realizaciones, el polinucleótido forma un complejo con un complemento del ARN diana, tal como un ADNc que se ha transcrito de forma inversa a partir del ARN diana. En algunas realizaciones, el polinucleótido forma un complejo con un amplicón de ADN del ARN diana. Cuando un amplicón de ADN de doble cadena es parte de un complejo, como se usa en este documento, el complejo puede comprender una o ambas cadenas del amplicón de ADN. Por lo tanto, en algunas realizaciones, un complejo comprende solo una hebra del amplicón de ADN. En algunas realizaciones, un complejo es un triplex y comprende el polinucleótido y ambas cadenas del amplicón de ADN. En algunas realizaciones, el complejo se forma por hibridación entre el polinucleótido y el ARN diana, complemento del ARN diana, o amplicón de ADN del ARN diana. El polinucleótido, en algunas realizaciones, es un cebador o sonda.

[0121] En algunas realizaciones, un método comprende detectar el complejo. En algunas realizaciones, el complejo no tiene que estar asociado en el momento de la detección. Es decir, en algunas realizaciones, se forma un complejo, el complejo se disocia o destruye de alguna manera, y se detectan los componentes del complejo. Un ejemplo de dicho sistema es un ensayo TaqMan®. En algunas realizaciones, cuando el polinucleótido es un cebador, la detección del complejo puede comprender la amplificación del ARN diana, un complemento del ARN diana o un amplicón de ADN de un ARN diana.

[0122] En algunas realizaciones, el método analítico utilizado para detectar al menos un ARN diana en los métodos expuestos en el presente documento incluye TA-PCR cuantitativa en tiempo real. En algunas realizaciones, el método analítico utilizado para detectar al menos un ARN diana incluye el uso de una sonda TaqMan®. El ensayo utiliza transferencia de energía ("ET"), como la transferencia de energía de resonancia de fluorescencia ("FRET"), para detectar y cuantificar el producto de PCR sintetizado. Normalmente, la sonda TaqMan® comprende una molécula de tinte fluorescente acoplada al extremo 5' y una molécula de extinción acoplada al extremo 3', de modo que el tinte y el extintor están muy cerca, lo que permite que el extintor suprima la señal de fluorescencia del tinte a través de FRET. Cuando la polimerasa replica el molde de amplicón quimérico al que está unida la sonda TaqMan®, la 5'-nucleasa de la polimerasa corta la sonda, desacoplando el tinte y el extintor para que se detecte la señal del tinte (como la fluorescencia). La señal (como la fluorescencia) aumenta con cada ciclo de TA-PCR proporcionalmente a la cantidad de sonda que se escinde.

[0123] En algunas realizaciones, la cuantificación de los resultados de ensayos de TA-PCR en tiempo real se realiza mediante la construcción de una curva estándar a partir de un ácido nucleico de concentración conocida y, a continuación extrapolando información cuantitativa para ARN diana de concentración desconocida. En algunas realizaciones, el ácido nucleico usado para generar una curva estándar es un ARN (p. ej., un control endógeno o un control exógeno). En algunas realizaciones, el ácido nucleico usado para generar una curva estándar es un ADN plasmídico bicatenario purificado o un ADN monocatenario generado *in vitro*.

[0124] En algunas realizaciones, donde las eficiencias de amplificación de los ácidos nucleicos diana y la referencia endógena son aproximadamente iguales, la cuantificación se logra mediante el método C_t comparativo (umbral de ciclo, por ejemplo, el número de ciclos de PCR necesarios para que la señal de fluorescencia aumente por encima del fondo). Los valores de C_t son inversamente proporcionales a la cantidad de ácido nucleico diana en una muestra. En algunas realizaciones, los valores de C_t de un ARN diana se pueden comparar con un control o calibrador, como un ARN de control exógeno. En algunas realizaciones, los valores de C_t del control exógeno y el ARN diana se normalizan a un control endógeno apropiado. Los controles endógenos ejemplares no limitativos se discuten aquí.

[0125] En algunas realizaciones, un valor umbral C_t (o un "valor de corte Ct") para un ARN diana, por debajo del cual se indica el cáncer de vejiga, se ha determinado previamente. En tales realizaciones, una muestra de control no puede analizarse simultáneamente con la muestra de prueba. En algunas realizaciones, como se discutió en este documento, se determinó previamente un valor de umbral de ΔCt, por encima del cual se indica el cáncer de vejiga.

[0126] Además de los ensayos TaqMan®, otras químicas de TA-PCR en tiempo real útiles para detectar y cuantificar productos de PCR en los métodos presentados aquí incluyen, pero no se limitan a, balizas moleculares, sondas de Scorpion y colorantes intercalantes, tales como SYBR Green, EvaGreen, thiazole orange, YO-PRO, TO-PRO, etc., que se describen a continuación.

[0127] En diversas realizaciones, la detección de TA-PCR en tiempo real se utiliza para detectar, en una única reacción multiplex, cuatro marcadores de cáncer de vejiga del panel descritos en el presente documento, y opcionalmente, al menos un control endógeno y/o al menos un control exógeno. En diversas realizaciones, la detección de TA-PCR en tiempo real se utiliza para detectar, en una única reacción multiplexada, cinco marcadores de cáncer de vejiga del panel descrito aquí, y opcionalmente, al menos un control endógeno y/o al menos un control exógeno. En algunas realizaciones múltiplex, se usa una pluralidad de sondas, como las sondas TaqMan®, cada una específica para una diana de ARN diferente. En algunas realizaciones, cada sonda específica de ARN diana se puede distinguir espectralmente de las otras sondas utilizadas en la misma reacción múltiplex. Un sistema múltiplex de siete colores ejemplar no limitativo se describe, por ejemplo, en Lee et al., BioTechniques, 27: 342-349.

[0128] En algunas realizaciones, la cuantificación de productos de PCR TA de tiempo real se realiza usando un colorante que se une a los productos de doble cadena de ADN, tales como SYBR Green, EvaGreen, naranja de tiazol, YO-PRO, TO-PRO, etc. En algunas realizaciones, el ensayo es el ensayo QuantiTect SYBR Green PCR de Qiagen. En este ensayo, el ARN total se aísla primero de una muestra. Posteriormente, el ARN total es poli-adenilado en el extremo 3' y se transcribe a la inversa utilizando un cebador universal con poli-dT en el extremo 5'. En algunas realizaciones, una única reacción de transcripción inversa es suficiente para analizar múltiples ARN diana. La TA-PCR en tiempo real se lleva a cabo utilizando cebadores específicos de ARN diana y un cebador universal miScript, que comprende una secuencia poli-dT en el extremo 5'. El colorante SYBR Green se une no específicamente al ADN de doble cadena y, tras la excitación, emite luz. En algunas realizaciones, se pueden usar condiciones de tampón que promueven el recocido altamente específico de los cebadores a la plantilla de PCR (p. ej., disponible en el kit de PCR QuantiTect SYBR Green de Qiagen) para evitar la formación de dúplex de ADN no específicos y dímeros de cebador que se unen a SYBR Green y afectan negativamente a la cuantificación. Por lo tanto, a medida que se acumula el producto de PCR, la señal de SYBR Green aumenta, lo que permite la cuantificación de productos específicos.

[0129] La TA-PCR en tiempo real se realiza utilizando cualquier instrumentación de TA-PCR disponible en la técnica. Por lo general, la instrumentación utilizada en la recolección y análisis de datos TA-PCR en tiempo real comprende un termociclador, la óptica para la excitación de fluorescencia y la recolección de emisiones, y

opcionalmente una computadora y un software de adquisición y análisis de datos.

[0130] En algunas realizaciones, el método analítico utilizado en los métodos descritos en el presente documento es un ensayo de DASL® (recocido, selección, extensión, y ligadura mediados por ADNc). En algunas realizaciones, el ARN total se aísla de una muestra para ser analizada por cualquier método. El ARN total puede ser poliadenilado (> 18 A se agregan residuos a los extremos 3' de los ARN en la mezcla de reacción). El ARN se transcribe a la inversa utilizando un cebador de ADN marcado con biotina que comprende desde el extremo 5' hasta el extremo 3', una secuencia que incluye un sitio de cebador de PCR y una región poli-dT que se une a la cola poli-dA del ARN de muestra. Los transcritos de ADNc biotinilados resultantes luego se hibridan a un soporte sólido a través de una interacción biotina-estreptavidina y se ponen en contacto con uno o más polinucleótidos específicos de ARN diana. Los polinucleótidos específicos de ARN diana comprenden, desde el extremo 5' hasta el extremo 3', una región que comprende un sitio de cebador de PCR, región que comprende una secuencia de dirección y una secuencia específica de ARN diana.

[0131] En algunas realizaciones de DASL®, la secuencia de ARN diana específico comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19 nucleótidos contiguos que tienen una secuencia que es igual o complementaria a, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19 nucleótidos contiguos de un ARN diana marcador de cáncer de vejiga, un ARN de control endógeno, o un ARN de control exógeno.

[0132] Después de la hibridación, el polinucleótido específico del ARN diana se extiende, y los productos extendidos luego se eluyen de la matriz de ADNc inmovilizada. Una segunda reacción de PCR que utiliza un cebador universal marcado con fluorescencia genera un ADN marcado con fluorescencia que comprende la secuencia específica de ARN diana. Los productos de PCR marcados se hibridan luego con una matriz de microperlas para la detección y cuantificación.

[0133] En algunas realizaciones, el método analítico utilizado para detectar y cuantificar los niveles de la al menos una ARN diana en los procedimientos descritos en el presente documento es un ensayo de citometría de flujo basado en perlas. *Ver* Lu J. et al. (2005) Nature 435: 834-838. Un ejemplo de un ensayo de citometría de flujo basado en perlas es la tecnología xMAP® de Luminex, Inc. (Consulte http: //www.luminexcorp.com/technology/index.html). En algunas realizaciones, el ARN total se aísla de una muestra y luego se marca con biotina. El ARN marcado se hibrida luego a las sondas de captura específicas de ARN (p. ej., los productos FlexmiR™ vendidos por Luminex, Inc. en www.luminexcorp.com/products/assays/index.html) que se unen covalentemente a microperlas, cada una de las cuales es marcada con 2 tintes que tienen diferentes intensidades de fluorescencia. Una molécula reportera unida a la estreptavidina (p. ej., la estreptavidina-ficoeritrina, también conocida como "SAPE") se une al ARN diana capturado y la señal única de cada perla se lee mediante citometría de flujo. En algunas realizaciones, la muestra de ARN se poliadenila primero y luego se marca con un dendrímero 3DNA™ biotinilado (es decir, un ADN de múltiples brazos con numerosas moléculas de biotina unidas a él), utilizando un polinucleótido puente que es complementario al extremo 3' de la cola poli-dA del ARN de muestra y al extremo 5' del polinucleótido unido al dendrímero biotinilado. La molécula informadora unida a estreptavidina se une luego al dendrímero biotinilado antes del análisis por citometría de flujo. En algunas realizaciones, el ARN marcado con biotina se expone primero a SAPE, y el complejo de ARN/SAPE se expone posteriormente a un anticuerpo anti-ficoeritrina unido a un dendrímero de ADN, que puede unirse a tantas como 900 moléculas de biotina. Esto permite que múltiples moléculas de SAPE se unan al dendrímero biotinilado a través de la interacción biotina-estreptavidina, lo que aumenta la señal del ensayo.

[0134] En algunas realizaciones, el método analítico usado para detectar y cuantificar los niveles de al menos un ARN diana en los métodos descritos aquí es por electroforesis en gel y detección con sondas marcadas (p. ej., sondas marcadas con una etiqueta radioactiva o quimioluminiscente), como por Northern blotting. En algunas realizaciones, el ARN total se aísla de la muestra, y luego se separa por tamaño mediante electroforesis en gel de poliacrilamida SDS. El ARN separado se transfiere luego a una membrana y se hibrida con sondas complementarias radiomarcadas. En algunas realizaciones, las sondas ejemplares contienen uno o más análogos de nucleótidos que mejoran la afinidad como se analiza a continuación, tales como análogos de ácido nucleico bloqueado ("LNA"), que contienen un resto de azúcar bicíclico en lugar de azúcares de desoxirribosa o ribosa. *Ver, por ejemplo,* Várallyay, E. et al. (2008) Nature Protocols 3 (2): 190-196.

[0135] En algunas realizaciones, la detección y cuantificación de uno o más ARN diana se logra utilizando micro dispositivos fluídicos y la detección de una sola molécula. En algunas realizaciones, los ARN diana en una muestra de ARN total aislado se hibridan con dos sondas, una que es complementaria a los ácidos nucleicos en el extremo 5' del ARN diana y la segunda que es complementaria al extremo 3' del ARN diana. Cada sonda comprende, en algunas realizaciones, uno o más análogos de nucleótidos que aumentan la afinidad, tales como análogos de nucleótidos de LNA y cada uno está marcado con un colorante fluorescente diferente que tiene espectros de emisión de fluorescencia diferentes (es decir, colorantes detectables de manera diferente). A continuación, la muestra fluye a través de un capilar microfluídico en el que múltiples láseres excitan las sondas fluorescentes, de modo que una

única ráfaga de fotones coincidentes identifica un ARN diana particular, y el número de ráfagas de fotones coincidentes únicas particulares se puede contar para cuantificar la cantidad del ARN diana en la muestra. En algunas realizaciones alternativas, una sonda específica de ARN diana puede marcarse con 3 o más etiquetas distintas seleccionadas de, por ejemplo, fluoróforos, etiquetas de espín de electrones, etc., y luego hibridar con una muestra de ARN.

[0136] Opcionalmente, el ARN de la muestra se modifica antes de la hibridación. El dúplex de sonda/ARN diana se pasa luego a través de los canales en un dispositivo microfluídico y comprende detectores que registran la señal única de las 3 etiquetas. De esta manera, las moléculas individuales se detectan por su señal única y se cuentan. Véanse las patentes de EE.UU. N^{os} 7.402.422 y 7.351.538 de Fuchs et al., U.S. Genomics, Inc.

4.2.5. Ejemplar de automatización y sistemas

[0137] En algunas realizaciones, la expresión génica se detecta utilizando una plataforma automatizada de manejo y/o análisis de muestras. En algunas realizaciones, se utilizan plataformas de análisis automatizadas disponibles comercialmente. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se utiliza el sistema GeneXpert® (Cepheid, Sunnyvale, CA).

[0138] La presente invención se ilustra para su uso con el sistema GeneXpert. Los métodos de análisis y preparación de muestras ejemplares se describen a continuación. Sin embargo, la presente invención no se limita a un método de detección o plataforma de análisis particular. Un experto en la técnica reconoce que puede utilizarse cualquier número de plataformas y métodos.

[0139] El GeneXpert® utiliza un cartucho de un solo uso, autocontenido. La extracción, amplificación y detección de muestras pueden llevarse a cabo dentro de este "laboratorio en un cartucho" autocontenido. (Véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses 5.958.349, 6.403.037, 6.440.725, 6.783.736, 6.818.185).

[0140] Los componentes del cartucho incluyen, pero no se limitan a, cámaras de procesamiento que contienen reactivos, filtros y tecnologías de captura útiles para extraer, purificar y amplificar ácidos nucleicos diana. Una válvula permite la transferencia de fluidos de cámara a cámara y contiene componentes de lisis y filtración de ácidos nucleicos. Una ventana óptica permite la detección óptica en tiempo real. Un tubo de reacción permite un ciclo térmico muy rápido.

[0141] En algunas realizaciones, el sistema GenXpert® incluye una pluralidad de módulos para la escalabilidad. Cada módulo incluye una pluralidad de cartuchos, junto con componentes de análisis y manejo de muestras.

[0142] En algunas realizaciones, el método de preparación de muestras GeneXpert® utiliza la filtración para capturar y concentrar las células de la orina. En algunas realizaciones, se utiliza un tamaño de poro de filtro de 0,8 µM. Este tamaño facilita la captura de todas las células en la orina. En otras realizaciones, se utilizan tamaños de poros de 0,5 a 10 µM, 0,5 a 5 µM, 0,8 a 10 µM, 0,8 a 5 µM, 0,8 a 2 µM, 2 a 5 µM, 2 a 10 µM, 2 a 8 µM, 5 a 8 µM, o 5 a 10 µM. Ciertos filtros (como 5 µM, 8 µM y 10 µM) permiten la eliminación de la mayoría de los glóbulos rojos y blancos de la muestra mientras que capturan las células uroteliales más grandes, que son las células diana del ensayo. En algunas realizaciones, este método de preparación de muestras mejora la especificidad del ensayo al eliminar los glóbulos blancos que pueden estar presentes debido a una infección o inflamación. En algunos casos, los métodos de preparación de muestras, como la centrifugación de toda la orina seguida por el aislamiento del ARN del sedimento de orina, no permiten la eliminación de glóbulos blancos. En algunas realizaciones, la eficiencia de la captura de células por filtración es mayor en comparación con la centrifugación, y puede proporcionar resultados más consistentes.

[0143] Después de que las células de la orina se capturan en el filtro, en algunas realizaciones, se lavan y luego se lisan con sonicación (2-15 segundos, 8-16 µM a 36 kHz). El lisado celular se recoge y se utiliza para reconstituir los reactivos de TA-PCR, que están presentes en el cartucho como partículas liofilizadas.

[0144] En algunas realizaciones, TA-PCR se utiliza para amplificar y analizar la presencia o los niveles de expresión de los marcadores de cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, la transcripción inversa utiliza la enzima MMLV TA y una incubación de 5 a 20 minutos a 40°C a 50°C. En algunas realizaciones, la PCR usa polimerasa Taq con función de arranque en caliente, como AptaTaq (Roche). En algunas realizaciones, la desnaturalización inicial es de 90°C a 100°C durante 2 a 5 minutos; la temperatura de desnaturalización del ciclo es de 90°C a 100°C durante 1 a 10 segundos; la temperatura del recocido de ciclo es de 60°C a 70°C durante 10 a 30 segundos; y la temperatura de extensión del ciclo es de 60°C a 75°C durante 10 a 40 segundos; y se realizan hasta 50 ciclos.

[0145] La presente invención no se limita a secuencias de cebador particular y/o sonda. Ejemplos de cebadores de amplificación y sondas de detección se describen en los Ejemplos.

[0146] En algunas realizaciones, una centrifugación fuera de línea se utiliza para mejorar los resultados del ensayo con muestras con bajo contenido celular. La muestra, con o sin el conservante agregado, se centrifuga y el

sobrenadante se elimina. El sedimento se resuspende luego en un volumen menor de sobrenadante o conservante. El sedimento resuspendido se agrega luego a un cartucho GeneXpert® como se describió anteriormente.

4.2.6. Análisis ejemplar de datos

[0147] En algunas realizaciones, el nivel de un ARN diana, como el ARNm de AR y/o UPK1B, y opcionalmente, al menos uno de los ARNm de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, se normaliza a un ARN de control endógeno. La normalización puede comprender, por ejemplo, la determinación de la diferencia del nivel del ARN diana con el nivel del ARN de control endógeno. En algunas de tales realizaciones, el nivel de los ARN se representa por un valor de C_t obtenido de la PCR cuantitativa. En algunas de estas realizaciones, la diferencia se expresa como ΔCt. ΔCt se puede calcular como Ct[ARN diana]-Ct[control endógeno] o Ct[control endógeno]-Ct[ARN diana]. En ciertas realizaciones, ΔCt = Ct[control endógeno]- Ct[marcador]. En algunas realizaciones, se establece un valor umbral ΔCt, por encima o por debajo del cual está indicado el cáncer de vejiga. En algunas de tales realizaciones, el umbral de ΔCt se establece como el valor de ΔCt por debajo del cual el 95% de las muestras normales se caracterizan correctamente. En algunas de tales realizaciones, un valor de ΔCt que es más alto que el valor de umbral ΔCt es indicativo de cáncer de vejiga.

[0148] En algunas realizaciones, se utiliza el análisis discriminante lineal (ADL), por ejemplo, para combinar dos o más de los marcadores en una única puntuación combinada. En algunas de tales realizaciones, se utiliza un único valor de umbral para los marcadores incluidos en el ADL. En algunas realizaciones, el C_t o ΔCt de cada marcador está ponderado en la ecuación ADL. En algunas realizaciones, al menos dos marcadores tienen diferentes factores de ponderación en la ecuación. En algunas realizaciones, a cada marcador se le asigna un factor de ponderación diferente en la ecuación. En algunas realizaciones, los factores de ponderación se determinan de modo que la ecuación ADL dé como resultado una sensibilidad y/o especificidad seleccionadas, por ejemplo, a lo largo de una curva ROC, para un conjunto de datos de muestra. En algunas realizaciones, se usa una ecuación ADL estandarizada. En algunas de estas realizaciones, mediante el uso del análisis de discriminación lineal, las clasificaciones erróneas (como falsos negativos y falsos positivos) se reducen y/o minimizan. Una ecuación de ADL estandarizada no limitativa puede tener la siguiente forma: $ADL = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_3 + \beta_4x_4 + \beta_5x_5$, donde x_1 = (control endógeno C_t - p)/P, x_2 = (marcador 1 ΔCt - q)/Q, x_3 = (marcador 2 ΔCt - r)/R, x_4 = (marcador 3 ΔCt - s)/S, x_5 = (marcador 4 ΔCt - t)/T; en donde ΔCt = control endógeno C_t - marcador Ct; y en donde β_1, β_2, β_3, β_4 y β_1 son factores de ponderación; β_0 es el intercepto; p, q, r, s, y t son los valores medios de C_t o ΔCt para el control endógeno, marcador 1, marcador 2, marcador 3 y marcador 4, respectivamente, de un conjunto de datos de muestra; y P, Q, R, S y T son la desviación estándar de los valores C_t o ΔCt para el control endógeno, el marcador 1, el marcador 2, el marcador 3 y el marcador 4, respectivamente, del conjunto de datos de la muestra. En algunas realizaciones, β_2 da cuenta condicionalmente de β_1, etc., a través de la regresión. En algunas realizaciones, un corte de ADL se establece de tal manera que una muestra se considera positiva si el ADL es menor o igual que el corte. En algunas realizaciones, un corte de ADL se establece de tal manera que una muestra se considera positiva si el ADL es menor que el corte. En algunas realizaciones, un límite de ADL se establece de tal manera que una muestra se considera positiva si la ADL es mayor o igual que el corte. En algunas realizaciones, un corte de ADL se establece de tal manera que una muestra se considera positiva si el ADL es mayor que el corte.

[0149] Una ecuación de ADL ejemplar no limitante para una combinación de cuatro marcadores de KRT20, ANXA10, CRH e IGF2, es como sigue:

$$LDA = -2.94 + 1.60*x_1 - 1.05*x_2 - 0.38*x_3 - 0.71*x_4 - 1.74*x_5$$

en donde x_1 = (ABL Ct - 31,7)/2,6, x_2 = (ANXA10 ΔCt - (-7,8))/5,2, x_3 = (KRT20 ΔCt - (-3,2))/4,6, x_4 = (CRH ΔCt - (-9,4))/5,3, y x_5 = (IGF2 ΔCt - (-6,2))/6,3. Para la ecuación anterior, en algunas realizaciones, una muestra se clasifica como positiva si ADL ≤ -2, Con este corte, en algunas realizaciones, las especificidades correspondientes del 90-95% producen sensibilidades del 74%-85%.

[0150] Una ecuación ADL ejemplar no limitante para una combinación de cuatro marcador de UPK1B, ANXA10, CRH, y IGF2, es como sigue:

$$LDA = -2.39 + 6.79*x_1 - 3.31*x_2 - 1.87*x_3 - 3.90*x_4 - 4.65*x_5$$

en donde x_1 = (ABL Ct - 31,7)/2,6, x_2 = (ANXA10 ΔCt - (-9,14))/4,9, x_3 = (UPK1B ΔCt - (-10,1))/4,6, x_4 = (CRH ΔCt - (-10,1))/4,7, y x_5 = (IGF2 ΔCt - (-8,2))/6,0. Para la ecuación anterior, en algunas realizaciones, una muestra se clasifica como positiva si ADL ≤ +2. Con este límite, en algunas realizaciones, las especificidades correspondientes de 90-95% producen sensibilidades de hasta el 89%.

[0151] En algunas realizaciones, un programa de análisis basado en ordenador se utiliza para traducir los datos en

bruto generados por el ensayo de detección (*por ejemplo.*, El nivel de expresión de los marcadores de cáncer de vejiga descritos en este documento) en datos de valor predictivo para un clínico. El médico puede acceder a los datos predictivos utilizando cualquier medio adecuado. Por lo tanto, la presente invención beneficia aún más al clínico, que probablemente no esté capacitado en genética o biología molecular, y no necesita entender los datos en bruto. Los datos se presentan directamente al médico en su forma más útil. El clínico puede utilizar inmediatamente la información para optimizar el cuidado del sujeto.

[0152] Se puede usar cualquier método capaz de recibir, procesar y transmitir la información hacia y desde los laboratorios que llevan a cabo los ensayos, la información, el personal médico y los sujetos. Por ejemplo, una muestra (p. ej., una biopsia o una muestra de suero o de orina) puede obtenerse de un sujeto y enviarse a un servicio de perfiles (p. ej., un laboratorio clínico en un centro médico, un negocio de perfiles genómicos, etc.), ubicado en cualquier parte del mundo (p. ej., en un país diferente al país donde reside el sujeto o donde se usa la información en última instancia) para generar datos sin procesar. Cuando la muestra comprende un tejido u otra muestra biológica, el sujeto puede visitar un centro médico para obtener la muestra y enviarla al centro de perfilado, o los sujetos pueden recolectar la muestra ellos mismos (p. ej., una muestra de orina) y enviarla directamente a un centro de perfilado. Cuando la muestra comprende información biológica previamente determinada, la información puede ser enviada directamente al servicio de perfiles por el sujeto (p. ej., una tarjeta de información que contiene la información puede ser escaneada por una computadora y los datos transmitidos a una computadora del centro de perfiles utilizando sistemas de comunicación electrónica). Una vez recibida por el servicio de perfiles, la muestra se procesa y se produce un perfil (*es decir,* datos de expresión), específico para la información de diagnóstico o pronóstico deseada para el sujeto.

[0153] Los datos del perfil se preparan luego en un formato adecuado para la interpretación por un médico tratante. Por ejemplo, en lugar de proporcionar datos crudos de expresión, el formato preparado puede representar un diagnóstico o evaluación de riesgo (p. ej., el nivel de expresión de los marcadores de cáncer de vejiga descritos aquí o el diagnóstico de cáncer de vejiga) para el sujeto, junto con recomendaciones para opciones de tratamiento particulares. Los datos pueden ser mostrados al médico por cualquier método adecuado. Por ejemplo, el servicio de creación de perfiles puede generar un informe que se puede imprimir para el médico (p. ej., en el punto de atención) o mostrarse al médico en un monitor de computadora.

[0154] La información se puede analizar primero en el punto de atención o en una instalación regional. Luego, los datos sin procesar se envían a un centro de procesamiento central para un análisis adicional y/o para convertir los datos sin procesar en información útil para un médico o paciente. La instalación de procesamiento central proporciona la ventaja de la privacidad (todos los datos se almacenan en una instalación central con protocolos de seguridad uniformes), la velocidad y la uniformidad del análisis de los datos. La instalación de procesamiento central puede entonces controlar el destino de los datos tras el tratamiento del sujeto. Por ejemplo, al utilizar un sistema de comunicación electrónico, la instalación central puede proporcionar datos al clínico, al sujeto o a los investigadores.

[0155] El sujeto puede ser capaz de acceder directamente a los datos utilizando el sistema de comunicación electrónico. El sujeto puede elegir una intervención adicional o asesoramiento basado en los resultados. Los datos pueden ser utilizados para uso de investigación. Por ejemplo, los datos se pueden utilizar para optimizar aún más la inclusión o eliminación de marcadores como indicadores útiles de una condición o etapa particular de la enfermedad o como un diagnóstico complementario para determinar el curso de acción del tratamiento.

4.2.7. Ejemplares de polinucleótidos

[0156] En el presente documento se describen polinucleótidos. En el presente documento también se describen polinucleótidos sintéticos. Los polinucleótidos sintéticos, como se usan en este documento, se refieren a polinucleótidos que se han sintetizado *in vitro* químicamente o enzimáticamente. La síntesis química de polinucleótidos incluye, pero no se limita a, la síntesis que usa sintetizadores de polinucleótidos, como OligoPilot (GE Healthcare), ABI 3900 DNA Synthesizer (Applied Biosystems), y similares. La síntesis enzimática incluye, pero no se limita, a producir polinucleótidos mediante amplificación enzimática, por ejemplo, PCR. Un polinucleótido puede comprender uno o más análogos de nucleótidos (es decir, nucleótidos modificados) discutidos en este documento.

[0157] Un polinucleótido que se da a conocer que comprende una región que es idéntica, o complementaria a, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 26, al menos 27, al menos 28, al menos 29, o al menos 30 nucleótidos contiguos de una secuencia seleccionada de AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A ARNm. Se describe un polinucleótido que comprende una región que es idéntica o complementaria a un intervalo de 6 a 100, 8 a 100, 8 a 75, 8 a 50, 8 a 40 u 8 a 30 nucleótidos contiguos de una secuencia seleccionada de AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ARNm ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A. Los polinucleótidos ejemplares no limitativos se muestran en las Tablas 1 y 6.

[0158] En diversas realizaciones, un polinucleótido que comprende menos de 500, menos de 300, menos de 200,

menos de 150, menos de 100, menos de 75, menos de 50, menos de 40, o menos de 30 nucleótidos. En varias realizaciones, un polinucleótido está entre 6 y 200, entre 8 y 200, entre 8 y 150, entre 8 y 100, entre 8 y 75, entre 8 y 50, entre 8 y 40, o entre 8 y 30 nucleótidos de largo.

[0159] En algunas realizaciones, el polinucleótido es un cebador. En algunas realizaciones, el cebador se marca con un resto detectable. En algunas realizaciones, un cebador no está marcado. Un cebador, como se usa en este documento, es un polinucleótido que es capaz de hibridar específicamente con un ARN diana o con un ADNc transcrito a la inversa del ARN diana o con un amplicón que ha sido amplificado de un ARN diana o un ADNc (colectivamente denominado "plantilla"), y, en presencia de la plantilla, una polimerasa y los tampones y reactivos adecuados, se pueden extender para formar un producto de extensión de imprimación.

[0160] En algunas realizaciones, el polinucleótido es una sonda. En algunas realizaciones, la sonda está marcada con un resto detectable. Un resto detectable, como se usa en este documento, incluye tanto restos detectables directamente, tales como colorantes fluorescentes, como restos detectables indirectamente, tales como miembros de pares de unión. Cuando el resto detectable es un miembro de un par de unión, en algunas realizaciones, la sonda puede detectarse incubando la sonda con una etiqueta detectable unida al segundo miembro del par de unión. En algunas realizaciones, una sonda no está etiquetada, como cuando una sonda es una sonda de captura, por ejemplo, en una micromatriz o perla. En algunas realizaciones, una sonda no es extensible, por ejemplo, por una polimerasa. En otras realizaciones, una sonda es extensible.

[0161] En algunas realizaciones, el polinucleótido es una sonda FRET que en algunas realizaciones se marcó en el extremo 5’ con un colorante fluorescente (donante) y en el extremo 3' con un extintor (aceptor), un grupo químico que absorbe (es decir, suprime) la emisión de fluorescencia del colorante cuando los grupos están muy cerca (es decir, unidos a la misma sonda). En otras realizaciones, el tinte y el extintor no están en los extremos de la sonda FRET. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el espectro de emisión del colorante debería solaparse considerablemente con el espectro de absorción del extintor.

4.2.7.1. Modificaciones de polinucleótidos ejemplares

[0162] En algunas realizaciones, los métodos para detectar al menos un ARN diana descrito en el presente documento emplean uno o más polinucleótidos que se han modificado, tales como polinucleótidos que comprenden uno o más análogos de nucleótidos que mejoran la afinidad. Los polinucleótidos modificados útiles en los métodos descritos en el presente documento incluyen cebadores para la transcripción inversa, cebadores de amplificación por PCR y sondas. En algunas realizaciones, la incorporación de nucleótidos que aumentan la afinidad incrementa la afinidad de unión y la especificidad de un polinucleótido por su ácido nucleico diana en comparación con los polinucleótidos que contienen solo desoxirribonucleótidos, y permite el uso de polinucleótidos más cortos o regiones más cortas de complementariedad entre el polinucleótido y el ácido nucleico diana.

[0163] En algunas realizaciones, los análogos de nucleótidos de afinidad de mejora incluyen nucleótidos que comprenden una o más modificaciones de bases, modificaciones de azúcar y/o modificaciones del esqueleto.

[0164] En algunas realizaciones, las bases modificadas para su uso en análogos de nucleótidos de mejora de afinidad incluyen 5-metilcitosina, isocitosina, pseudoisocitosina, 5-bromouracilo, 5-propiniluracilo, 6-aminopurina, 2-aminopurina, inosina, diaminopurina, 2-cloro-6-aminopurina, xantina e hipoxantina.

[0165] En algunas realizaciones, los análogos de nucleótidos que mejoran la afinidad incluyen nucleótidos que tienen azúcares modificados tales como azúcares sustituidos en 2’, tales como azúcares en 2'-O-alquilo-ribosa, azúcares en 2'-amino-desoxirribosa, azúcares en 2'-fluoro azúcares de desoxirribosa, azúcares 2'-fluoro-arabinosa y azúcares 2'-O-metoxietilo-ribosa (2'MOE). En algunas realizaciones, los azúcares modificados son azúcares de arabinosa, o azúcares de d-arabino-hexitol.

[0166] En algunas realizaciones, los análogos de nucleótidos que mejoran la afinidad incluyen modificaciones del esqueleto tales como el uso de ácidos nucleicos peptídicos (PNA; por ejemplo, un oligómero que incluye nucleobases unidas entre sí por un esqueleto de aminoácidos). Otras modificaciones de la red troncal incluyen enlaces de fosforotioato, ácidos nucleicos modificados con fosfodiéster, combinaciones de ácido nucleico de fosfodiéster y fosforotioato, metilfosfonato, alquilfosfonatos, ésteres de fosfato, alquilfonotioatos, fosforamidatos, carbamatos, carbonatos, triésteres de fosfato, acetamidatos, ésteres de carboximetilo, metilfosforotioato, fosforoditioato, p-etoxi, y combinaciones de los mismos.

[0167] En algunas realizaciones, un polinucleótido incluye al menos un análogo de nucleótido que mejora la afinidad que tiene una base modificada, al menos nucleótido (que puede ser el mismo nucleótido) que tiene un azúcar modificado, y/o al menos un enlace internucleótido que no es natural

[0168] En algunas realizaciones, un análogo de nucleótido que mejora la afinidad contiene un azúcar de ácido nucleico bloqueado ("LNA"), que es un azúcar bicíclico. En algunas realizaciones, un polinucleótido para uso en los

métodos descritos en el presente documento comprende uno o más nucleótidos que tienen un azúcar LNA. En algunas realizaciones, un polinucleótido contiene una o más regiones que consisten en nucleótidos con azúcares LNA. En otras realizaciones, un polinucleótido contiene nucleótidos con azúcares de LNA entremezclados con desoxirribonucleótidos. *Ver, por ejemplo,* Frieden, M. et al. (2008) Curr. Farmacéutico Des. 14 (11): 1138-1142.

4.2.7.2. Cebadores ejemplares

[0169] En el presente documento se describe un cebador. En el presente documento se describe que un cebador es idéntico o complementario a al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, a al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 26, al menos 27, al menos 28, al menos 29, o al menos 30 nucleótidos contiguos de una secuencia seleccionada de AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A. En este documento se describe un cebador que comprende una región que es idéntica o complementaria a un intervalo de 6 a 100, 8 a 100, 8 a 75, 8 a 50, 8 a 40 u 8 a 30 nucleótidos contiguos de una secuencia seleccionada de ARNm de AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A. Los cebadores ejemplares no limitativos se muestran en las Tablas 1 y 6. En algunas realizaciones, un cebador también puede comprender porciones o regiones que no son idénticas o complementarias al ARN diana. En algunas realizaciones, una región de un cebador que es idéntica o complementaria a un ARN diana es contigua, de manera que cualquier región de un cebador que no sea idéntica o complementaria al ARN diana no interrumpe la región idéntica o complementaria.

[0170] En algunas realizaciones, un cebador comprende una parte que es idéntica presente en un ARN diana. En algunas de tales realizaciones, un cebador que comprende una región que está presente de manera idéntica en el ARN diana es capaz de hibridar selectivamente a un ADNc que se ha transcrito de forma inversa del ARN, o a un amplicón que se ha producido mediante la amplificación del ARN diana. o ADNc. En algunas realizaciones, el cebador es complementario a una porción suficiente del ADNc o amplicón, de modo que se hibrida selectivamente al ADNc o amplicón en las condiciones del ensayo particular que se está utilizando.

[0171] Como se usa en este documento, "hibridan selectivamente" significa que un polinucleótido, tal como un cebador o sonda, se hibridará con un ácido nucleico particular en una muestra con al menos 5 veces mayor afinidad de lo que se hibridará con otro ácido nucleico presente en la misma muestra que tiene una secuencia de nucleótidos diferente en la región de hibridación. Las condiciones de hibridación ejemplares se discuten en este documento, por ejemplo, en el contexto de una reacción de transcripción inversa o una reacción de amplificación por PCR. En algunas realizaciones, un polinucleótido se hibridará con un ácido nucleico particular en una muestra con al menos 10 veces mayor afinidad que hibridará con otro ácido nucleico presente en la misma muestra que tiene una secuencia de nucleótidos diferente en la región de hibridación.

[0172] En algunas realizaciones, un cebador se utiliza para transcribir a la inversa un ARN diana, por ejemplo, como se discute aquí. En algunas realizaciones, se usa un cebador para amplificar un ARN diana o un ADNc transcrito a la inversa del mismo. Dicha amplificación, en algunas realizaciones, es una PCR cuantitativa, por ejemplo, como se discute aquí. En algunas realizaciones, un cebador comprende un resto detectable.

[0173] En el presente documento se describen pares de cebadores. Dichos pares de cebadores están diseñados para amplificar una parte de un ARNm diana, como el ARN de AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A, o un ARN de control endógeno o un ARN de control exógeno. En el presente documento se describe un par de cebadores diseñado para producir un amplicón que tiene una longitud de 50 a 1500 nucleótidos, 50 a 1000 nucleótidos, 50 a 750 nucleótidos, 50 a 500 nucleótidos, 50 a 400 nucleótidos, 50 a 300 nucleótidos, 50 a 200 nucleótidos de largo, 50 a 150 nucleótidos de largo, o 50 a 100 nucleótidos de largo. Los pares de cebadores ejemplares no limitativos se muestran en las Tablas 1 y 6. En algunas realizaciones, se diseña un par de cebadores que abarca un intrón en la secuencia genómica de modo que el ARNm, sin el intrón, se amplifique más preferiblemente que la secuencia genómica. Por "se extiende un intrón" se entiende que un cebador del par de cebadores es complementario a una secuencia en el ARNm o un ADNc transcrito a la inversa del ARNm que se encuentra al menos parcialmente 5’ a un intrón en la secuencia genómica y un cebador del par de cebadores es complementario a una secuencia en el ARNm o un ADNc transcrito a la inversa del ARNm que se encuentra al menos parcialmente en 3’ al mismo intrón en la secuencia genómica. Un cebador del par de cebadores puede ser complementario a una secuencia en el ARNm o un ADNc transcrito a la inversa del ARNm que se ubica en 5’ a un intrón en la secuencia genómica y un cebador del par de cebadores puede ser complementario a una secuencia en el ARNm o un ADNc transcrito a la inversa desde el ARNm que se encuentra en 3’ hasta el mismo intrón en la secuencia genómica. Uno de los cebadores en el par de cebadores puede ser complementario a una secuencia en el ARNm o un ADNc transcrito a la inversa del ARNm que se empalma cuando se elimina el intrón, de modo que la secuencia complementaria contigua no se encuentra en la secuencia genómica. Todavía se considera que un par de cebadores que comprende dicho cebador abarca un intrón.

4.2.7.3. Sondas ejemplares

[0174] En diversas realizaciones, los métodos para detectar la presencia de cáncer de vejiga comprenden la hibridización de ácidos nucleicos de una muestra con una sonda. En algunas realizaciones, la sonda comprende una porción que es complementaria a un ARN diana, tal como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A. En algunas realizaciones, la sonda comprende una porción que está presente de manera idéntica en el ARN diana. En algunas de tales realizaciones, una sonda que es complementaria a un ARN diana es complementaria a una porción suficiente del ARN diana, de modo que se hibrida selectivamente con el ARN diana en las condiciones del ensayo particular que se está utilizando. En algunas realizaciones, una sonda que es complementaria a un ARN diana comprende una región que es complementaria a al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 26, al menos 27, al menos 28, al menos 29 o al menos 30 nucleótidos contiguos del ARN diana, tales como ARNm de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A. Las sondas ejemplares no limitativas se muestran en las Tablas 1 y 6. Una sonda que es complementaria a un ARN diana también puede comprender porciones o regiones que no son complementarias al ARN diana. En algunas realizaciones, una región de una sonda que es complementaria a un ARN diana es contigua, de manera que cualquier región de una sonda que no sea complementaria al ARN diana no interrumpe la región complementaria.

[0175] La sonda puede comprender una parte que es idéntica presente en el ARN diana, tal como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, o ARNm PIK3A. Una sonda que comprende una región que está presente de manera idéntica en el ARN diana puede ser capaz de hibridarse selectivamente con un ADNc que se ha transcrito de forma inversa a partir del ARN, o con un amplicón que se ha producido mediante la amplificación del ARN o ADNc diana. La sonda puede ser complementaria a una porción suficiente del ADNc o del amplicón, de modo que se hibride selectivamente con el ADNc o el amplicón en las condiciones del ensayo particular que se está utilizando. Una sonda que es complementaria a un ADNc o amplicón puede comprender una región que es complementaria a al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 26, al menos 27, al menos 28, al menos 29, o al menos 30 nucleótidos contiguos del ADNc o amplicón. Una sonda que es complementaria a un ADNc o amplicón también puede comprender porciones o regiones que no son complementarias al ADNc o amplicón. Una región de una sonda que es complementaria a un ADNc o un amplicón puede ser contigua, de manera que cualquier región de una sonda que no sea complementaria al ADNc o un amplicón no interrumpa la región complementaria.

[0176] En algunas realizaciones, el método de cuantificación de manera detectable de uno o más ARN diana comprende: (a) transcripción inversa de un ARN diana para producir un ADNc que es complementario al ARN diana; (b) amplificar el ADNc de (a); y (c) detectar la cantidad de un ARN diana mediante TA-PCR en tiempo real y una sonda de detección (que puede ser simultánea con la etapa de amplificación (b)).

[0177] Como se describió anteriormente, en algunas realizaciones, la detección de TA-PCR en tiempo real se puede realizar usando una sonda FRET, que incluye, pero no está limitada a, una sonda TaqMan®, una sonda de baliza molecular y una sonda Scorpion. En algunas realizaciones, la detección y cuantificación de TA-PCR en tiempo real se realiza con una sonda TaqMan®, es decir, una sonda lineal que típicamente tiene un colorante fluorescente unido covalentemente en un extremo del ADN y una molécula inhibidora unida covalentemente en otro lugar, como en el otro extremo de, el ADN. La sonda FRET comprende una secuencia que es complementaria a una región del ADNc de modo que, cuando la sonda FRET se hibrida con el ADNc, la fluorescencia del tinte se apaga, y cuando la sonda se digiere durante la amplificación del ADNc, se libera el tinte De la sonda y produce una señal de fluorescencia. En tales realizaciones, la cantidad de ARN diana en la muestra es proporcional a la cantidad de fluorescencia medida durante la amplificación de ADNc.

[0178] La sonda TaqMan® comprende típicamente una región de nucleótidos contiguos que tiene una secuencia que es complementaria a una región de un ARN diana o su ADNc complementario que se transcribe a la inversa de la plantilla de ARN diana (es decir, la secuencia de la región de la sonda es complementaria o está presente de manera idéntica en el ARN diana que se va a detectar, de manera que la sonda se puede hibridar específicamente al amplicón de PCR resultante. En algunas realizaciones, la sonda comprende una región de al menos 6 nucleótidos contiguos que tienen una secuencia que es completamente complementaria o está presente de manera idéntica en una región de un ADNc que se ha transcrito de manera inversa desde una plantilla de ARN diana, como la que comprende una región de al menos 8 nucleótidos contiguos, al menos 10 nucleótidos contiguos, al menos 12 nucleótidos contiguos, al menos 14 nucleótidos contiguos, o al menos 16 nucleótidos contiguos que tienen una secuencia que es complementaria o está presente de manera idéntica en una región de un ADNc transcrito a la inversa de un ARN diana a detectar.

[0179] En algunas realizaciones, la región del ADNc que tiene una secuencia que es complementaria a la secuencia de la sonda TaqMan® está en o cerca del centro de la molécula de ADNc. En algunas realizaciones, hay independientemente al menos 2 nucleótidos, tales como al menos 3 nucleótidos, tales como al menos 4 nucleótidos, tales como al menos 5 nucleótidos del ADNc en el extremo 5' y en el extremo 3' de la región de complementariedad.

[0180] En algunas realizaciones, balizas moleculares se pueden utilizar para detectar y cuantificar los productos de PCR. Como sondas de TaqMan®, las Balizas Moleculares utilizan FRET para detectar y cuantificar un producto de PCR a través de una sonda que tiene un tinte fluorescente y un extintor conectado a los extremos de la sonda. A diferencia de las sondas TaqMan®, las Balizas Moleculares permanecen intactas durante los ciclos de PCR. Las sondas de baliza molecular forman una estructura de tallo-bucle cuando están libres en solución, lo que permite que el tinte y el extintor estén lo suficientemente cerca como para causar la extinción de la fluorescencia. Cuando la Baliza Molecular hibrida con una diana, la estructura tallo-bucle se suprime, de modo que el tinte y el extintor se separan en el espacio y el tinte se vuelve fluorescente. Las balizas moleculares están disponibles, por ejemplo, en Gene Link™ (consulte http://www.genelink.com/newsite/productos/mbintro.asp).

[0181] En algunas realizaciones, las sondas Scorpion se pueden utilizar como cebadores específicos de secuencia y para la detección de producto de PCR y la cuantificación. Al igual que las Balizas Moleculares, las sondas Scorpion forman una estructura de tallo-bucle cuando no se hibridan con un ácido nucleico diana. Sin embargo, a diferencia de Balizas Moleculares, una sonda Scorpion logra tanto cebado específico de secuencia como detección de producto de PCR. Una molécula de tinte fluorescente está unida al extremo 5’ de la sonda Scorpion, y un extintor está unido en otro lugar, como en el extremo 3'. La porción 3’ de la sonda es complementaria al producto de extensión del cebador de PCR, y esta porción complementaria está unida al extremo 5' de la sonda por un resto no amplificable. Después de extender el cebador Scorpion, la secuencia específica de la diana de la sonda se une a su complemento dentro del amplicón extendido, abriendo así la estructura tallo-bucle y permitiendo que el colorante en el extremo 5’ emita fluorescencia y genere una señal. Las sondas Scorpion están disponibles en, por ejemplo, Premier Biosoft International (consulte http://www.premierbiosoft.com/tech_notes/Scorpion.html).

[0182] En algunas realizaciones, las etiquetas que se pueden usar en las sondas FRET incluyen colorantes fluorescentes y colorimétricos, tales como colorantes Alexa Fluor, colorantes BODIPY, tales como BODIPY FL; Cascada Azúl; Cascade Yellow; cumarina y sus derivados, tales como 7-amino-4-metilcumarina, aminocumarina e hidroxicumarina; tintes de cianina, tales como Cy3 y Cy5; eosinas y eritrosinas; fluoresceína y sus derivados, tales como isotiocianato de fluoresceína; quelatos macrocíclicos de iones lantánidos, tales como Quantum Dye™; Marina Blue; Oregon Verde; colorantes de rodamina, tales como rojo de rodamina, tetrametilrodamina y rodamina 6G; Téjas Rojo; colorantes de transferencia de energía fluorescentes, tales como heterodímero de tiazol naranja-etidio; y, TOTAB.

[0183] Los ejemplos específicos de colorantes incluyen, pero no se limitan a, los identificados anteriormente y los siguientes: Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 405, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 500. Alexa Fluor 514, Alexa Fluor 532, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 610, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700 y Alexa Fluor 750; colorantes BODIPY reactivos con aminas, como BODIPY 493/503, BODIPY 530/550, BODIPY 558/568, BODIPY 564/570, BODIPY 576/589, BODIPY 581/591, BODIPY 630/650, BODIPY 650/655, BIPIPY FL, BODIPY R6G, BODIPY TMR y BODIPY-TR; Cy3, Cy5, 6-FAM, isotiocianato de fluoresceína, HEX, 6-JOE, Oregon Verde 488, Oregon Verde 500, Oregon Verde 514, azul de Pacífico, REG, Rodamina verde, Rodamina rojo, Renografina, ROX, SYPRO, TAMRA, 2’, 4', 5’,7'-tetrabromosulfonafluoresceína y TET.

[0184] Los ejemplos de pares de colorante/inhibidor (es decir, pares de donante/aceptor) incluyen, pero no se limitan a, fluoresceína/tetrametilrodamina; IAEDANS/fluoresceína; EDANS/dabcilo; fluoresceína/fluoresceína; BODIPY FL/BODIPY FL; tintes de fluoresceína/QSY 7 o QSY 9. Cuando el donante y el aceptor son iguales, la FRET puede detectarse, en algunas realizaciones, por despolarización de fluorescencia. Ciertos ejemplos específicos de pares de tinte/inactivador (es decir, pares de donante/aceptor) incluyen, pero no se limitan a, Alexa Fluor 350/Alexa Fluor488; Alexa Fluor 488/Alexa Fluor 546; Alexa Fluor 488/Alexa Fluor 555; Alexa Fluor 488/Alexa Fluor 568; Alexa Fluor 488/Alexa Fluor 594; Alexa Fluor 488/Alexa Fluor 647; Alexa Fluor 546/Alexa Fluor 568; Alexa Fluor 546/Alexa Fluor 594; Alexa Fluor 546/Alexa Fluor 647; Alexa Fluor 555/Alexa Fluor 594; Alexa Fluor 555/Alexa Fluor 647; Alexa Fluor 568/Alexa Fluor 647; Alexa Fluor 594/Alexa Fluor 647; Alexa Fluor 350/QSY35; Alexa Fluor 350/dabcilo; Alexa Fluor 488/QSY 35; Alexa Fluor 488/dabcilo; Alexa Fluor 488/QSY 7 o QSY 9; Alexa Fluor 555/QSY 7 o QSY9; Alexa Fluor 568/QSY 7 o QSY 9; Alexa Fluor 568/QSY 21; Alexa Fluor 594/QSY 21; y Alexa Fluor 647/QSY 21. En algunos casos, el mismo extintor se puede usar para múltiples tintes, por ejemplo, un extintor de amplio espectro, como un extintor Iowa Black® (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA) o un agujero negro Quencher™ (BHQTM; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

[0185] En algunas realizaciones, por ejemplo, en una reacción múltiplexada en la que dos o más restos (como los amplicones) se detectan simultáneamente, cada sonda comprende un colorante de forma detectable diferente de modo que los tintes se pueden distinguir cuando se detectan simultáneamente en la misma reacción. Un experto en la técnica puede seleccionar un conjunto de tintes detectables diferentes para usar en una reacción múltiplex.

[0186] Los ejemplos específicos de ribonucleótidos marcados con fluorescencia útiles en la preparación de sondas de TA-PCR para su uso en algunas realizaciones de los métodos descritos en el presente documento están disponibles de Molecular Probes (Invitrogen), y éstos incluyen, Alexa Fluor 488-5-UTP, fluoresceína -12-UTP, BODIPY FL-14-UTP, BODIPY TMR-14-UTP, Tetrametilrodamina-6-UTP, Alexa Fluor 546-14-UTP, Téjas Rojo-5-UTP

y BODIPY TR-14-UTP. Otros ribonucleótidos fluorescentes están disponibles en Amersham Biosciences (GE Healthcare), como Cy3-UTP y Cy5-UTP.

[0187] Los ejemplos de desoxirribonucleótidos marcados con fluorescencia útiles en la preparación de sondas de TA-PCR para uso en los métodos descritos en el presente documento incluyen dinitrofenilo (DNP)-1'-dUTP, Cascada Azúl-7-dUTP, Alexa Fluor 488-5-dUTP, Fluoresceína-12-dUTP, Oregon Verde 488-5-dUTP, BODIPY FL-14-dUTP, Rodamina Verde-5-dUTP, Alexa Fluor 532-5-dUTP, BODIPY TMR-14-dUTP, Tetrametilrodamina-6-dUTP, Alexa Fluor 546-14-dUTP, Alexa Fluor 568-5-dUTP, Téjas Rojo-12-dUTP, Téjas Rojo-5-dUTP, BODIPY TR-14-dUTP, Alexa Fluor 594-5-dUTP, BODIPY 630/650-14-dUTP, BODIPY 650/665-14-dUTP; Alexa Fluor 488-7-OBEA-dCTP, Alexa Fluor 546-16-OBEA-dCTP, Alexa Fluor 594-7- OBEA-dCTP, Alexa Fluor 647-12-OBEA-dCTP. Los nucleótidos marcados por fluorescencia están disponibles comercialmente y se pueden comprar en, por ejemplo, Invitrogen.

[0188] En algunas realizaciones, tintes y otros restos, tales como desactivadores, se introducen en polinucleótido usado en los métodos descritos en el presente documento, tales como sondas FRET, a través de los nucleótidos modificados. Un "nucleótido modificado" se refiere a un nucleótido que ha sido modificado químicamente, pero aún funciona como un nucleótido. En algunas realizaciones, el nucleótido modificado tiene un resto químico, tal como un tinte o extintor, unido covalentemente, y puede introducirse en un polinucleótido, por ejemplo, mediante la síntesis en fase sólida del polinucleótido. En otras realizaciones, el nucleótido modificado incluye uno o más grupos reactivos que pueden reaccionar con un tinte o extintor antes, durante o después de la incorporación del nucleótido modificado en el ácido nucleico. En realizaciones específicas, el nucleótido modificado es un nucleótido modificado con amina, es decir, un nucleótido que se ha modificado para tener un grupo amino reactivo. En algunas realizaciones, el nucleótido modificado comprende un resto de base modificado, tal como uridina, adenosina, guanosina y/o citosina. En realizaciones específicas, el nucleótido modificado con amina se selecciona de 5-(3-aminoalilo)-UTP; 8-[(4-amino)butilo]-amino-ATP y 8-[(6-amino)butilo]-amino-ATP; N6-(4-amino)butilo-ATP, N6-(6-amino)butilo-ATP, N4-[2,2-oxi-bis-(etilamina)]-CTP; N6-(6-amino)hexilo-ATP; 8-[(6-Amino)hexilo]-amino-ATP; 5-propargilamino-CTP, 5-propargilamino-UTP. En algunas realizaciones, los nucleótidos con diferentes restos de nucleobases se modifican de manera similar, por ejemplo, 5-(3-aminoalilo)-GTP en lugar de 5-(3-aminoalilo)-UTP. Muchos nucleótidos modificados con aminas están disponibles comercialmente en, por ejemplo, Applied Biosystems, Sigma, Jena Bioscience y TriLink.

[0189] Los restos detectables ejemplares también incluyen, pero no se limitan a, miembros de pares de unión. En algunas de tales realizaciones, un primer miembro de un par de unión está unido a un polinucleótido. El segundo miembro del par de unión está vinculado a una etiqueta detectable, como una etiqueta fluorescente. Cuando el polinucleótido unido al primer miembro del par de unión se incuba con el segundo miembro del par de unión vinculado al marcador detectable, el primer y el segundo miembro del par de unión asociados y el polinucleótido pueden detectarse. Los pares de unión ejemplares incluyen, pero no se limitan a, biotina y estreptavidina, anticuerpos y antígenos, etc.

[0190] En algunas realizaciones, se detectan múltiples ARN diana en una única reacción múltiplex. En algunas de estas realizaciones, cada sonda que está dirigida a un ADNc único se puede distinguir espectralmente cuando se libera de la sonda. Por lo tanto, cada ARN diana se detecta mediante una señal de fluorescencia única.

[0191] Un experto en la técnica puede seleccionar un método de detección adecuado para un ensayo seleccionado, por ejemplo, un ensayo de TA-PCR en tiempo real. El método de detección seleccionado no necesita ser un método descrito anteriormente, y puede ser cualquier método.

4.3. Composiciones y kits ejemplares.

[0192] En otro aspecto, las composiciones, como se define en las reivindicaciones, para su uso en los métodos descritos aquí se proporcionan.

[0193] Se describen composiciones que comprenden al menos un cebador específico de ARN diana. El término "cebador específico de ARN diana" abarca los cebadores que tienen una región de nucleótidos contiguos que tienen una secuencia que está (i) idénticamente presente en un ARN diana, como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A ARNm, o ii) complementario a la secuencia de una región de nucleótidos contiguos que se encuentran en un ARN diana, como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A. Se proporciona una composición que comprende pares de cebadores específicos de ARN diana, como se define en las reivindicaciones. El término "par de cebadores específicos de ARN diana" abarca pares de cebadores que son adecuados para amplificar una región definida de un ARN diana, como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ARNm ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A. Un par de cebadores específicos de ARN diana típicamente comprende un primer cebador que comprende una secuencia que es idéntica a la secuencia de una región de un ARN diana (aunque el cebador típicamente comprenderá ADN o modificado) nucleósidos en lugar de ARN) y un segundo cebador que comprende una secuela una vez que es complementaria a una región de un ARN diana. Un par de cebadores es típicamente adecuado para amplificar una región de un ARNm diana que tiene una longitud de 50 a 1500 nucleótidos, una longitud de 50 a 1000 nucleótidos, una longitud de 50 a 750 nucleótidos, una longitud de 50 a

500 nucleótidos, una longitud de 50 a 400 nucleótidos, 50 a 300 nucleótidos largos, 50 a 200 nucleótidos largos, 50 a 150 nucleótidos largos, o 50 a 100 nucleótidos largos. Los cebadores ejemplares y los pares de cebadores no limitativos se muestran en las Tablas 1 y 6.

[0194] En algunas realizaciones, la composición comprende al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, o seis pares de cebadores de ARN específico diana, un par para amplificar cada uno de AR y/o el ARNm de UPK1B y al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A, como se define en las reivindicaciones. En algunas realizaciones, la composición comprende adicionalmente un par de cebadores específicos de ARN diana para amplificar un ARN de control endógeno y/o un par de cebadores específicos de ARN diana para amplificar un ARN de control exógeno.

[0195] En algunas realizaciones, la composición comprende al menos una sonda de ARN específico diana. El término "sonda específica de ARN diana" abarca sondas que tienen una región de nucleótidos contiguos que tienen una secuencia que está (i) idénticamente presente en un ARN diana, como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, o ARNm de PIK3A, o (ii) complementario a la secuencia de una región de nucleótidos contiguos encontrados en un ARN diana, como AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A ARNm. Sondas específicas diana ejemplares no limitantes se muestran en las Tablas 1 y 6.

[0196] En algunas realizaciones, la composición (incluyendo una composición descrita anteriormente que comprende uno o más pares de cebadores de ARN específico diana) comprende al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco o seis sondas, una sonda para detectar cada una de AR y/o UPK1B, y al menos un ARNm seleccionado de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A. En algunas realizaciones, la composición comprende adicionalmente una sonda para detectar un ARN de control endógeno y/o una sonda para detectar un ARN de control exógeno.

[0197] En algunas realizaciones, la composición es una composición acuosa. En algunas realizaciones, la composición acuosa comprende un componente de tamponamiento, tal como fosfato, tris, HEPES, etc., y/o componentes adicionales, como se describe a continuación. En algunas realizaciones, la composición es seca, por ejemplo, liofilizada, y adecuada para la reconstitución mediante la adición de fluido. Una composición seca puede incluir uno o más componentes tamponadores y/o componentes adicionales.

[0198] En algunas realizaciones, la composición comprende además uno o más componentes adicionales. Los componentes adicionales incluyen, pero no se limitan a, sales, tales como NaCl, KCl, y $MgCl_2$; polimerasas, incluyendo polimerasas termoestables tales como Taq; dNTPs; transcriptasas inversas, tales como transcriptasa inversa MMLV; inhibidores de la ARNasa; albúmina de suero bovino (BSA) y similares; agentes reductores, tales como β-mercaptoetanol; EDTA y similares; un experto en la técnica puede seleccionar componentes de composición adecuados dependiendo del uso previsto de la composición.

[0199] Se describen composiciones que comprenden al menos un polinucleótido para la detección de al menos un ARN diana. El polinucleótido se puede usar como cebador para una reacción de transcriptasa inversa. El polinucleótido se puede usar como cebador para la amplificación. El polinucleótido se puede usar como cebador para la TA-PCR. El polinucleótido se puede usar como una sonda para detectar al menos un ARN diana. El polinucleótido puede estar marcado de forma detectable. El polinucleótido puede ser una sonda FRET. El polinucleótido puede ser una sonda TaqMan®, una Baliza Molecular o una sonda Scorpion.

[0200] En el presente documento se describe una composición que comprende al menos una sonda FRET que tiene una secuencia que está presente de manera idéntica o complementaria a una región de ARNm de CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A. La sonda FRET puede estar marcada con un par donador/aceptor, de modo que cuando la sonda se digiere durante la reacción de PCR, produce una emisión de fluorescencia única que se asocia con un ARN diana específico. Cuando una composición comprende múltiples sondas FRET, cada sonda puede marcarse con un par donante/aceptor diferente, de modo que cuando la sonda se digiere durante la reacción de PCR, cada uno produce una emisión de fluorescencia única que se asocia con una secuencia de sonda específica y/o ARN diana. La secuencia de la sonda FRET puede ser complementaria a una región diana de un ARN diana. La sonda FRET puede tener una secuencia que comprende uno o más desajustes de base cuando se compara con la secuencia de la región diana mejor alineada de un ARN diana.

[0201] En este documento se describe una composición que comprende una sonda FRET que consta de al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, o al menos 25 nucleótidos, en donde al menos una parte de la secuencia está presente de manera idéntica o complementaria a una región de ARN AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A. Al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24 o al menos 25 nucleótidos de la sonda FRET pueden estar presentes de manera idéntica o complementaria a una región de ARNm AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5, o PIK3A. La sonda FRET puede tener una secuencia con uno, dos o tres

desapareamientos de bases cuando se compara con la secuencia o el complemento de ARNm AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A.

[0202] En el presente documento se describe un kit que comprende un polinucleótido descrito anteriormente. Un kit puede comprender al menos un cebador y/o sonda discutidos anteriormente. Un kit puede comprender al menos una polimerasa, tal como una polimerasa termoestable. Un kit puede comprender dNTPs. Los kits para uso en los métodos de TA-PCR en tiempo real descritos en el presente documento pueden comprender una o más sondas FRET específicas de ARN diana y/o uno o más cebadores para la transcripción inversa de los ARN diana y/o uno o más cebadores para la amplificación de los ARN diana o los ADNcs se transcriben a la inversa.

[0203] En algunas realizaciones, uno o más de los cebadores y/o sondas son "lineales". Un cebador "lineal" se refiere a un polinucleótido que es una molécula monocatenaria, y típicamente no comprende una región corta de, por ejemplo, al menos 3, 4 o 5 nucleótidos contiguos, que son complementarios a otra región dentro del mismo polinucleótido tal como que el cebador forma un dúplex interno. En algunas realizaciones, los cebadores para uso en transcripción inversa comprenden una región de al menos 4, como al menos 5, como al menos 6, como al menos 7 o más nucleótidos contiguos en el extremo 3' que tiene una secuencia que es complementaria a la región de al menos 4, tal como al menos 5, tal como al menos 6, tal como al menos 7 o más nucleótidos contiguos en el extremo 5' de un ARN diana.

[0204] Un kit como se describe en el presente documento puede comprender uno o más pares de cebadores lineales (un "cebador directo" y un "cebador inverso") para la amplificación de un ADNc transcrito a la inversa de un ARN diana, como AR, UPK1B, CRH, ARNm de IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 o PIK3A. Por consiguiente, un primer cebador puede comprender una región de al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24 o al menos 25 nucleótidos contiguos que tienen una secuencia que es idéntica a la secuencia de una región de al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, a al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24 o al menos 25 nucleótidos contiguos en una primera ubicación en el ARNm. Además, un segundo cebador puede comprende una región de al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24 o al menos 25 nucleótidos contiguos que tienen una secuencia que es complementaria a la secuencia de una región de al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, o al menos 25 nucleótidos contiguos en una segunda ubicación en el ARNm, de modo que una reacción de PCR que utiliza los dos cebadores produce un amplicón que se extiende desde la primera ubicación del ARNm hasta la segunda ubicación del ARNm.

[0205] El kit puede comprender al menos dos, al menos tres, o al menos cuatro conjuntos de cebadores, cada uno de los cuales es para la amplificación de un ADNc que se transcribe de forma inversa a partir de un ARN diana diferente, incluyendo ARNm de AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20, ANXA10, UPK2, MGEA5 y PIK3A. El kit puede comprender además al menos un conjunto de cebadores para amplificar un ARN de control, tal como un control endógeno y/o un control exógeno.

[0206] Las sondas y/o cebadores para uso en las composiciones descritas en este documento pueden comprender desoxirribonucleótidos. Las sondas y/o cebadores para uso en las composiciones descritas en el presente documento pueden comprender desoxirribonucleótidos y uno o más análogos de nucleótidos, tales como análogos de LNA u otros análogos de nucleótidos estabilizantes dúplex descritos anteriormente. Las sondas y/o cebadores para uso en las composiciones descritas en este documento pueden comprender todos los análogos de nucleótidos. Las sondas y/o cebadores pueden comprender uno o más análogos de nucleótidos estabilizadores de dúplex, tales como análogos de LNA, en la región de complementariedad.

[0207] Los kits para uso métodos de TA-PCR en tiempo real descritos en este documento pueden comprender además reactivos para su uso en la transcripción y la amplificación de reacciones inversas. Los kits pueden comprender enzimas como la transcriptasa inversa y una ADN polimerasa estable al calor, como la polimerasa Taq. Los kits pueden comprender además trifosfatos de desoxirribonucleótidos (dNTP) para uso en transcripción inversa y amplificación. Los kits pueden comprender tampones optimizados para la hibridación específica de las sondas y cebadores.

[0208] Los siguientes ejemplos son solo para fines ilustrativos, y no pretenden ser limitativos de ninguna manera.

5. EJEMPLOS

5.1. Ejemplo 1: Detección de cáncer de vejiga de grado alto y bajo

[0209] Se evaluaron más de 30 marcadores de ARNm y 20 marcadores de microARN en muestras de orina y tejido

de vejiga para determinar el panel más preciso para la detección del cáncer de vejiga. Basado en los resultados de más de 200 muestras de orina que utilizan ocho marcadores y el sistema GeneXpert (Cepheid, Sunnyvale, CA), se seleccionó un panel que consta de marcadores de ARNm de CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10 (con o sin al menos un control endógeno y/o al menos exógeno.

[0210] Varias composiciones de reacción fueron diseñadas para su uso en el sistema GeneXpert®, para la detección de diversas combinaciones de ARNm de CRH, IGF2, KRT20, y ANXA10. La Tabla 1 muestra las secuencias de los cebadores y las sondas utilizadas para detectar cada uno de los ARN diana mediante TA-PCR cuantitativa en las diversas composiciones de reacción.

Tabla 1: Secuencias de cebadores y sondas

Nombre de oligo	**Diana**	**Secuencia**	**SEQ ID NO**	**Formul. de reactivo ("TSR")**
ABLa3a4 PrmrFwd4	ABL	GATCAACACTGCTTCTGATGGCAA	8	CL3, CL4, CL1
ABLa3a4 PrmrRevl	ABL	CCACCGTTGAATGATGATGAACCAA	9	CL3, CL4, CL1
ABLa3a4 sonda1	ABL	F4-CCTCCGAGAGCCGCTTCAAC-Q4	10	CL3
ABL sonda F6	ABL	F6-CCTCCGAGAGCCGCTTCAAC-Q6	11	CL4
ABL sonda F1	ABL	F1-CCTCCGAGAGCCGC(T-dabcyl) TCAAC- Q1	12	CL1
KRT20 For	KRT20	TTGAAGAGCTGCGAAGTCAGAT	13	CL3, CL4
KRT20 Rev	KRT20	TGAAGTCCTCAGCAGCCAGTT	14	CL3, CL4
KRT20 sonda (F3)	KRT20	F3-TCAACTGCAAAATGCTCGGTGTGTCC- Q3	15	CL3, CL4
IGF2 For_4	IGF2	CGCGGCTTCTACTTCAGCAG	16	CL3, CL4
IGF2 Rev_4	IGF2	GCGGAAACAGCACTCCTCAA	17	CL3, CL4
IGF2 sonda_2	IGF2	F5-TGTGAGCCGTCGCAGCCGTG-Q5	18	CL3, CL4
CRH_For	CRH	ACCCGGCTCACCTGCGAA	19	CL3, CL4, CL1
CRH_Rev	CRH	GGACTCCCGCGGACACAA	20	CL3, CL4, CL1
CRH_sonda 3	CRH	F2-TCCTGGGAAGCGAGTGCCCCTAA-Q2	21	CL3, CL1
CRH_sonda_F 1	CRH	F1-CCTGGGAAGCGAG (T-dabcyl) GCCCCTAA-Q1	22	CL4
Armored RNA® Fwd	control exógeno	GGCTATTCTCCTCTTGGCAGAT	23	CL1
Armored RNA® Rev	control exógeno	TGCTTGAGCTCCAGTCCCTAAG	24	CL1
Armored RNA®_ Probe	control exógeno	F6-AGCCGAGAAGGCGGAGTCTGGC-Q6	25	CL1
ANXA10-FW	ANXA10	GTGAAACAAGTTTATGCAATCGATCAA	26	CL1
ANXA10-RV3	ANXA10	GATTGAAATTGGGAGCTGGGAA	27	CL1
ANXA10-F3	ANXA10	F3- TCATCCCTGAGGTTAACAATTACCATCAA-Q3	28	CL1
F1 a F6 son tintes diferentes detectables que pueden detectarse y distinguirse simultáneamente en una reacción múltiple, y Q1 a Q6 son inactivadores (en el presente ejemplo, Q2, Q4, Q5 y Q6 son el mismo extintor y Q1 es dabcilo, como se indica en las secuencias).				

[0211] Las composiciones de cebadores y sondas finales de tres composiciones de reacción diferentes se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Cebadores y sondas en TSR CL3, CL4 y CL1

TSR CL3					
Diana	**Etiqueta**	**Propósito**	**Conc. final Cebador delantero**	**Conc. final Cebador inverso**	**Conc. final Sonda**
ABL	F4	Normalización (control endógeno)	400 nM	400 nM	150 nM
KRT20	F3	Marcador de cáncer de vejiga	400 nM	400 nM	75 nM
IGF2	F5	Marcador de cáncer de vejiga	400 nM	400 nM	200 nM
CRH	F2	Marcador de cáncer de vejiga	400 nM	400 nM	200 nM
TSR CL4					
Diana	**Etiqueta**	**Propósito**	**Conc. final Cebador delantero**	**Conc. final Cebador inverso**	**Conc. final Sonda**
ABL	F6	Normalización (control endógeno)	400 nM	400 nM	400 nM
KRT20	F3	Marcador de cáncer de vejiga	400 nM	400 nM	75 nM
IGF2	F5	Marcador de cáncer de vejiga	400 nM	400 nM	300 nM
CRH	F1	Marcador de cáncer de vejiga	400 nM	400 nM	600 nM
ABL	F1	Normalización (control endógeno)	400 nM	400 nM	600 nM
Armored RNA ®	F6	Control endógeno	400 nM	400 nM	400 nM
ANXA10	F3	Marcador de cáncer de vejiga	400 nM	400 nM	75 nM
CRH	F2	Marcador de cáncer de vejiga	400 nM	400 nM	300 nM

[0212] Cada reacción contenía 50-90 mM de KCl, 3-5 mM de $MgCl_2$, 400 a 825 µM de dNTP, Tris 20 mM, pH 8,5, 0,01% de azida de sodio, y 0,9 unidades/µl de inhibidor de RNasa. La transcriptasa inversa MMLV (0,375 unidades/µl) y AptaTaq (0,25 unidades/µl; Roche) se utilizaron para la transcripción inversa y la amplificación, respectivamente. TSR CL1 incluyó un control exógeno Armored RNA® (SEQ ID NO: 47; Asuragen, Austin, TX).

[0213] Para cada muestra a ensayar, se añadió 5 mL de orina evacuada a 5 ml conservante (3,5 M de guanidina HCl, 1% de N-acetilo-L-cisteína, citrato de sodio 25 mM, y 2,5% de Tween-20, pH 3.2), preferiblemente dentro de 1 hora de la recolección de la muestra. Las muestras conservadas se transportaron en hielo y se almacenaron a 4°C. La información clínica para cada muestra fue proporcionada por los sitios de recolección. El número de glóbulos rojos por mililitro se determinó mediante evaluación microscópica.

[0214] Antes de su uso, la orina conservada se invirtió tres veces para mezclar. Se cargaron 1,2 ml de orina conservada en un cartucho GeneXpert para su análisis. El cartucho contenía un filtro de 0,8 µM para capturar las células uroteliales. Las células capturadas se lavaron y se lisaron utilizando sonicación (2-15 segundos, 8-16 µM a 36 kHz) dentro del cartucho. El lisado se usó luego para reconstituir los reactivos utilizados para la TA-PCR en tiempo real (descrito anteriormente). El ciclo de reacción utilizado fue: 10 minutos a 45°C, seguido de 2 minutos a 95°C y luego 45 ciclos de (a) 5 segundos a 95°C, 20 segundos a 60°C y 20 segundos a 72°C, utilizando un cartucho GeneXpert® en un sistema GeneXpert®. Delta C_t (ΔCt) se calculó como C_t (ABL)-C_t (marcador). El límite de ΔCt se estableció como el ΔCt que dio al menos una especificidad del 95% con muestras de pacientes que no se esperaba que tuvieran cáncer de vejiga (datos no mostrados). Un ΔCt por encima del límite de ΔCt para cualquiera de los marcadores se consideró un resultado positivo, indicativo de la presencia de cáncer de vejiga.

[0215] Algunas muestras también se analizaron utilizando UroVysion® (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL). Los resultados de ese experimento se muestran en la Tabla 3 (cáncer de vejiga de alto grado) y en la Tabla 4 (cáncer de vejiga de bajo grado). Se resaltan ΔCts por encima del umbral, que indican un resultado positivo. Cada uno de los tres lotes de TSR, CL3, CL4 y CL1, detectó el 100% de las muestras de cáncer de vejiga de alto grado, al igual que UroVysion®.

[0216] Para el cáncer de vejiga de bajo grado, la tasa de detección fue del 37% (7/19), en comparación con solo el 16% (3/19) para UroVysion®.

Tabla 3: Detección de cáncer de vejiga de alto grado

					TSR Lote CL3			TSR Lote CL4			CIC TSR Lote CL1			
Muestra ID	etapa	Grado	Resultado UroVysion®	citología	antecedentes de cáncer de vejiga	CRH -10	KRT20 2.2	IGF2 -1	KRT20 4	IGF2 0.5	CRH -5	ANXA10 -0.5	CRH -3	Resultado GX
67001	pTa	alto	positivo	sospechoso	si	-20	4.9	-20	4.8	1.1	-20	-1.6	-3.6	positivo
67006	pT1	alto	positivo	positivo	no	-0.7	4.4	-6.2	5.7	-2.8	-0.6	-20	2.2	positivo
67009	pT2	alto	positivo	positivo	no	-20	4.9	-0.4	4.9	1.5	-20	1.1	-20	positivo
75211	pT2	alto	positivo	negativo	no	-0.8	1.4	-4.1						positivo
75216	pTa, CIC	alto	positivo	sospechoso	si	-3.5	2	-0.8	0.9	-0.6	-3.4			positivo
75218	pTa	alto	positivo	negativo	no	0.9	3.8	-0.9	3.8	-1.6	0.5			positivo
75245	pTa	alto	positivo	NA	no	20	1.6	6.7	0.4	6.2	20	1.9	8.2	positivo
75247	CIS	alto	positivo	atípico	no	-1.4	3.4	2.7	3.6	3.7	-3.8	-0.2	0.4	positivo
75248	pT1/CIS	alto	positivo	atípico	no	-20	4.3	0	4.8	1	-20	0.4	-5.1	positivo
75249	pT1	alto	positivo	negativo	no	-20	3.3	2.1	3.4	2.5	-20	3.7	-20	positivo
75258	CIS, pTa	alto	positivo	atípico	no				4.2	-3.7	0.6	-2	1.9	positivo
75246			positivo	positivo	no	-20	4.3	5.3	4.4	5.9	9.1	-1	3.4	positivo

Tabla 4: Detección de cáncer de vejiga de bajo grado

							TSR Lote CL3			TSR Lote CL4				CIC TSR Lote CL1				
Muestra ID	etapa	Grado	Resultado UroVysion®	citología	antecedentes de cáncer de vejiga	CRH	KRT20	IGF2	KRT20	IGF2	CRH	ANXA10	CRH	Resultado GX
						-10	2.2	-1	4	0.5	-5	-0.5	-3	
67002	pTa	bajo	negativo	atípico	si	-20	3.9	-3.8	3.3	-1.5	-20	-1.7	-20	positivo
67003	pTa	bajo	negativo	negativo	no	-20	-20	-3.2	-20	-20	-20	-20	-20	negativo
67004	pTa	bajo	negativo	negativo	no	-2	4.7	-2.3	5.2	0.1	-1.7	2.4	2.2	positivo
67010	pTa	bajo	positivo	atípico	no	-20	-5.3	-8.8	-3.8	-6.7	-20	-5	-20	negativo
67011	pTa	bajo	positivo	atípico	no	-1.3	4.6	1.9	4	2.4	-2	-1.3	1	positivo
67018	pTa	bajo	negativo	atípico	si	-20	-20	-4.4	-20	-20	-20	-20	-20	negativo
67050	pTa	bajo	negativo	atípico	si	-20	-0.4	3.4	1.9	3.3	-20	-0.5	-20	positivo
67100	pTa	bajo	borderline	atípico	si				-2.9	-2.7	-20	-20	-20	negativo
75161	pTa	bajo	negativo	atípico	si	-20	-3	-4.7	-3.6	-1.3	-20	-5.7	-20	negativo
75183	pTa	bajo	positive	negativo	si	-1.5	3.1	-2	3.4	-0.5	0.7	4.1	2.3	positivo
75184	pTa	bajo	no conclusivo	negativo	si	-20	-0.6	1.3	-1.5	1.8	-20	-20	-20	positivo
75185	pTa	bajo	negativo	negativo	no	-20	3	5	1.3	4.7	-20	1.2	-4.2	positivo
75191	pTa	bajo	negativo	negativo	si	-20	-0.4	-3.4	1.1	-0.5	-20	4.1	-20	negativo
75202	pTa	bajo	negativo	negativo	si	-20	0.3	-2.3	-0.4	-1.5	-20	-2.4	-20	negativo
75236	pTa	bajo	negativo	negativo	no	-20	-5.7	-7.9	-20	-8.9	-20	-3.2	-20	negativo
75251	pTa	bajo	negativo	negativo	si	-20	-3.6	-5.1	-1	-4.4	-20	-20	-20	negativo
75257	pTa	bajo	negativo	negativo	no				-2.1	-0.9	-20	-20	-20	negativo
75265	pTa	bajo	negativo	negativo	si				1.4	-20	-20	-20	-20	negativo

[0217] Un resumen de la sensibilidad para el cáncer de alto grado de la vejiga y el cáncer de vejiga de bajo grado, y la especificidad en los pacientes con un bajo riesgo de cáncer de vejiga, se muestra en la Tabla 5 para cada uno de los marcadores individuales ensayados en las Tablas 3 y 4.

Tabla 5: Resumen de sensibilidad y especificidad de marcadores individuales

Marcador	Sensibilidad, cáncer vesical de alto grado.	Sensibilidad, cáncer vesical de bajo grado.	Especificidad, bajo riesgo de cáncer de vejiga.
CRH	15/30 (50%)	9/53 (17%)	220/221 (99%)
KRT20	11/21 (52%)	6/34 (18%)	144/145 (99%)
IGF2	13/21 (62%)	8/34 (24%)	144/145 (99%)
ANXA10	5/9 (56%)	2/19 (11%)	74/76 (97%)
Combo de 4 marcadores	12/12 (100%)	7/19 (37%)	83/88 (94%)

[0218] Los cebadores y sondas alternativas ejemplares para detectar los cuatro marcadores, KRT20, IGF2, CRH y ANXA10, se muestran en la Tabla 6. La Tabla 6 también muestra un conjunto ejemplar de cebadores y sondas para detectar un control exógeno y un control endógeno, ABL. Los tintes y los inhibidores que se muestran en la Tabla 6 son genéricos, y dos o más de los inhibidores Q1 a Q6 pueden ser los mismos (Q1 es dabcilo, como se indica en la secuencia). Un experto en la técnica podría seleccionar un conjunto adecuado, por ejemplo, un conjunto de tintes detectables diferentes para uso en un ensayo múltiplex. También se muestra la longitud de amplicón predicha para cada conjunto de cebadores, así como la longitud de cualquier intrón interviniente entre los sitios del cebador en la copia genómica del objetivo.

Tabla 6: Secuencias de cebadores y sondas

nombre	5' mod	secuencia	3' mod	SEQ ID NO	longitud de amplicon (bp)	longitud de intron (bp)
KRT20 For_3		CGAC TACAGTGCATATTACAGACAA		29	113	2142
KRT20 Rev_2		CAGCAGCCAGTTTAGCATTATCAA		30		
KRT20 Sonda	F1	TCAACTGCAAAA(T-dabcyl)GCTCGGTGTGTCC	Q1	31		
IGF2 For_5		GGACCGCGGCTTCTACTTCA		32	95	1701
IGF2 Rev_5		CCAGGTCACAGCTGCGGAA		33		
IGF2 Sonda 2_F4	F4	TGTGAGCCGTCGCAGCCGTG	Q4	34		
CRH_For 4		TGCGAAGCGCCTGGGAAGC		35	66	801
CRR _Rev		GGACTCCCGCGGACACAA		36		
CRH_Sonda_F2	F2	TGCCCCTAACATGCGGCTGCC	Q2	37		
ANXA10_For_3		TCAGCGCTGCAATGCACAA		38	122	22,947
ANXA10_For_4		CTGCAATGCACAAAGGATGA		48	117	22,947
ANXA10_Rev_5		GGCCAGCCATCACATCTTTGAA		39		
ANXA10_Sonda_3	F3	TAGAGCATGTATGGCCGGGACCT	Q3	40		
ABLa3a4 PrmrFwd4		GATCAACACTGCTTCTGATGGCAA		41	92	7666
ABLa3a4 PrmrRevl		CCACCGTTGAATGATGATGAACCAA		42		
ABL Sonda F5	F5	CCTCCGAGAGCCGCTTCAAC	Q5	43		

(continúa)

nombre	5' mod	secuencia	3' mod	SEQ ID NO	longitud de amplicon (bp)	longitud de intron (bp)
Armored RNA® Fwd		GGCTATTCTCCTCTTGGCAGAT		44	101	NA
Armored RNA® Rev		TGCTTGAGCTCCAGTCCCTAAG		45		
Armored RNA® Probe	F6	AGCCGAGAAGGCGGAGTCTGGC	Q6	46		

5.2. Ejemplo 2: sensibilidad del ensayo para detectar el cáncer de vejiga utilizando el panel marcador KRT20, IGF2, CRH y ANXA10 en una cohorte más grande

[0219] Las muestras de orina se recogieron de los sujetos en siete sitios diferentes. Los criterios de elegibilidad para la inclusión en el estudio incluyeron:

- 18 años o más;
- Consentimiento informado documentado según lo exija el IRB o HREC que lo revisa, y un proyecto de ley firmado de derechos de los pacientes para sujetos experimentales en California;
- Al menos uno de los siguientes criterios:
  - Una historia o recurrencia de cáncer de vejiga;
  - Una referencia para la evaluación de la cistoscopia debido a hematuria microscópica o macroscópica en la orina;
  - Una referencia para la evaluación de urología, pero sin antecedentes de cáncer de vejiga o evidencia clínica de cáncer de vejiga;
- El consentimiento para proporcionar al menos 15 ml de orina evacuada además de la requerida para el estándar de atención;
- Consentimiento para permitir resultados patológicos para cualquier muestra de biopsia tomada durante el procedimiento de cistoscopia y otros registros médicos a ser reportados.

Los criterios de exclusión incluyeron solo los menores de 18 años y la primera orina evacuada. Los pacientes actualmente o previamente tratados con Bacillus Calmette-Guerin (BCG) y los pacientes actualmente o previamente tratados con terapia intravesical o resección transuretral de vejiga o radioterapia para el cáncer de vejiga fueron elegibles para el estudio. Además, también se permitió la inscripción repetida durante el curso del estudio.

[0220] Dos de los sitios de recolección proporcionaron los resultados del análisis UroVysion® en las muestras de orina. Para cada muestra a analizar, se agregaron 15 ml de orina vaciada a 15 ml de conservante (guanidina HCl 3,5 M, N-acetilo-L-cisteína al 1%, citrato de sodio 25 mM y Tween-20 al 2,5%, pH 3,2). Preferiblemente dentro de 1 hora de la recolección de la muestra. Las muestras conservadas se transportaron en hielo y se almacenaron a 4°C. La información clínica para cada muestra fue proporcionada por los sitios de recolección.

[0221] Antes de su uso, la orina conservada se invirtió tres veces para mezclar. Se cargaron 4 ml de orina conservada en un cartucho GeneXpert para su análisis. El cartucho contenía un filtro de 0,8 µM para capturar las células uroteliales. Las células capturadas se lavaron y se lisaron utilizando sonicación (2-15 segundos, 8-16 µM a 36 kHz) dentro del cartucho. El lisado se usó luego para reconstituir los reactivos utilizados para la TA-PCR en tiempo real (descrito anteriormente). El ciclo de reacción utilizado fue: 10 minutos a 45°C, seguido de 2 minutos a 95°C y luego 45 ciclos de (a) 5 segundos a 95°C, 20 segundos a 60°C y 20 segundos a 72°C, utilizando un cartucho GeneXpert® en un sistema GeneXpert®. Para genes ANXA10, KRT20 y IGF2, delta C_t (ΔCt) se calculó como C_t (ABL)-C_t (marcador). El límite de ΔCt se estableció como el ΔCt que dio una alta especificidad (> 90%) con muestras de pacientes que no se espera que tengan cáncer de vejiga (datos no mostrados). Un ΔCt por encima del límite de ΔCt para cualquiera de los marcadores se consideró un resultado positivo, indicativo de la presencia de cáncer de vejiga. Para CRH, se usaron valores de C_t en lugar de ΔCt para determinar la positividad para el marcador CRH. Un valor de CRH C_t <45 se consideró un resultado positivo, indicativo de la presencia de cáncer de vejiga. Además de los cuatro marcadores de cáncer de vejiga (KRT20, IGF2, CRH y ANXA10), el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® incluyó dos controles: cebadores y sonda para detectar ARNm de ABL en las muestras, y cebadores y

sonda para detectar un ARN de control exógeno de Armored RNA®.

[0222] En el primer análisis, 132 muestras recogidas de pacientes que tuvieron resultados cistoscopia positivos para cáncer de vejiga fueron probados con el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert®. Sesenta de esas muestras también se habían analizado con UroVysion®. La tabla 7 muestra los resultados para esas 132 muestras.

Tabla 7: Sensibilidad del ensayo por estadio y grado de cáncer de vejiga

Xpert vejiga					**UroVysion**			
	POS	**NEG**	**No válido/Error ****	**Sensibilidad**	**POS**	**NEG**	**no conclusivo**	**Sensibilidad**
Etapa:								
All	94	35	3	72,9%	29	26	5	52,7%
Ta, Bajo grado	29	23	2	55,8%	5	18	4	21,7%
Ta, Alto grado	20	2		90,9%	4	6	1	40,0%
T1	13	2		86,7%	6	1		85,7%
T2	11	2		84,6%	4	0		100,0%
T3	3	0		100,0%	1	0		100,0%
T4	2	0		100,0%				
CIS	11	1		91,7%	7	0		100,0%
UNK	5	5	1	50,0%	2	1		66,7%
Grado:								
All	94	35	3	72,9%	29	26	5	52,7%
Bajo grado	33	28	2	54,1%	6	19	4	24,0%
Alta grado	61	7	1	89,7%	23	7	1	76,7%
** Dos resultados no válidos se debieron a un bajo ABL Ct, lo que sugiere un bajo número de células en la muestra, y uno de los resultados no válidos se debió a la mala calidad de la muestra.								

[0223] Como se muestra en la Tabla 7, para estas muestras, el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® tenía una sensibilidad de 54,1% para el cáncer de vejiga de bajo grado y una sensibilidad del 89,7% para el cáncer de vejiga de alto grado. En contraste, UroVysion® tenía una sensibilidad de solo el 24% para el cáncer de vejiga de bajo grado y una sensibilidad del 76,6% para el cáncer de vejiga de alto grado. Además, el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® fue capaz de detectar todos los grados y etapas del cáncer de vejiga.

[0224] El mismo conjunto de datos se divide entonces en función de tres grupos de pacientes: (A) pacientes con un historial de cáncer de vejiga que en la actualidad se está supervisando para la recurrencia de cáncer de vejiga, (B) pacientes que habían sido tratados con Bacillus Calmette-Guerin (BCG) dentro de los tres meses anteriores a la toma de la muestra, y (C) pacientes que presentaban síntomas de cáncer de vejiga y no tenían antecedentes de cáncer de vejiga. Los resultados para esos grupos de pacientes se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Sensibilidad del ensayo por población de pacientes

	Monitoreo (Población A)							
	Xpert vejiga*				**UroVysion**			
	POS	**NEG**	**No válido/Error ****	**Sensibilidad**	**POS**	**NEG**	**No conclusivo**	**Sensibilidad**
Grado:								
Todos	50	20	1	71.4%	11	12		47.8%
Bajo grado	21	18		53.8%	2	11	1	15.4%
Alto grado	29	2	1	93.5%	9	1		90.0%

(continúa)

	Tratado con BCG durante los últimos 3 meses (Población B)							
	Xpert vejiga*				UroVysion			
	POS	NEG	No válido/Error **	Sensibilidad	POS	NEG	No conclusivo	Sensibilidad
Grado:								
Todos	4	2		66.7%	1			100.0%
Bajo grado								
Alto grado	4	2		66,7%	1			100.0%
	Sintomático (Población C)							
	Xpert vejiga*				UroVysion			
	POS	NEG	No válido/Error **	Sensibilidad	POS	NEG	No conclusivo	Sensibilidad
Grado:								
Todos	40	13	2	75.5%	17	14	4	54.8%
Bajo grado	12	10	2	54,5%	4	8	3	33.3%
Alto grado	28	3		90.3%	13	6	1	68.4%

** Dos resultados no válidos se debieron a un bajo ABL Ct, lo que sugiere un bajo número de células en la muestra, y uno de los resultados no válidos se debió a la mala calidad de la muestra.

[0225] Como se muestra en la Tabla 8, el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® tuvo una sensibilidad similar para el cáncer de vejiga de grado bajo y de grado alto en pacientes controlados por cáncer de vejiga y en pacientes que eran sintomáticos de cáncer de vejiga como en el grupo de pacientes como un entero (*ver* tabla 7). En pacientes que habían sido tratados con BCG en los últimos tres meses, el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® tenía una sensibilidad del 66,7%, aunque el tamaño de la muestra era demasiado pequeño (6 muestras) para extraer conclusiones de ese resultado.

[0226] Con el fin de tener una comparación directa del ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® y UroVysion®, se seleccionó un conjunto de datos que incluía solo muestras que se habían analizado con ambos ensayos. La Tabla 9 muestra los resultados para ese conjunto de datos, con los pacientes separados en dos grupos: (A&B) pacientes con antecedentes de cáncer de vejiga que actualmente estaban siendo monitoreados para detectar la recurrencia del cáncer de vejiga, combinados con pacientes que habían sido tratados con Bacillus Calmette-Guerin (BCG) dentro de los tres meses previos a la recolección de la muestra (estos grupos se combinaron porque solo una muestra de un paciente tratado con BCG se había analizado con ambos análisis), y pacientes con síntomas de cáncer de vejiga y sin antecedentes de cáncer de vejiga.

Tabla 9: Sensibilidad de ensayo para muestras analizadas con GeneXpert® y UroVysion®

	Monitoreo y tratamiento con BCG (Poblaciones A&B)							
	Xpert vejiga				UroVysion			
	POS	NEG	Invalid/Error**	Sensibilidad	POS	NEG	No conclusivo	Sensibilidad
Grade:								
Todos	18	7	1	72.0%	12	13	1	48.0%
Bajo grado	6	7	1	46.2%	2	12		14.3%
Alto grado	12	0		100.0%	10	1	1	90.9%
	Sintomático (Población C)							
	No válido/Error **				UroVysion			
	POS	NEG	No válido/Error **	Sensibilidad	POS	NEG	No conclusivo	Sensibilidad
Grade:								
Todos	26	8	1	76.5%	17	14	4	54.8%

(continúa)

	Sintomático (Población C)							
	Xpert vejiga				UroVysion			
	POS	NEG	No válido/Error **	Sensibilidad	POS	NEG	No conclusivo	Sensibilidad
Grade:								
Bajo grado	7	7	1	50.0%	4	8	3	33.3%
Alto grado	19	1		95.0%	13	6	1	68.4%

[0227] Como se muestra en la Tabla 9, para las muestras que se analizaron con el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® y UroVysion®, el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® mostró mayor sensibilidad que UroVysion® para detectar cáncer de grado bajo y grado alto en ambos grupos de pacientes.

[0228] A continuación, el conjunto de datos se dividió en muestras que se habían archivado, lo que significa que se analizaron más de una semana después de la recolección (las muestras iban desde los 8 días hasta los nueve meses), y las muestras eran nuevas, lo que significa que fueron ensayadas dentro de una semana de recogida. Los resultados de ese análisis se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10: Sensibilidad de ensayo en muestras archivadas y frescas.

	Muestras archivadas				
	Xpert vejiga				
	n	POS	NEG	Inválido/Error**	Sensibilidad
Grado:					
Todos	89	61	25	3	70.9%
Bajo grado	46	23	21	2	523%
Alto grado	43	38	4	1	90.5%
	Muestras frescas				
	Xpert vejiga				
	n	POS	NEG	Inválido/Error**	Sensibilidad
Grado:					
Todos	43	33	10		76.7%
Bajo grado	17	10	7		58.8%
Alto grado	26	23	3		88.5%

** Dos resultados no válidos se debieron a un bajo ABL Ct, lo que sugiere un bajo número de células en la muestra, y uno de los resultados no válidos se debió a la mala calidad de la muestra.

[0229] Como se muestra en la Tabla 10, el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® tenían una sensibilidad similar para la detección de bajo grado y el cáncer de vejiga de alto grado en muestras frescas y archivadas.

5.3. Ejemplo 3: Especificidad del ensayo para detectar el cáncer de vejiga utilizando el panel marcador KRT20, IGF2, CRH y ANXA10 en una cohorte más grande

[0230] Además de las muestras de pacientes con resultados de cistoscopia positivos para el cáncer de vejiga, se tomaron muestras de orina en los siete sitios de pacientes con resultados de cistoscopia negativos para el cáncer de vejiga, pero que estaban siendo monitoreadas para detectar la recurrencia del cáncer de vejiga, habían recibido BCG dentro de los tres meses anteriores a la recolección de la muestra, y que parecían ser sintomáticos para el cáncer de vejiga pero no tenían antecedentes de cáncer de vejiga. Además, se tomaron muestras de orina de pacientes con referencias urológicas para otras afecciones sospechosas, como cálculos renales. Finalmente, se tomaron muestras de orina de individuos sanos. Las muestras de orina se conservaron y analizaron utilizando el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® como se describe en el Ejemplo 2.

[0231] Para las muestras de pacientes con resultados negativos de cistoscopia para cáncer de vejiga, los resultados del ensayo fueron divididos de acuerdo con los tres grupos de pacientes: (A) pacientes con antecedentes de cáncer de vejiga que actualmente estaban siendo monitoreados para la recurrencia del cáncer de vejiga, (B) pacientes que habían sido tratados con Bacillus Calmette-Guerin (BCG) dentro de los tres meses anteriores a la toma de muestras, y (C) pacientes que presentaban síntomas de cáncer de vejiga y no tenían antecedentes de cáncer de vejiga. Los resultados para esos grupos de pacientes se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11: Especificidad del ensayo en pacientes con cistoscopia negativa por población

Monitoreo (Población A)			
Xpert vejiga			
POS	**NEG**	**No válido/error**	**Especificidad**
55	156	17	73,9%
Tratamiento con BCG (Población B)			
Xpert vejiga			
POS	**NEG**	**No válido/error**	**Especificidad**
1	6	0	85,7%
Sintomático (Población C)			
Xpert vejiga			
POS	**NEG**	**No válido/error**	**Especificidad**
16	86	10	84,3%

[0232] Como se muestra en la Tabla 11, el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® tenía una especificidad del 73,9%, 85,7% y 84,3% para los grupos de pacientes (A), (B) y (C), respectivamente.

[0233] A continuación, la especificidad del ensayo de cáncer de vejiga en pacientes GeneXpert® que eran sospechosos de tener otras afecciones urológicas, pero no el cáncer de vejiga, se determinó. Se recogieron setenta muestras de pacientes en esta categoría. Los resultados con el ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® fueron 14 positivos, 50 negativos y 6 resultados no válidos. La especificidad del ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® para esta población de pacientes fue, por lo tanto, del 78,1%.

[0234] Por último, se determinó la especificidad del ensayo de cáncer de vejiga GeneXpert® en individuos sanos. Se tomaron cincuenta y cinco muestras en esta categoría. Los resultados fueron 4 positivos y 51 negativos, lo que indica una especificidad del 92,7% para esta categoría de materias.

5.4. Ejemplo 4: Detección de cáncer de vejiga en muestras que fueron débilmente positivas o falsas negativas utilizando el panel marcador KRT20, IGF2, CRH y ANXA10

[0235] Se analizaron utilizando dos marcadores adicionales, receptor de andrógenos (AR) y una colección de muestras, incluyendo muchas muestras que eran débilmente positivo o falso negativo de las cohortes anteriores, uroplakin 1B (UPK1B).

[0236] Dos mililitros de orina conservada se cargaron en un cartucho de GeneXpert® y la orina se pasó a través del filtro. Las células atrapadas en el filtro se eliminaron utilizando un tiocianato de guanidinio 3M y sarcosilo al 0,1%. El ARN de las células se purificó utilizando un mini kit RNeasy (Qiagen). Las muestras de ARN luego se analizaron en un SmartCycler® (Cepheid, Sunnyvale, CA). Cada reacción contenía 5 µl de ARN purificado, cebador directo 400 nM para ABL, cebador delantero 400 nM para cada ARN diana (AR y/o UPK1B), cebador inverso 400 nM para ABL, cebador inverso 400 nM para cada ARN diana, 200 sonda nM ABL, y 300 nM de sonda para cada ARN diana, KCl 50-90 mM, $MgCl_2$ 3-5 mM, 400-825 µM dNTPs, Tris 20 mM, pH 8,5, azida de sodio 0,01%, y 0,125 unidades/µl del inhibidor de la ARNasa. La transcriptasa inversa MMLV (0,375 unidades/µl) y AptaTaq (0,25 unidades/µl; Roche) se utilizaron para la transcripción inversa y la amplificación, respectivamente. El ciclo utilizado fue de 45°C durante 600 segundos, 95°C durante 120 segundos y 45 ciclos de: 95°C durante cinco segundos, 60°C durante 20 segundos y 72°C durante 20 segundos. Las secuencias de cebadores y sondas para detectar AR y UPK1B se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12: Cebadores y sondas

Nombre	Secuencia	SEQ ID NO	Longitud de amplicon	Longitud de intron
UPK1B_For	CGGACTGAGAATAATGATGCTGA	51	141	4658
UPK1B_Rev	GATCAGTTCATAGCAGCCCTG	52		
UPK1B_Sonda	TCTCAACCTGGAGGCTTGTAAACTAGG	53		
AR_For	GGACTCCGTGCAGCCTATT	54	136	701
AR_Rev	AGAAAGGATCTTGGGCACTTG	55		
AR_Sonda	TCAGTTCACTTTTGACCTGCTAATCAAGTC	56		

[0237] Si el ABL Ct era mayor que 39, la muestra se retiró del análisis. Delta C_t (ΔCt) se calculó como C_t (ABL) - C_t (marcador). El límite _ACt para AR se estableció como -4,5 y el punto de corte ΔCt para UPK1B se fijó en 1,5. Un ΔCt por encima del límite de ΔCt para cualquiera de los marcadores se consideró un resultado positivo, indicativo de la presencia de cáncer de vejiga. Si no se detectó ningún objetivo en la muestra, el C_t se estableció en 0 y el ΔCt se estableció en -20. Los resultados del experimento se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13: Detección de cáncer de vejiga mediante AR y UPK1B

	ABL	AR		UPK1B					
Muestra ID	Ct	Ct	ΔCt	Ct	ΔCt	Estado	Resultado AR	Resultado UPK1B	Resultado previo
14230	34,9	0	-20	35,4	-0,5	sano	Neg	Neg	
14231	37,1	0	-20	0	-20	sano	Neg	Neg	
14234	37,9	0	-20	0	-20	sano	Neg	Neg	
14235	37,1	0	-20	0	-20	sano	Neg	Neg	
14236	35,6	0	-20	0	-20	sano	Neg	Neg	
14237	37,3	0	-20	0	-20	sano	Neg	Neg	
14238	35,9	0	-20	0	-20	sano	Neg	Neg	
165010	36,6	0	-20	0	-20	sano	Neg	Neg	Neg
165017	38,1	0	-20	0	-20	sano	Neg	Neg	Neg
165026	38,8			0	-20	sano		Neg	Neg
165044	38,2			0	-20	sano		Neg	Neg
165046	37,4	38,1	-0,7	0	-20	sano	Pos	Neg	Neg
CPHD-021	36,6	0	-20	0	-20	sano	Neg	Neg	Neg
CPHD-031	38,5	0	-20	0	-20	sano	Neg	Neg	Neg
75171	34,4	36,3	-1,9	0	-20	SCI	Pos	Neg	
75178	35,8	40,5	-4,7	34,3	1,5	SCI	Neg	Neg	
75179	35,3	0	-20	34,3	1	SCI	Neg	Neg	
75194	36,7	0	-20	0	-20	SCI	Neg	Neg	
75210	37	37,2	-0,2	35,3	1,7	SCI	Pos	Pos	
75217	33,5	44,7	-11	27,7	5,8	SCI	Neg	Pos	
75225	34	0	-20	0	-20	SCI	Neg	Neg	
75230	34,1	0	-20	33,8	0,3	SCI, UTI	Neg	Neg	
67054	37,2	40,3	-3,1	35	2,2	HG	Pos	Pos	Pos
67111	34,1	0	-20	30,6	3,5	HG	Neg	Pos	Pos
75144	34,7	38,8	-4,1			HG	Pos		
75144	35,2			34,4	0,8	HG		Neg	
75151	31,6	33,6	-2			HG	Pos		
75151	31,8			26,4	5,4	HG		Pos	
75170	29,4	30,4	-1			HG	Pos		
75170	29,6			25	4,6	HG		Pos	
75203	32,1	35,9	-3,8			HG	Pos		

(continúa)

	ABL	AR		UPK1B					
Muestra ID	Ct	Ct	ΔCt	Ct	ΔCt	Estado	Resultado AR	Resultado UPK1B	Resultado previo
75203	32,4			27,1	5,3	HG		Pos	
75417	32,6	32,9	-0,3			HG	Pos		Falso Neg
75417	33,8			31,7	2,1	HG		Pos	Falso Neg
75462	36,9	0	-20			HG	Neg		Débil pos
75462	35,7			34	1,7	HG		Pos	Débil pos
75470	33,2	33,5	-0,3			HG	Pos		Débil pos
75470	34,5			30,5	4	HG		Pos	Débil pos
75540	32,5	32,7	-0,2	25,9	6,6	HG	Pos		Pos
165013	37,1	38,9	-1,8			HG	Pos		Débil pos
165013	38,7			36,5	2,2	HG		Pos	Débil pos
165099	37,5	0	-20			HG	Neg		Falso Neg
67010	34,1	0	-20			LG	Neg		Falso Neg
67010	34,5			0	-20	LG		Neg	Falso Neg
67011	35	39,8	-4,8			LG	Neg		Pos
67011	35,3			30,2	5,1	LG		Pos	
75089	37,1	0	-20			LG	Neg		
75089	36,2			30,5	5,7	LG		Pos	
75101	37,7	41,6	-3,9			LG	Pos		
75101	37,2			33	4,2	LG		Pos	
75245	32,6			29	3,6	LG		Pos	
75444	35,9	37	-1,1			LG	Pos		Débil pos
75444	37,3			33,6	3,7	LG		Pos	Débil pos
75475	33,9	34,4	-0,5	30,4	3,5	LG	Pos	Pos	Falso Neg
75483	34,6	34,5	0,1	31,5	3,1	LG	Pos	Pos	Falso Neg
75485	34,3	34,6	-0,3	30,5	3,8	LG	Pos	Pos	Falso Neg
75519	35,1	35,1	0	31,8	3,3	LG	Pos	Pos	Falso Neg
75539	37,6	36,8	0,8	31,2	6,4	LG	Pos	Pos	Falso Neg
165049	37,9	0	-20	0	-20	LG	Neg	Neg	Falso Neg
165062	38,7			0	-20	LG		Neg	Falso Neg
165098	37,8	0	-20	0	-20	LG	Neg	Neg	Falso Neg

SCI = Lesión de médula espinal
UTI = Infección de tracto urinario
HG = Cáncer de vejiga de alto grado
LG = Cáncer de vejiga de bajo grado

[0238] Utilizando cualquiera de AR o UPK1B como un marcador de cáncer de vejiga, al menos seis muestras fueron identificados como positivos para cáncer de vejiga que había sido previamente identificado como falsos negativos utilizando el panel de cuatro marcador descrito anteriormente.

[0239] La sensibilidad y la especificidad para detectar el cáncer de vejiga con AR o UPK1B se muestran en la Tabla 14.

Tabla 14: Sensibilidad y especificidad.

AR		UPK1B	
Sensibilidad	Especificidad	Sensibilidad	Especificidad
n = 24 cáncer de vejiga	n = 20 sano	n = 25 cáncer de vejiga	n = 22 sano
67%	85%	80%	90,9%

[0240] Veintitrés muestras de cáncer de vejiga de grado alto y bajo se analizaron con AR y UPK1B. La sensibilidad de la combinación de AR y UPK1B (considerando tanto los positivos únicos como los dobles positivos como resultados positivos) para las muestras analizadas es del 87%.

[0241] Algunas de las muestras tenían niveles más bajos ABL, lo que indica que puede haber un bajo número de células en la muestra. En muestras con un ABL Ct de menos de 36, la sensibilidad de ambos marcadores aumenta, como se muestra en la Tabla 15.

Tabla 15: Sensibilidad y especificidad en muestras con ABL Ct <36

AR		**UPK1B**	
Sensibilidad	Especificidad	Sensibilidad	Especificidad
n = 15 cáncer de vejiga	n = 9 sano	n = 16 cáncer de vejiga	n = 9 sano
80%	88,9%	87,5%	88,9%

5.5. Ejemplo 5: Detección de cáncer de vejiga usando marcadores adicionales

[0242] Para determinar la combinación de marcadores que daría la mejor sensibilidad para el cáncer de vejiga mientras que se mantiene la especificidad con muestras normales en un 95% como razonable, el ensayo de vejiga Xpert se adaptó para evaluar los niveles de expresión de marcadores adicionales. Se formuló una nueva perla de reactivo que contenía cebadores y sondas para AR, ABL, PIK3CA, UPK1B, UPK2 y MGEA5 y se ensamblaron los cartuchos para que cada muestra de orina pudiera analizarse en cada uno de los dos ensayos y se recogió información de expresión sobre un total de 10 marcadores.

[0243] Las secuencias de cebador y sonda se muestran en la Tabla 16,

Tabla 16: Secuencias de cebadores y sondas

Nombre de oligo	**Diana**	**Secuencia**	**Conc. final en ensayo**	**SEQ ID NO**
ABLa3a4 PrmrFwd4	ABL	GATCAACACTGCTTCTGATGGCAA	400 nM	8
ABLa3a4 PrmrRev1	ABL	CCACCGTTGAATGATGATGAACCAA	400 nM	9
ABL_F5	ABL	F5-CCTCCGAGAGCCGCTTCAAC-Q5	200 nM	10
MGEA5_For2	MGEA5	CATCTATGCGATCTCACCTGGA	400 nM	62
MGEA5_Rev2	MGEA5	CACCCAAACTGAGAAACCTGG	400 nM	63
MGEA5_Sonda2_F4	MGEA5	F4-TCTAACCCCAAGGAAGTATCCACATTGA-Q4	200 nM	64
PIK3A_For	PIK3A	GTCCTCTGCAAAAAGGCCACTG	400 nM	65
PIK3A_Rev	PIK3A	CTTGCCGTAAATCATCCCCAT	400 nM	66
PIK3A_Sonda_F3	PIK3A	F3-AGAACCCAGACATCATGTCAGAGTTACTGT-Q3	60 nM	67
AR_For4	AR	TCGAATGAACTACATCAAGGAACT	400 nM	68
AR_Rev3	AR	GCAGCTCTCTCGCAATAGG	400 nM	69
AR_Sonda4_F6	AR	F6-TGCTCAAGACGCTTCTACCAGCT-Q6	400 nM	70
UPK1B_For	UPK1B	CGGACTGAGAATAATGATGCTGA	400 nM	71
UPK1B_Rev	UPK1B	GATCAGTTCATAGCAGCCCTG	400 nM	72
UPK1B_F1(3)	UPK1B	F1-TCTCAACCTGGAGGCTTGTAAACTAGG-Q1	400 nM	73
UPK2_For2	UPK2	CAATGTCCACACTCCCTCGAAG	400 nM	74
UPK2_Rev2	UPK2	AGGAACATGGCGACAGAGAG	400 nM	75
UPK2_Sonda2_F2	UPK2	F2-TGGGTATGGCCCGCACAGG-Q2	300 nM	76
F1 a F6 son tintes diferentes detectables que pueden detectarse y distinguirse simultáneamente en una reacción múltiplex, y Q1 a Q6 son inhibidores (en el presente ejemplo, Q3 y Q4 son el mismo desactivador y Q4 y Q5 son el mismo desactivador).				

[0244] Cada reacción contenía 50-90 mM de KCl, 3-5 mM de $MgCl_2$, 400 a 825 µM de dNTP, 20 mM de Tris, pH 8,5, 0,01% de azida de sodio, y 0,9 unidades/µl de inhibidor de RNasa. La transcriptasa inversa MMLV (0,375 unidades/µl) y AptaTaq (0,25 unidades/µl; Roche) se utilizaron para la transcripción inversa y la amplificación, respectivamente.

[0245] Para cada muestra a analizar, se agregaron 4,5 ml de orina vaciada a 4,5 ml de conservante (3,5M guanidina HCl, 1% N-acetilo-L-cisteína, 25 mM de citrato de sodio y 2.5% de Tween-20, pH 3.2), preferiblemente dentro de 1

hora de la recolección de la muestra. El contenedor se invirtió tres veces para mezclar. Las muestras conservadas se transportaron en hielo y se almacenaron a 2-8°C. La información clínica para cada muestra fue proporcionada por los sitios de recolección.

[0246] Un resumen de las muestras ensayadas se muestra en la Tabla 17.

Tabla 17: Resumen de muestras

Población	Estado del paciente	Nº de muestras
Detección	Biopsia Positiva de Alto Grado	25
	Biopsia Positiva de Bajo Grado	9
	Biopsia Positiva CIS	2
	Cistoscopia Negativa	57
	Parche eritematoso (incluido en el grupo cisto negativo)	3
Monitoreo	Biopsia Positiva de Alto Grado	30
	Biopsia Positiva de Bajo Grado	18
	Biopsia Positiva CIS	7
	Cistoscopia Negativa	47
	Parche eritematoso (incluido en el grupo cisto negativo)	3
Normal	Normal	45
	ITU (incluida en el grupo normal)	2
Población de detección = sujetos con hematuria y sin antecedentes de cáncer de vejiga. Monitoreo de población = sujetos con antecedentes de cáncer de vejiga Normal = sujetos sin hematuria y sin antecedentes de cáncer de vejiga		

[0247] Antes de su uso, la orina conservada se invirtió tres veces para mezclar. Se cargaron 4 ml de orina conservada en un cartucho GeneXpert para su análisis. El cartucho contenía un filtro de 0,8 µM para capturar las células uroteliales. Las células capturadas se lavaron y se lisaron utilizando sonicación (2-15 segundos, 8-16 µM a 36 kHz) dentro del cartucho. El lisado se usó luego para reconstituir los reactivos utilizados para la TA-PCR en tiempo real (descrito anteriormente). El ciclo de reacción utilizado fue: 10 minutos a 45°C, seguido de 2 minutos a 95°C y luego 45 ciclos de (a) 5 segundos a 95°C, 20 segundos a 60°C y 20 segundos a 72°C, usando un cartucho GeneXpert® en un sistema GeneXpert®. Delta C_t (ΔCt) se calculó como C_t (ABL) - C_t (marcador). El límite de ΔCt se estableció como el ΔCt que dio al menos una especificidad del 95% con muestras de pacientes que no se espera que tengan cáncer de vejiga. Un ΔCt por encima del límite de ΔCt para cualquiera de los marcadores se consideró un resultado positivo, indicativo de la presencia de cáncer de vejiga.

[0248] ABL Ct > 36 en el ensayo de cuatro marcadores que se muestra en la Tabla 20 se excluyeron del estudio. ABL Ct > 37 en el ensayo de cinco marcadores que se muestra en la Tabla 21 y en el ensayo de cuatro marcadores que se muestra en la Tabla 22 se excluyeron del estudio. Los valores de corte para la positividad se eligieron para permitir aproximadamente el 95% de especificidad con las muestras normales. Para MGEA5, una célula positiva es un valor diana delta C_t que es menor que el valor de corte, ya que se encontró que este marcador estaba regulado en forma descendente en muestras de orina de pacientes con cáncer de vejiga.

[0249] Se encontró que UPK2 tenía un patrón de expresión similar como ABL, lo que indica que podría ser utilizado como un control endógeno en lugar de ABL (datos no mostrados). Dado que UPK2 es principalmente específico de células uroteliales, las muestras con pocas o ninguna célula urotelial deben tener niveles bajos de ARN de UPK2, por lo que debería ser un control útil de la suficiencia de la muestra.

[0250] La Tabla 18 resume la sensibilidad y la especificidad para cada uno de los nueve marcadores y la Tabla 19 indica cuántas muestras fueron positivas solo por un marcador.

Tabla 18: Sensibilidad y especificidad por marcador individual.

Estado del paciente	N=	AR	PIK3CA	UPK1B	UPK2	MGEA5	ANXA10	KRT20	CRH	IGF2
Especificidad de Cysto Neg	110	109 (99%)	109 (99%)	102 (93%)	105 (95%)	94 (85%)	103 (94%)	99 (90%)	85 (77%)	102 (93%)
Sensibilidad de alto grado	55	7(13%)	0	17(31%)	1(2%)	10 (18%)	17(31%)	27(49%)	43 (78%)	30 (55%)
Sensibilidad de bajo grado	27	8 (30%)	0	10 (37%)	2 (7%)	5 (19%)	6 (22%)	8 (30%)	12 (44%)	12 (44%)
Sensibilidad CIS	9	3 (33%)	0	3 (33%)	0	2 (22%)	1 (11%)	2 (22%)	8 (89%)	2 (22%)
Especificidad normal	47	46 (98%)	45 (96%)	46(98%)	46 (98%)	43 (92%)	46 (98%)	46 (98%)	46 (98%)	47 (100%)

Tabla 19: Número de muestras positivas por un solo marcador

Estado del paciente	N=	AR	PIK3CA	UPK1B	UPK2	MGEA5	ANXA10	KRT20	CRH	IGF2
Sensibilidad de alto grado	55	0	0	0	0	0	0	0	1 (2%)	3 (5%)
Sensibilidad de bajo grado	27	0	0	0	0	2 (7%)	1 (4%)	0	1 (4%)	0
Sensibilidad CIS	9	0	0	0	0	0	0	0	2 (22%)	0

[0251] La Tabla 20 resume las sensibilidades y especificidades para un ensayo de combinación de cuatro marcadores utilizando KRT20, ANXA10, CRH e IGF2. La Tabla 21 resume las sensibilidades y especificidades para un ensayo de combinación de cinco marcadores utilizando KRT20, ANXA10, CRH, IGF2 y UPK1B. La Tabla 22 resume las sensibilidades y especificidades para un ensayo de combinación de cuatro marcadores utilizando UPK1B, ANXA10, CRH e IGF2.

Tabla 20: Sensibilidad y especificidad de la combinación de 4 marcadores de KRT20, ANXA10, CRH e IGF2

		Por este marcador solo en combo de 4 marcadores				
Estado del paciente	**N=**	**KRT20**	**ANXA10**	**CRH**	**IGF2**	**Combo en 4 Marcadores**
Especificidad Cysto Neg	110	105 (95%)	106 (96%)	93 (85%)	109 (99%)	74 (67%)
Sensibilidad de alto grado	55	0	0	7 (13%)	4 (7%)	51 (93%)
Sensibilidad de bajo grado	27	0	1 (4%)	4 (15%)	1 (4%)	19 (70%)
Sensibilidad CIS	9	0	0	5 (56%)	0	8 (89%)
Especificidad normal	47	46 (98%)	46 (98%)	46 (98%)	47 (100%)	44 (94%)

Tabla 21: Sensibilidad y especificidad de la combinación de 5 marcadores de KRT20, ANXA10, CRH, IGF2 y UPK1B

		Por este marcador solo en combo de 5 marcadores					
Estado del paciente	**N=**	**KRT20**	**UPK1B**	**ANXA10**	**CRH**	**IGF2**	**Combo en 5 Marcadores**
Especificidad Cysto Neg	110	106 (96%)	108 (98%)	106 (96%)	94 (85%)	109 (99%)	72 (65%)
Sensibilidad de alto grado	55	0	0	0	4 (7%)	4 (7%)	51 (93%)
Sensibilidad de bajo grado	27	0	3 (11 %)	1 (4%)	2 (7%)	0	22 (81%)
Sensibilidad CIS	9	0	1 (11%)	0	4 (44%)	0	9 (100%)
Especificidad normal	47	46 (98%)	46 (98%)	46 (98%)	46 (98%)	47 (100%)	44 (94%)

Tabla 22: Sensibilidad y especificidad 4 combinación de marcadores de ANXA10, CRH, IGF2 y UPK1B

		Por este marcador solo en combo de 4 marcadores				
Estado del paciente	**N=**	**UPK1B**	**ANXA10**	**CRH**	**IGF2**	**Combo en 4 Marcadores**
Especificidad Cysto Neg	110	107 (97%)	107 (97%)	95 (86%)	109 (99%)	76(69%)
Sensibilidad de alto grado	55	0	0	8 (15%)	4 (7%)	51 (93%)
Sensibilidad de bajo grado	27	3 (11%)	1 (4%)	4 (15%)	1 (4%)	22 (81%)
Sensibilidad CIS	9	1 (11%)	0	4 (44%)	0	9 (100%)
Especificidad normal	47	46 (98%)	46 (98%)	46 (98%)	47 (100%)	44 (94%)

[0252] La adición de UPK1B, o sustitución de KRT20 con UPK1B, mejoró la sensibilidad del ensayo para un bajo grado y CIS. El reemplazo de KRT20 con UPK1B también mejoró la especificidad con pacientes con cistoscopias negativas de 67% a 69% en comparación con el ensayo de combinación de 4 marcadores con KRT20.

TABLA DE CIERTAS SECUENCIAS

SEQ ID NO	**Descripción**	**Secuencia**
1	ARNm de CRH humana	TCGTTCCTTG GCAGGGCCCT ATGATTTATG CAGGAGCAGA GGCAGCACGC AATCGAGCTG TCAAGAGAGC GTCAGCTTAT TAGGCAAATG CTGCGTGGTT TTTGAAGAGG GTCGACACTA TAAAATCCCA CTCCAGGCTC TGGAGTGGAG AAACTCAGAG ACCAAGTCCA TTGAGAGACT GAGGGGAAAG AGAGGAGAGA AAGAAAAAGA GAGTGGGAAC AGTAAAGAGA AAGGAAGACA ACCTCCAGAG AAAGCCCCCG GAGACGTCTC TCTGCAGAGA GGCGGCAGCA CCCGGCTCAC CTGCGAAGCG CCTGGGAAGC GAGTGCCCCT AACATGCGGC TGCCGCTGCT TGTGTCCGCG GGAGTCCTGC TGGTGGCTCT CCTGCCCTGC CCGCCATGCA GGGCGCTCCT GAGCCGCGGG CCGGTCCCGG GAGCTCGGCA GGCGCCGCAG CACCCTCAGC CCTTGGATTT CTTCCAGCCG CCGCCGCAGT CCGAGCAGCC CCAGCAGCCG CAGGCTCGGC CGGTCCTGCT CCGCATGGGA GAGGAGTACT TCCTCCGCCT GGGGAACCTC AACAAGAGCC CGGCCGCTCC CCTTTCGCCC GCCTCCTCGC TCCTCGCCGG AGGCAGCGGC AGCCGCCCTT CGCCGGAACA GGCGACCGCC AACTTTTTCC GCGTGTTGCT GCAGCAGCTG CTGCTGCCTC GGCGCTCGCT CGACAGCCCC GCGGCTCTCG CGGAGCGCGG CGCTAGGAAT GCCCTCGGCG GCCACCAGGA GGCACCGGAG AGAGAAAGGC GGTCCGAGGA GCCTCCCATC TCCCTGGATC TCACCTTCCA CCTCCTCCGG GAAGTCTTGG AAATGGCCAG GGCCGAGCAG TTAGCACAGC AAGCTCACAG CAACAGGAAA CTCATGGAGA TTATTGGGAA ATAAAACGGT GCGTTTGGCC AAAAAGAATC TGCATTTAGC ACAAAAAAAA TTTAAAAAAA TACAGTATTC TGTACCATAG CGCTGCTCTT ATGCCATTTG TTTATTTTTA TATAGCTTGA AACATAGAGG GAGAGAGGGA GAGAGCCTAT ACCCCTTACT TAGCATGCAC AAAGTGTATT CACGTGCAGC AGCAACACAA TGTTATTCGT TTTGTCTACG TTTAGTTTCC GTTTCCAGGT GTTTATAGTG GTGTTTTAAA GAGAATGTAG ACCTGTGAGA AAACGTTTTG TTTGAAAAAG CAGACAGAAG TCACTCAATT GTTTTTGTTG TGGTCTGAGC CAAAGAGAAT GCCATTCTCT TGGGTGGGTA AGACTAAATC TGTAAGCTCT TTGAAACAAC TTTCTCTTGT AAACGTTTCA GTAATAAAAC ATCTTTCCAG TCCTTGGTCA GTTTGGTTGT GTAAGAGAAT GTTGAATACT TATATTTTTA ATAAAAGTTG CAAAGGTAAT CATG

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
2	ARNm de IGF2 humana, variante de transcripto 2	CCGCTAATGT ACCATGCCCT GGTGCTGGAA AGTGCCTGAG CCAGCTGCCC CAGCGGCCTC AGCACTACCA AGTTGGCACA AAGCTCCCCA AATTCGGAGG GGCTCAGGGA AACGAGTGGA GGGGATGAGG AGGTGAGGGG TAAACCCATC ATTTCAGTTG GCATTTGAGC AGGTGCCATG CTCAGCGGAG ATGAGGCTCT CCCATCTGTA GGGGCCGTAT TAACATGCAC ACTCTAAAAG TGCCCTTCGT TTCTCCAGCC TCAGCTTTGT CCCTCTCCTC CTCCACGTCA ACCTGGCCAG AGGGTCTGGA CGCCACAGCC AGGGCACCCC CTGCTTTGGT GGTGACTGCT AATATTGGCC AGGCCGGCGG ATCATCGTCC AGGCAGTTTC GGCAGAGAGC CTTGGGCACC AGTGACTCCC CGGTCCTCTT TATCCACTGT CCAGGAGCTG CGGGGACTGC GCAGGGACTA GAGTACAGGG GCCGAAGAGT CACCACCGAG CTTGTGTGGG AGGAGGTGGA TTCCAGCCCC CAGCCCCAGG GCTCTGAATC GCTGCCAGCT CAGCCCCCTG CCCAGCCTGC CCCACAGCCT GAGCCCCAGC AGGCCAGAGA GCCCAGTCCT GAGGTGAGCT GCTGTGGCCT GTGGCCCAGG CGACCCCAGC GCTCCCAGAA CTGAGGCTGG CAGCCAGCCC CAGCCTCAGC CCCAACTGCG AGGCAGAGAG ACACCAATGG GAATCCCAAT GGGGAAGTCG ATGCTGGTGC TTCTCACCTT CTTGGCCTTC GCCTCGTGCT GCATTGCTGC TTACCGCCCC AGTGAGACCC TGTGCGGCGG GGAGCTGGTG GACACCCTCC AGTTCGTCTG TGGGGACCGC GGCTTCTACT TCAGCAGGCC CGCAAGCCGT GTGAGCCGTC GCAGCCGTGG CATCGTTGAG GAGTGCTGTT TCCGCAGCTG TGACCTGGCC CTCCTGGAGA CGTACTGTGC TACCCCCGCC AAGTCCGAGA GGGACGTGTC GACCCCTCCG ACCGTGCTTC CGGACAACTT CCCCAGATAC CCCGTGGGCA AGTTCTTCCA ATATGACACC TGGAAGCAGT CCACCCAGCG CCTGCGCAGG GGCCTGCCTG CCCTCCTGCG TGCCCGCCGG GGTCACGTGC TCGCCAAGGA GCTCGAGGCG TTCAGGGAGG CCAAACGTCA CCGTCCCCTG ATTGCTCTAC CCACCCAAGA CCCCGCCCAC GGGGGCGCCC CCCCAGAGAT GGCCAGCAAT CGGAAGTGAG CAAAACTGCC GCAAGTCTGC AGCCCGGCGC CACCATCCTG CAGCCTCCTC CTGACCACGG ACGTTTCCAT CAGGTTCCAT CCCGAAAATC TCTCGGTTCC ACGTCCCCCT GGGGCTTCTC CTGACCCAGT CCCCGTGCCC CGCCTCCCCG AAACAGGCTA CTCTCCTCGG CCCCCTCCAT CGGGCTGAGG AAGCACAGCA GCATCTTCAA ACATGTACAA AATCGATTGG CTTTAAACAC CCTTCACATA CCCTCCCCCC AAATTATCCC CAATTATCCC CACACATAAA AAATCAAAAC ATTAAACTAA CCCCCTTCCC CCCCCCCCAC AACAACCCTC TTAAAACTAA TTGGCTTTTT AGAAACACCC CACAAAAGCT CAGAAATTGG CTTTAAAAAA AACAACCACC AAAAAAAATC AATTGGCTAA AAAAAAAAAG TATTAAAAAC GAATTGGCTG AGAAACAATT GGCAAAATAA AGGAATTTGG CACTCCCCAC CCCCCTCTTT CTCTTCTCCC TTGGACTTTG AGTCAAATTG GCCTGGACTT GAGTCCCTGA ACCAGCAAAG AGAAAAGAAG GACCCCAGAA ATCACAGGTG GGCACGTCGC TGCTACCGCC ATCTCCCTTC TCACGGGAAT TTTCAGGGTA AACTGGCCAT CCGAAAATAG CAACAACCCA GACTGGCTCC TCACTCCCTT TTCCATCACT AAAAATCACA GAGCAGTCAG AGGGACCCAG TAAGACCAAA GGAGGGGAGG ACAGAGCATG AAAACCAAAA TCCATGCAAA TGAAATGTAA TTGGCACGAC CCTCACCCCC AAATCTTACA TCTCAATTCC CATCCTAAAA AGCACTCATA CTTTATGCAT CCCCGCAGCT ACACACACAC AACACACAGC ACACGCATGA ACACAGCACA CACACGAGCA CAGCACACAC ACAAACGCAC AGCACACACA GCACACAGAT GAGCACACAG CACACACACA AACGCACAGC ACACACACGC ACACACATGC ACACACAGCA CACAAACGCA CGGCACACAC

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		ACGCACACAC ATGCACACAC AGCACACACA CAAACGCACA GCACACACAA ACGCACAGCA CACACGCACA CACAGCACAC ACACGAGCAC ACAGCACACA AACGCACAGC ACACGCACAC ACATGCACAC ACAGCACACA CACTAGCACA CAGCACACAC ACAAAGACAC AGCACACACA TGCACACACA GCACACACAC GCGAACACAG CACACACGAA CACAGCACAC ACAGCACACA CACAAACACA GCACACACAT GCACACAGCA CACGCACACA CAGCACACAC ATGAACACAG CACACAGCAC ACACATGCAC ACACAGCACA CACGCATGCA CAGCACACAT GAACACAGCA CACACACAAA CACACAGCAC ACACATGCAC ACACAGCACA CACACTCATG CGCAGCACAT ACATGAACAC AGCTCACAGC ACACAAACAC GCAGCACACA CGTTGCACAC GCAAGCACCC ACCTGCACAC ACACATGCGC ACACACACGC ACACCCCCAC AAAATTGGAT GAAAACAATA AGCATATCTA AGCAACTACG ATATCTGTAT GGATCAGGCC AAAGTCCCGC TAAGATTCTC CAATGTTTTC ATGGTCTGAG CCCCGCTCCT GTTCCCATCT CCACTGCCCC TCGGCCCTGT CTGTGCCCTG CCTCTCAGAG GAGGGGGCTC AGATGGTGCG GCCTGAGTGT GCGGCCGGCG GCATTTGGGA TACACCCGTA GGGTGGGCGG GGTGTGTCCC AGGCCTAATT CCATCTTTCC ACCATGACAG AGATGCCCTT GTGAGGCTGG CCTCCTTGGC GCCTGTCCCC ACGGCCCCCG CAGCGTGAGC CACGATGCTC CCCATACCCC ACCCATTCCC GATACACCTT ACTTACTGTG TGTTGGCCCA GCCAGAGTGA GGAAGGAGTT TGGCCACATT GGAGATGGCG GTAGCTGAGC AGACATGCCC CCACGAGTAG CCTGACTCCC TGGTGTGCTC CTGGAAGGAA GATCTTGGGG ACCCCCCCAC CGGAGCACAC CTAGGGATCA TCTTTGCCCG TCTCCTGGGG ACCCCCCAAG AAATGTGGAG TCCTCGGGGG CCGTGCACTG ATGCGGGGAG TGTGGGAAGT CTGGCGGTTG GAGGGGTGGG TGGGGGGCAG TGGGGGCTGG GCGGGGGGAG TTCTGGGGTA GGAAGTGGTC CCGGGAGATT TTGGATGGAA AAGTCAGGAG GATTGACAGC AGACTTGCAG AATTACATAG AGAAATTAGG AACCCCCAAA TTTCATGTCA ATTGATCTAT TCCCCCTCTT TGTTTCTTGG GGCATTTTTC CTTTTTTTTT TTTTTTTGTT TTTTTTTTAC CCCTCCTTAG CTTTATGCGC TCAGAAACCA AATTAAACCC CCCCCCCATG TAACAGGGGG GCAGTGACAA AAGCAAGAAC GCACGAAGCC AGCCTGGAGA CCACCACGTC CTGCCCCCCG CCATTTATCG CCCTGATTGG ATTTTGTTTT TCATCTGTCC CTGTTGCTTG GGTTGAGTTG AGGGTGGAGC CTCCTGGGGG GCACTGGCCA CTGAGCCCCC TTGGAGAAGT CAGAGGGGAG TGGAGAAGGC CACTGTCCGG CCTGGCTTCT GGGGACAGTG GCTGGTCCCC AGAAGTCCTG AGGGCGGAGG GGGGGGTTGG GCAGGGTCTC CTCAGGTGTC AGGAGGGTGC TCGGAGGCCA CAGGAGGGGG CTCCTGGCTG GCCTGAGGCT GGCCGGAGGG GAAGGGGCTA GCAGGTGTGT AAACAGAGGG TTCCATCAGG CTGGGGCAGG GTGGCCGCCT TCCGCACACT TGAGGAACCC TCCCCTCTCC CTCGGTGACA TCTTGCCCGC CCCTCAGCAC CCTGCCTTGT CTCCAGGAGG TCCGAAGCTC TGTGGGACCT CTTGGGGGCA AGGTGGGGTG AGGCCGGGGA GTAGGGAGGT CAGGCGGGTC TGAGCCCACA GAGCAGGAGA GCTGCCAGGT CTGCCCATCG ACCAGGTTGC TTGGGCCCCG GAGCCCACGG GTCTGGTGAT GCCATAGCAG CCACCACCGC GGCGCCTAGG GCTGCGGCAG GGACTCGGCC TCTGGGAGGT TTACCTCGCC CCCACTTGTG CCCCCAGCTC AGCCCCCCTG CACGCAGCCC GACTAGCAGT CTAGAGGCCT GAGGCTTCTG GGTCCTGGTG ACGGGGCTGG CATGACCCCG GGGGTCGTCC ATGCCAGTCC GCCTCAGTCG CAGAGGGTCC CTCGGCAAGC GCCCTGTGAG TGGGCCATTC GGAACATTGG ACAGAAGCCC AAAGAGCCAA ATTGTCACAA TTGTGGAACC CACATTGGCC TGAGATCCAA AACGCTTCGA GGCACCCCAA ATTACCTGCC CATTCGTCAG GACACCCACC CACCCAGTGT TATATTCTGC CTCGCCGGAG TGGGTGTTCC CGGGGGCACT TGCCGACCAG CCCCTTGCGT CCCCAGGTTT GCAGCTCTCC CCTGGGCCAC TAACCATCCT GGCCCGGGCT GCCTGTCTGA CCTCCGTGCC TAGTCGTGGC TCTCCATCTT GTCTCCTCCC CGTGTCCCCA ATGTCTTCAG TGGGGGGCCC CCTCTTGGGT CCCCTCCTCT GCCATCACCT GAAGACCCCC ACGCCAAACA CTGAATGTCA CCTGTGCCTG CCGCCTCGGT CCACCTTGCG GCCCGTGTTT GACTCAACTC AACTCCTTTA ACGCTAATAT TTCCGGCAAA ATCCCATGCT TGGGTTTTGT CTTTAACCTT GTAACGCTTG CAATCCCAAT AAAGCATTAA AAGTCATGAA AAAAAAAAAA AAAAAA

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
3	ARNm de IGF2 humana, variante de transcripto 1	CGCCTGTCCC CCTCCCGAGG CCCGGGCTCG CGACGGCAGA GGGCTCCGTC GGCCCAAACC GAGCTGGGCG CCCGCGGTCC GGGTGCAGCC TCCACTCCGC CCCCCAGTCA CCGCCTCCCC CGGCCCCTCG ACGTGGCGCC CTTCCCTCCG CTTCTCTGTG CTCCCCGCGC CCCTCTTGGC GTCTGGCCCC GGCCCCCGCT CTTTCTCCCG CAACCTTCCC TTCGCTCCCT CCCGTCCCCC CCAGCTCCTA GCCTCCGACT CCCTCCCCCC CTCACGCCCG CCCTCTCGCC TTCGCCGAAC CAAAGTGGAT TAATTACACG CTTTCTGTTT CTCTCCGTGC TGTTCTCTCC CGCTGTGCGC CTGCCCGCCT CTCGCTGTCC TCTCTCCCCC TCGCCCTCTC TTCGGCCCCC CCCTTTCACG TTCACTCTGT CTCTCCCACT ATCTCTGCCC CCCTCTATCC TTGATACAAC AGCTGACCTC ATTTCCCGAT ACCTTTTCCC CCCCGAAAAG TACAACATCT GGCCCGCCCC AGCCCGAAGA CAGCCCGTCC TCCCTGGACA ATCAGACGAA TTCTCCCCCC CCCCCCAAAA AAAAGCCATC CCCCCGCTCT GCCCCGTCGC ACATTCGGCC CCCGCGACTC GGCCAGAGCG GCGCTGGCAG AGGAGTGTCC GGCAGGAGGG CCAACGCCCG CTGTTCGGTT TGCGACACGC AGCAGGGAGG TGGGCGGCAG CGTCGCCGGC TTCCAGACAC CAATGGGAAT CCCAATGGGG AAGTCGATGC TGGTGCTTCT CACCTTCTTG GCCTTCGCCT CGTGCTGCAT TGCTGCTTAC CGCCCCAGTG AGACCCTGTG CGGCGGGGAG CTGGTGGACA CCCTCCAGTT CGTCTGTGGG GACCGCGGCT TCTACTTCAG CAGGCCCGCA AGCCGTGTGA GCCGTCGCAG CCGTGGCATC GTTGAGGAGT GCTGTTTCCG CAGCTGTGAC CTGGCCCTCC TGGAGACGTA CTGTGCTACC CCCGCCAAGT CCGAGAGGGA CGTGTCGACC CCTCCGACCG TGCTTCCGGA CAACTTCCCC AGATACCCCG TGGGCAAGTT CTTCCAATAT GACACCTGGA AGCAGTCCAC CCAGCGCCTG CGCAGGGGCC TGCCTGCCCT CCTGCGTGCC CGCCGGGGTC ACGTGCTCGC CAAGGAGCTC GAGGCGTTCA

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		GGGAGGCCAA ACGTCACCGT CCCCTGATTG CTCTACCCAC CCAAGACCCC GCCCACGGGG GCGCCCCCCC AGAGATGGCC AGCAATCGGA AGTGAGCAAA ACTGCCGCAA GTCTGCAGCC CGGCGCCACC ATCCTGCAGC CTCCTCCTGA CCACGGACGT TTCCATCAGG TTCCATCCCG AAAATCTCTC GGTTCCACGT CCCCCTGGGG CTTCTCCTGA CCCAGTCCCC GTGCCCCGCC TCCCCGAAAC AGGCTACTCT CCTCGGCCCC CTCCATCGGG CTGAGGAAGC ACAGCAGCAT CTTCAAACAT GTACAAAATC GATTGGCTTT AAACACCCTT CACATACCCT CCCCCCAAAT TATCCCCAAT TATCCCCACA CATAAAAAAT CAAAACATTA AACTAACCCC CTTCCCCCCC CCCCACAACA ACCCTCTTAA AACTAATTGG CTTTTTAGAA ACACCCCACA AAAGCTCAGA AATTGGCTTT AAAAAAAACA ACCACCAAAA AAAATCAATT GGCTAAAAAA AAAAAGTATT AAAAACGAAT TGGCTGAGAA ACAATTGGCA AAATAAAGGA ATTTGGCACT CCCCACCCCC CTCTTTCTCT TCTCCCTTGG ACTTTGAGTC AAATTGGCCT GGACTTGAGT CCCTGAACCA GCAAAGAGAA AAGAAGGACC CCAGAAATCA CAGGTGGGCA CGTCGCTGCT ACCGCCATCT CCCTTCTCAC GGGAATTTTC AGGGTAAACT GGCCATCCGA AAATAGCAAC AACCCAGACT GGCTCCTCAC TCCCTTTTCC ATCACTAAAA ATCACAGAGC AGTCAGAGGG ACCCAGTAAG ACCAAAGGAG GGGAGGACAG AGCATGAAAA CCAAAATCCA TGCAAATGAA ATGTAATTGG CACGACCCTC ACCCCCAAAT CTTACATCTC AATTCCCATC CTAAAAAGCA CTCATACTTT ATGCATCCCC GCAGCTACAC ACACACAACA CACAGCACAC GCATGAACAC AGCACACACA CGAGCACAGC ACACACACAA ACGCACAGCA CACACAGCAC ACAGATGAGC ACACAGCACA CACACAAACG CACAGCACAC ACACGCACAC ACATGCACAC ACAGCACACA AACGCACGGC ACACACACGC ACACACATGC ACACACAGCA CACACACAAA CGCACAGCAC ACACAAACGC ACAGCACACA CGCACACACA GCACACACAC GAGCACACAG CACACAAACG CACAGCACAC GCACACACAT GCACACACAG CACACACACT AGCACACAGC ACACACACAA AGACACAGCA CACACATGCA CACACAGCAC ACACACGCGA ACACAGCACA CACGAACACA GCACACACAG CACACACACA AACACAGCAC ACACATGCAC ACAGCACACG CACACACAGC ACACACATGA ACACAGCACA CAGCACACAC ATGCACACAC AGCACACACG CATGCACAGC ACACATGAAC ACAGCACACA CACAAACACA CAGCACACAC ATGCACACAC AGCACACACA CTCATGCGCA GCACATACAT GAACACAGCT CACAGCACAC AAACACGCAG CACACACGTT GCACACGCAA GCACCCACCT GCACACACAC ATGCGCACAC ACACGCACAC CCCCACAAAA TTGGATGAAA ACAATAAGCA TATCTAAGCA ACTACGATAT CTGTATGGAT CAGGCCAAAG TCCCGCTAAG ATTCTCCAAT GTTTTCATGG TCTGAGCCCC GCTCCTGTTC CCATCTCCAC TGCCCCTCGG CCCTGTCTGT GCCCTGCCTC TCAGAGGAGG GGGCTCAGAT GGTGCGGCCT GAGTGTGCGG CCGGCGGCAT TTGGGATACA CCCGTAGGGT GGGCGGGGTG TGTCCCAGGC CTAATTCCAT CTTTCCACCA TGACAGAGAT GCCCTTGTGA GGCTGGCCTC CTTGGCGCCT GTCCCCACGG CCCCCGCAGC GTGAGCCACG ATGCTCCCCA TACCCCACCC ATTCCCGATA CACCTTACTT ACTGTGTGTT GGCCCAGCCA GAGTGAGGAA GGAGTTTGGC CACATTGGAG ATGGCGGTAG CTGAGCAGAC ATGCCCCCAC GAGTAGCCTG ACTCCCTGGT GTGCTCCTGG AAGGAAGATC TTGGGGACCC CCCCACCGGA GCACACCTAG GGATCATCTT TGCCCGTCTC CTGGGGACCC CCCAAGAAAT GTGGAGTCCT CGGGGGCCGT GCACTGATGC GGGGAGTGTG GGAAGTCTGG CGGTTGGAGG GGTGGGTGGG GGGCAGTGGG GGCTGGGCGG GGGGAGTTCT GGGGTAGGAA GTGGTCCCGG GAGATTTTGG ATGGAAAAGT CAGGAGGATT GACAGCAGAC TTGCAGAATT ACATAGAGAA ATTAGGAACC CCCAAATTTC ATGTCAATTG ATCTATTCCC CCTCTTTGTT TCTTGGGGCA TTTTTCCTTT TTTTTTTTTT TTTGTTTTTT TTTTACCCCT CCTTAGCTTT ATGCGCTCAG AAACCAAATT AAACCCCCCC CCCATGTAAC AGGGGGGCAG TGACAAAAGC AAGAACGCAC GAAGCCAGCC TGGAGACCAC CACGTCCTGC CCCCCGCCAT TTATCGCCCT GATTGGATTT TGTTTTTCAT CTGTCCCTGT TGCTTGGGTT GAGTTGAGGG TGGAGCCTCC TGGGGGGCAC TGGCCACTGA GCCCCCTTGG AGAAGTCAGA GGGGAGTGGA GAAGGCCACT GTCCGGCCTG GCTTCTGGGG ACAGTGGCTG GTCCCCAGAA GTCCTGAGGG CGGAGGGGGG GGTTGGGCAG GGTCTCCTCA GGTGTCAGGA GGGTGCTCGG AGGCCACAGG AGGGGGCTCC TGGCTGGCCT GAGGCTGGCC GGAGGGGAAG GGGCTAGCAG GTGTGTAAAC AGAGGGTTCC ATCAGGCTGG GGCAGGGTGG CCGCCTTCCG CACACTTGAG GAACCCTCCC CTCTCCCTCG GTGACATCTT GCCCGCCCCT CAGCACCCTG CCTTGTCTCC AGGAGGTCCG AAGCTCTGTG GGACCTCTTG GGGGCAAGGT GGGGTGAGGC CGGGGAGTAG GGAGGTCAGG CGGGTCTGAG CCCACAGAGC AGGAGAGCTG CCAGGTCTGC CCATCGACCA GGTTGCTTGG GCCCCGGAGC CCACGGGTCT GGTGATGCCA TAGCAGCCAC CACCGCGGCG CCTAGGGCTG CGGCAGGGAC TCGGCCTCTG GGAGGTTTAC CTCGCCCCCA CTTGTGCCCC CAGCTCAGCC CCCCTGCACG CAGCCCGACT AGCAGTCTAG AGGCCTGAGG CTTCTGGGTC CTGGTGACGG GGCTGGCATG ACCCCGGGGG TCGTCCATGC CAGTCCGCCT CAGTCGCAGA GGGTCCCTCG GCAAGCGCCC TGTGAGTGGG CCATTCGGAA CATTGGACAG AAGCCCAAAG AGCCAAATTG TCACAATTGT GGAACCCACA TTGGCCTGAG ATCCAAAACG CTTCGAGGCA CCCCAAATTA CCTGCCCATT CGTCAGGACA CCCACCCACC CAGTGTTATA TTCTGCCTCG CCGGAGTGGG TGTTCCCGGG GGCACTTGCC GACCAGCCCC TTGCGTCCCC AGGTTTGCAG CTCTCCCCTG GGCCACTAAC CATCCTGGCC CGGGCTGCCT GTCTGACCTC CGTGCCTAGT CGTGGCTCTC CATCTTGTCT CCTCCCCGTG TCCCCAATGT CTTCAGTGGG GGGCCCCCTC TTGGGTCCCC TCCTCTGCCA TCACCTGAAG ACCCCCACGC CAAACACTGA ATGTCACCTG TGCCTGCCGC CTCGGTCCAC CTTGCGGCCC GTGTTTGACT CAACTCAACT CCTTTAACGC TAATATTTCC GGCAAAATCC CATGCTTGGG TTTTGTCTTT AACCTTGTAA CGCTTGCAAT CCCAATAAAG CATTAAAAGT CATGAAAAAA AAAAAAAAAA AA

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
4	IGF2 humana	GGCCGCGCGC CCTCAGGACG TGGACAGGGA GGGCTTCCCC GTGTCCAGGA AAGCGACCGG

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
	ARNm, variante de transcripción 3	GCATTGCCCC CAGTCTCCCC CAAATTTGGG CATTGTCCCC GGGTCTTCCA ACGGACTGGG CGTTGCTCCC GGACACTGAG GACTGGCCCC GGGGTCTCGC TCACCTTCAG CAGCGTCCAC CGCCTGCCAC AGAGCGTTCG ATCGCTCGCT GCCTGAGCTC CTGGTGCGCC CGCGGACGCA GCCTCCAGCT TCGCGGAGAT GGTTTCCCCA GACCCCCAAA TTATCGTGGT GGCCCCCGAG ACCGAACTCG CGTCTATGCA AGTCCAACGC ACTGAGGACG GGGTAACCAT TATCCAGATA TTTTGGGTGG GCCGCAAAGG CGAGCTACTT AGACGCACCC CGGTGAGCTC GGCCATGCAG ACACCAATGG GAATCCCAAT GGGGAAGTCG ATGCTGGTGC TTCTCACCTT CTTGGCCTTC GCCTCGTGCT GCATTGCTGC TTACCGCCCC AGTGAGACCC TGTGCGGCGG GGAGCTGGTG GACACCCTCC AGTTCGTCTG TGGGGACCGC GGCTTCTACT TCAGCAGGCC CGCAAGCCGT GTGAGCCGTC GCAGCCGTGG CATCGTTGAG GAGTGCTGTT TCCGCAGCTG TGACCTGGCC CTCCTGGAGA CGTACTGTGC TACCCCCGCC AAGTCCGAGA GGGACGTGTC GACCCCTCCG ACCGTGCTTC CGGACAACTT CCCCAGATAC CCCGTGGGCA AGTTCTTCCA ATATGACACC TGGAAGCAGT CCACCCAGCG CCTGCGCAGG GGCCTGCCTG CCCTCCTGCG TGCCCGCCGG GGTCACGTGC TCGCCAAGGA GCTCGAGGCG TTCAGGGAGG CCAAACGTCA CCGTCCCCTG ATTGCTCTAC CCACCCAAGA CCCCGCCCAC GGGGGCGCCC CCCCAGAGAT GGCCAGCAAT CGGAAGTGAG CAAAACTGCC GCAAGTCTGC AGCCCGGCGC CACCATCCTG CAGCCTCCTC CTGACCACGG ACGTTTCCAT CAGGTTCCAT CCCGAAAATC TCTCGGTTCC ACGTCCCCCT GGGGCTTCTC CTGACCCAGT CCCCGTGCCC CGCCTCCCCG AAACAGGCTA CTCTCCTCGG CCCCCTCCAT CGGGCTGAGG AAGCACAGCA GCATCTTCAA ACATGTACAA AATCGATTGG CTTTAAACAC CCTTCACATA CCCTCCCCCC AAATTATCCC CAATTATCCC CACACATAAA AAATCAAAAC ATTAAACTAA CCCCCTTCCC CCCCCCCCAC AACAACCCTC TTAAAACTAA TTGGCTTTTT AGAAACACCC CACAAAAGCT CAGAAATTGG CTTTAAAAAA AACAACCACC AAAAAAAATC AATTGGCTAA AAAAAAAAAG TATTAAAAAC GAATTGGCTG AGAAACAATT GGCAAAATAA AGGAATTTGG CACTCCCCAC CCCCCTCTTT CTCTTCTCCC TTGGACTTTG AGTCAAATTG GCCTGGACTT GAGTCCCTGA ACCAGCAAAG AGAAAAGAAG GACCCCAGAA ATCACAGGTG GGCACGTCGC TGCTACCGCC ATCTCCCTTC TCACGGGAAT TTTCAGGGTA AACTGGCCAT CCGAAAATAG CAACAACCCA GACTGGCTCC TCACTCCCTT TTCCATCACT AAAAATCACA GAGCAGTCAG AGGGACCCAG TAAGACCAAA GGAGGGGAGG ACAGAGCATG AAAACCAAAA TCCATGCAAA TGAAATGTAA TTGGCACGAC CCTCACCCCC AAATCTTACA TCTCAATTCC CATCCTAAAA AGCACTCATA CTTTATGCAT CCCCGCAGCT ACACACACAC AACACACAGC ACACGCATGA ACACAGCACA CACACGAGCA CAGCACACAC ACAAACGCAC AGCACACACA GCACACAGAT GAGCACACAG CACACACACA AACGCACAGC ACACACACGC ACACACATGC ACACACAGCA CACAAACGCA CGGCACACAC ACGCACACAC ATGCACACAC AGCACACACA CAAACGCACA GCACACACAA ACGCACAGCA CACACGCACA CACAGCACAC ACACGAGCAC ACAGCACACA AACGCACAGC ACACGCACAC ACATGCACAC ACAGCACACA CACTAGCACA CAGCACACAC ACAAAGACAC AGCACACACA TGCACACACA GCACACACAC GCGAACACAG CACACACGAA CACAGCACAC ACAGCACACA CACAAACACA GCACACACAT GCACACAGCA CACGCACACA CAGCACACAC ATGAACACAG CACACAGCAC ACACATGCAC ACACAGCACA CACGCATGCA CAGCACACAT GAACACAGCA CACACACAAA CACACAGCAC ACACATGCAC ACACAGCACA CACACTCATG CGCAGCACAT ACATGAACAC AGCTCACAGC ACACAAACAC GCAGCACACA CGTTGCACAC GCAAGCACCC ACCTGCACAC ACACATGCGC ACACACACGC ACACCCCCAC AAAATTGGAT GAAAACAATA AGCATATCTA AGCAACTACG ATATCTGTAT GGATCAGGCC AAAGTCCCGC TAAGATTCTC CAATGTTTTC ATGGTCTGAG CCCCGCTCCT GTTCCCATCT CCACTGCCCC TCGGCCCTGT CTGTGCCCTG CCTCTCAGAG GAGGGGGCTC AGATGGTGCG GCCTGAGTGT GCGGCCGGCG GCATTTGGGA TACACCCGTA GGGTGGGCGG GGTGTGTCCC AGGCCTAATT CCATCTTTCC ACCATGACAG AGATGCCCTT GTGAGGCTGG CCTCCTTGGC GCCTGTCCCC ACGGCCCCCG CAGCGTGAGC CACGATGCTC CCCATACCCC ACCCATTCCC GATACACCTT ACTTACTGTG TGTTGGCCCA GCCAGAGTGA GGAAGGAGTT TGGCCACATT GGAGATGGCG GTAGCTGAGC AGACATGCCC CCACGAGTAG CCTGACTCCC TGGTGTGCTC CTGGAAGGAA GATCTTGGGG ACCCCCCCAC CGGAGCACAC CTAGGGATCA TCTTTGCCCG TCTCCTGGGG ACCCCCCAAG AAATGTGGAG TCCTCGGGGG CCGTGCACTG ATGCGGGGAG TGTGGGAAGT CTGGCGGTTG GAGGGGTGGG TGGGGGGCAG TGGGGGCTGG GCGGGGGGAG TTCTGGGGTA GGAAGTGGTC CCGGGAGATT TTGGATGGAA AAGTCAGGAG GATTGACAGC AGACTTGCAG AATTACATAG AGAAATTAGG AACCCCCAAA TTTCATGTCA ATTGATCTAT TCCCCCTCTT TGTTTCTTGG GGCATTTTTC CTTTTTTTTT TTTTTTTGTT TTTTTTTTAC CCCTCCTTAG CTTTATGCGC TCAGAAACCA AATTAAACCC CCCCCCCATG TAACAGGGGG GCAGTGACAA AAGCAAGAAC GCACGAAGCC AGCCTGGAGA CCACCACGTC CTGCCCCCCG CCATTTATCG CCCTGATTGG ATTTTGTTTT TCATCTGTCC CTGTTGCTTG GGTTGAGTTG AGGGTGGAGC CTCCTGGGGG GCACTGGCCA CTGAGCCCCC TTGGAGAAGT CAGAGGGGAG TGGAGAAGGC CACTGTCCGG CCTGGCTTCT GGGGACAGTG GCTGGTCCCC AGAAGTCCTG AGGGCGGAGG GGGGGGTTGG GCAGGGTCTC CTCAGGTGTC AGGAGGGTGC TCGGAGGCCA CAGGAGGGGG CTCCTGGCTG GCCTGAGGCT GGCCGGAGGG GAAGGGGCTA GCAGGTGTGT AAACAGAGGG TTCCATCAGG CTGGGGCAGG GTGGCCGCCT TCCGCACACT TGAGGAACCC TCCCCTCTCC CTCGGTGACA TCTTGCCCGC CCCTCAGCAC CCTGCCTTGT CTCCAGGAGG TCCGAAGCTC TGTGGGACCT CTTGGGGGCA AGGTGGGGTG AGGCCGGGGA GTAGGGAGGT CAGGCGGGTC TGAGCCCACA GAGCAGGAGA GCTGCCAGGT CTGCCCATCG ACCAGGTTGC TTGGGCCCCG GAGCCCACGG GTCTGGTGAT GCCATAGCAG CCACCACCGC GGCGCCTAGG GCTGCGGCAG GGACTCGGCC TCTGGGAGGT TTACCTCGCC

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		CCCACTTGTG CCCCCAGCTC AGCCCCCCTG CACGCAGCCC GACTAGCAGT CTAGAGGCCT GAGGCTTCTG GGTCCTGGTG ACGGGGCTGG CATGACCCCG GGGGTCGTCC ATGCCAGTCC GCCTCAGTCG CAGAGGGTCC CTCGGCAAGC GCCCTGTGAG TGGGCCATTC GGAACATTGG ACAGAAGCCC AAAGAGCCAA ATTGTCACAA TTGTGGAACC CACATTGGCC TGAGATCCAA AACGCTTCGA GGCACCCCAA ATTACCTGCC CATTCGTCAG GACACCCACC CACCCAGTGT TATATTCTGC CTCGCCGGAG TGGGTGTTCC CGGGGGCACT TGCCGACCAG CCCCTTGCGT CCCCAGGTTT GCAGCTCTCC CCTGGGCCAC TAACCATCCT GGCCCGGGCT GCCTGTCTGA CCTCCGTGCC TAGTCGTGGC TCTCCATCTT GTCTCCTCCC CGTGTCCCCA ATGTCTTCAG TGGGGGGCCC CCTCTTGGGT CCCCTCCTCT GCCATCACCT GAAGACCCCC ACGCCAAACA CTGAATGTCA CCTGTGCCTG CCGCCTCGGT CCACCTTGCG GCCCGTGTTT GACTCAACTC AACTCCTTTA ACGCTAATAT TTCCGGCAAA ATCCCATGCT TGGGTTTTGT CTTTAACCTT GTAACGCTTG CAATCCCAAT AAAGCATTAA AAGTCATGAA AAAAAAAAAA AAAAAA
5	ARNm de KRT20 humana	GAGACACACT CTGCCCCAAC CATCCTGAAG CTACAGGTGC TCCCTCCTGG AATCTCCAAT GGATTTCAGT CGCAGAAGCT TCCACAGAAG CCTGAGCTCC TCCTTGCAGG CCCCTGTAGT CAGTACAGTG GGCATGCAGC GCCTCGGGAC GACACCCAGC GTTTATGGGG GTGCTGGAGG CCGGGGCATC CGCATCTCCA ACTCCAGACA CACGGTGAAC TATGGGAGCG ATCTCACAGG CGGCGGGGAC CTGTTTGTTG GCAATGAGAA AATGGCCATG CAGAACCTAA ATGACCGTCT AGCGAGCTAC CTAGAAAAGG TGCGGACCCT GGAGCAGTCC AACTCCAAAC TTGAAGTGCA AATCAAGCAG TGGTACGAAA CCAACGCCCC GAGGGCTGGT CGCGACTACA GTGCATATTA CAGACAAATT GAAGAGCTGC GAAGTCAGAT TAAGGATGCT CAACTGCAAA ATGCTCGGTG TGTCCTGCAA ATTGATAATG CTAAACTGGC TGCTGAGGAC TTCAGACTGA AGTATGAGAC TGAGAGAGGA ATACGTCTAA CAGTGGAAGC TGATCTCCAA GGCCTGAATA AGGTCTTTGA TGACCTAACC CTACATAAAA CAGATTTGGA GATTCAAATT GAAGAACTGA ATAAAGACCT AGCTCTCCTC AAAAAGGAGC ATCAGGAGGA AGTCGATGGC CTACACAAGC ATCTGGGCAA CACTGTCAAT GTGGAGGTTG ATGCTGCTCC AGGCCTGAAC CTTGGCGTCA TCATGAATGA AATGAGGCAG AAGTATGAAG TCATGGCCCA GAAGAACCTT CAAGAGGCCA AAGAACAGTT TGAGAGACAG ACTGCAGTTC TGCAGCAACA GGTCACAGTG AATACTGAAG AATTAAAAGG AACTGAGGTT CAACTAACGG AGCTGAGACG CACCTCCCAG AGCCTTGAGA TAGAACTCCA GTCCCATCTC AGCATGAAAG AGTCTTTGGA GCACACTCTA GAGGAGACCA AGGCCCGTTA CAGCAGCCAG TTAGCCAACC TCCAGTCGCT GTTGAGCTCT CTGGAGGCCC AACTGATGCA GATTCGGAGT AACATGGAAC GCCAGAACAA CGAATACCAT ATCCTTCTTG ACATAAAGAC TCGACTTGAA CAGGAAATTG CTACTTACCG CCGCCTTCTG GAAGGAGAAG ACGTAAAAAC TACAGAATAT CAGTTAAGCA CCCTGGAAGA GAGAGATATA AAGAAAACCA GGAAGATTAA GACAGTCGTG CAAGAAGTAG TGGATGGCAA GGTCGTGTCA TCTGAAGTCA AAGAGGTGGA AGAAAATATC TAAATAGCTA CCAGAAGGAG ATGCTGCTGA GGTTTTGAAA GAAATTTGGC TATAATCTTA TCTTTGCTCC CTGCAAGAAA TCAGCCATAA GAAAGCACTA TTAATACTCT GCAGTGATTA GAAGGGGTGG GGTGGCGGGA ATCCTATTTA TCAGACTCTG TAATTGAATA TAAATGTTTT ACTCAGAGGA GCTGCAAATT GCCTGCAAAA ATGAAATCCA GTGAGCACTA GAATATTTAA AACATCATTA CTGCCATCTT TATCATGAAG CACATCAATT ACAAGCTGTA GACCACCTAA TATCAATTTG TAGGTAATGT TCCTGAAAAT TGCAATACAT TTCAATTATA CTAAACCTCA CAAAGTAGAG GAATCCATGT AAATTGCAAA TAAACCACTT TCTAATTTTT TCCTGTTTCT GAATTGTAAA ACCCCCTTTG GGAGTCCCTG GTTTCTTATT GAGCCAATTT CTGGG

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
6	ARNm de ANXA10 humana	ATCCAGATTT GCTTTTACAT TTTCTTGCCT GAGTCTGAGG TGAACAGTGA ACATATTTAC ATTTGATTTA ACAGTGAACC TTAATTCTTT CTGGCTTCAC AGTGAAACAA GTTTATGCAA TCGATCAAAT ATTTTCATCC CTGAGGTTAA CAATTACCAT CAAAATGTTT TGTGGAGACT ATGTGCAAGG AACCATCTTC CCAGCTCCCA ATTTCAATCC CATAATGGAT GCCCAAATGC TAGGAGGAGC ACTCCAAGGA TTTGACTGTG ACAAAGACAT GCTGATCAAC ATTCTGACTC AGCGCTGCAA TGCACAAAGG ATGATGATTG CAGAGGCATA CCAGAGCATG TATGGCCGGG ACCTGATTGG GGATATGAGG GAGCAGCTTT CGGATCACTT CAAAGATGTG ATGGCTGGCC TCATGTACCC ACCACCACTG TATGATGCTC ATGAGCTCTG GCATGCCATG AAGGGAGTAG GCACTGATGA GAATTGCCTC ATTGAAATAC TAGCTTCAAG AACAAATGGA GAAATTTTCC AGATGCGAGA AGCCTACTGC TTGCAATACA GCAATAACCT CCAAGAGGAC ATTTATTCAG AGACCTCAGG ACACTTCAGA GATACTCTCA TGAACTTGGT CCAGGGGACC AGAGAGGAAG GATATACAGA CCCTGCGATG GCTGCTCAGG ATGCAATGGT CCTATGGGAA GCCTGTCAGC AGAAGACGGG GGAGCACAAA ACCATGCTGC AAATGATCCT GTGCAACAAG AGCTACCAGC AGCTGCGGCT GGTTTTCCAG GAATTTCAAA ATATTTCTGG GCAAGATATG GTAGATGCCA TTAATGAATG TTATGATGGA TACTTTCAGG AGCTGCTGGT TGCAATTGTT CTCTGTGTTC GAGACAAACC AGCCTATTTT GCTTATAGAT TATATAGTGC AATTCATGAC TTTGGTTTCC ATAATAAAAC TGTAATCAGG ATTCTCATTG CCAGAAGTGA AATAGACCTG CTGACCATAA GGAAACGATA CAAAGAGCGA TATGGAAAAT CCCTATTTCA TGATATCAGA AATTTTGCTT CAGGGCATTA TAAGAAAGCA CTGCTTGCCA TCTGTGCTGG TGATGCTGAG GACTACTAAA ATGAAGAGGA CTTGGAGTAC TGTGCACTCC TCTTTCTAGA CACTTCCAAA TAGAGATTTT CTCACAAATT TGTACTGTTC ATGGCACTAT TAACAAAACT ATACAATCAT ATTTTCTCTT CTATCTTTGA AATTATTCTA AGCCAAAGAA AACTATGAAT GAAAGTATAT GATACTGAAT TTGCCTACTA TCCTGAATTT GCCTACTATC TAATCAGCAA TTAAATAAAT TGTGCATGAT GGAATAATAG AAAAATTGCA TTGGAATAGA TTTTATTTAA ATGTGAACCA TCAACAACCT ACAACAA

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
7	ARNm de ABL humana	GGTTGGTGAC TTCCACAGGA AAAGTTCTGG AGGAGTAGCC AAAGACCATC AGCGTTTCCT TTATGTGTGA GAATTGAAAT GACTAGCATT ATTGACCCTT TTCAGCATCC CCTGTGAATA TTTCTGTTTA GGTTTTTCTT CTTGAAAAGA AATTGTTATT CAGCCCGTTT AAAACAAATC AAGAAACTTT TGGGTAACAT TGCAATTACA TGAAATTGAT AACCGCGAAA ATAATTGGAA CTCCTGCTTG CAAGTGTCAA CCTAAAAAAA GTGCTTCCTT TTGTTATGGA AGATGTCTTT CTGTGATTGA CTTCAATTGC TGACTTGTGG AGATGCAGCG AATGTGAAAT CCCACGTATA TGCCATTTCC CTCTACGCTC GCTGACCGTT CTGGAAGATC TTGAACCCTC TTCTGGAAAG GGGTACCTAT TATTACTTTA TGGGGCAGCA GCCTGGAAAA GTACTTGGGG ACCAAAGAAG GCCAAGCTTG CCTGCCCTGC ATTTTATCAA AGGAGCAGGG AAGAAGGAAT CATCGAGGCA TGGGGGTCCA CACTGCAATG TTTTTGTGGA ACATGAAGCC CTTCAGCGGC CAGTAGCATC TGACTTTGAG CCTCAGGGTC TGAGTGAAGC CGCTCGTTGG AACTCCAAGG AAAACCTTCT CGCTGGACCC AGTGAAAATG ACCCCAACCT TTTCGTTGCA CTGTATGATT TTGTGGCCAG TGGAGATAAC ACTCTAAGCA TAACTAAAGG TGAAAAGCTC CGGGTCTTAG GCTATAATCA CAATGGGGAA TGGTGTGAAG CCCAAACCAA AAATGGCCAA GGCTGGGTCC CAAGCAACTA CATCACGCCA GTCAACAGTC TGGAGAAACA CTCCTGGTAC CATGGGCCTG TGTCCCGCAA TGCCGCTGAG TATCTGCTGA GCAGCGGGAT CAATGGCAGC TTCTTGGTGC GTGAGAGTGA GAGCAGTCCT GGCCAGAGGT CCATCTCGCT GAGATACGAA GGGAGGGTGT ACCATTACAG GATCAACACT GCTTCTGATG GCAAGCTCTA CGTCTCCTCC GAGAGCCGCT TCAACACCCT GGCCGAGTTG GTTCATCATC ATTCAACGGT GGCCGACGGG CTCATCACCA CGCTCCATTA TCCAGCCCCA AAGCGCAACA AGCCCACTGT CTATGGTGTG TCCCCCAACT ACGACAAGTG GGAGATGGAA CGCACGGACA TCACCATGAA GCACAAGCTG GGCGGGGGCC AGTACGGGGA GGTGTACGAG GGCGTGTGGA AGAAATACAG CCTGACGGTG GCCGTGAAGA CCTTGAAGGA GGACACCATG GAGGTGGAAG AGTTCTTGAA AGAAGCTGCA GTCATGAAAG AGATCAAACA CCCTAACCTG GTGCAGCTCC TTGGGGTCTG CACCCGGGAG CCCCCGTTCT ATATCATCAC TGAGTTCATG ACCTACGGGA ACCTCCTGGA CTACCTGAGG GAGTGCAACC GGCAGGAGGT GAACGCCGTG GTGCTGCTGT ACATGGCCAC TCAGATCTCG TCAGCCATGG AGTACCTGGA GAAGAAAAAC TTCATCCACA GAGATCTTGC TGCCCGAAAC TGCCTGGTAG GGGAGAACCA CTTGGTGAAG GTAGCTGATT TTGGCCTGAG CAGGTTGATG ACAGGGGACA CCTACACAGC CCATGCTGGA GCCAAGTTCC CCATCAAATG GACTGCACCC GAGAGCCTGG CCTACAACAA GTTCTCCATC AAGTCCGACG TCTGGGCATT TGGAGTATTG CTTTGGGAAA TTGCTACCTA TGGCATGTCC CCTTACCCGG GAATTGACCT GTCCCAGGTG TATGAGCTGC TAGAGAAGGA CTACCGCATG GAGCGCCCAG AAGGCTGCCC AGAGAAGGTC TATGAACTCA TGCGAGCATG TTGGCAGTGG AATCCCTCTG ACCGGCCCTC CTTTGCTGAA ATCCACCAAG CCTTTGAAAC AATGTTCCAG GAATCCAGTA TCTCAGACGA AGTGGAAAAG GAGCTGGGGA AACAAGGCGT CCGTGGGGCT GTGAGTACCT TGCTGCAGGC CCCAGAGCTG CCCACCAAGA CGAGGACCTC CAGGAGAGCT GCAGAGCACA GAGACACCAC TGACGTGCCT GAGATGCCTC ACTCCAAGGG CCAGGGAGAG AGCGATCCTC TGGACCATGA GCCTGCCGTG TCTCCATTGC TCCCTCGAAA AGAGCGAGGT CCCCCGGAGG GCGGCCTGAA TGAAGATGAG CGCCTTCTCC CCAAAGACAA AAAGACCAAC TTGTTCAGCG CCTTGATCAA GAAGAAGAAG AAGACAGCCC CAACCCCTCC CAAACGCAGC AGCTCCTTCC GGGAGATGGA CGGCCAGCCG GAGCGCAGAG GGGCCGGCGA GGAAGAGGGC CGAGACATCA GCAACGGGGC ACTGGCTTTC ACCCCCTTGG ACACAGCTGA CCCAGCCAAG TCCCCAAAGC CCAGCAATGG GGCTGGGGTC CCCAATGGAG CCCTCCGGGA GTCCGGGGGC TCAGGCTTCC GGTCTCCCCA CCTGTGGAAG AAGTCCAGCA CGCTGACCAG CAGCCGCCTA GCCACCGGCG AGGAGGAGGG CGGTGGCAGC TCCAGCAAGC GCTTCCTGCG CTCTTGCTCC GCCTCCTGCG TTCCCCATGG GGCCAAGGAC ACGGAGTGGA GGTCAGTCAC GCTGCCTCGG GACTTGCAGT CCACGGGAAG ACAGTTTGAC TCGTCCACAT TTGGAGGGCA CAAAAGTGAG AAGCCGGCTC TGCCTCGGAA GAGGGCAGGG GAGAACAGGT CTGACCAGGT GACCCGAGGC ACAGTAACGC CTCCCCCCAG GCTGGTGAAA AAGAATGAGG AAGCTGCTGA TGAGGTCTTC AAAGACATCA TGGAGTCCAG CCCGGGCTCC AGCCCGCCCA ACCTGACTCC AAAACCCCTC CGGCGGCAGG TCACCGTGGC CCCTGCCTCG GGCCTCCCCC ACAAGGAAGA AGCTGGAAAG GGCAGTGCCT TAGGGACCCC TGCTGCAGCT GAGCCAGTGA CCCCCACCAG CAAAGCAGGC TCAGGTGCAC CAGGGGGCAC CAGCAAGGGC CCCGCCGAGG AGTCCAGAGT GAGGAGGCAC AAGCACTCCT CTGAGTCGCC AGGGAGGGAC AAGGGGAAAT TGTCCAGGCT CAAACCTGCC CCGCCGCCCC CACCAGCAGC CTCTGCAGGG AAGGCTGGAG GAAAGCCCTC GCAGAGCCCG AGCCAGGAGG CGGCCGGGGA GGCAGTCCTG GGCGCAAAGA CAAAAGCCAC GAGTCTGGTT GATGCTGTGA ACAGTGACGC TGCCAAGCCC AGCCAGCCGG GAGAGGGCCT CAAAAAGCCC GTGCTCCCGG CCACTCCAAA GCCACAGTCC GCCAAGCCGT CGGGGACCCC CATCAGCCCA GCCCCCGTTC CCTCCACGTT GCCATCAGCA TCCTCGGCCC TGGCAGGGGA CCAGCCGTCT TCCACCGCCT TCATCCCTCT CATATCAACC CGAGTGTCTC TTCGGAAAAC CCGCCAGCCT CCAGAGCGGA TCGCCAGCGG CGCCATCACC AAGGGCGTGG TCCTGGACAG CACCGAGGCG CTGTGCCTCG CCATCTCTAG GAACTCCGAG CAGATGGCCA GCCACAGCGC AGTGCTGGAG GCCGGCAAAA ACCTCTACAC GTTCTGCGTG AGCTATGTGG ATTCCATCCA GCAAATGAGG AACAAGTTTG CCTTCCGAGA GGCCATCAAC AAACTGGAGA ATAATCTCCG GGAGCTTCAG ATCTGCCCGG CGACAGCAGG CAGTGGTCCA GCGGCCACTC AGGACTTCAG CAAGCTCCTC AGTTCGGTGA AGGAAATCAG TGACATAGTG CAGAGGTAGC AGCAGTCAGG GGTCAGGTGT CAGGCCCGTC GGAGCTGCCT GCAGCACATG CGGGCTCGCC CATACCCGTG ACAGTGGCTG ACAAGGGACT AGTGAGTCAG CACCTTGGCC CAGGAGCTCT GCGCCAGGCA

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		GAGCTGAGGG CCCTGTGGAG TCCAGCTCTA CTACCTACGT TTGCACCGCC TGCCCTCCCG CACCTTCCTC CTCCCCGCTC CGTCTCTGTC CTCGAATTTT ATCTGTGGAG TTCCTGCTCC GTGGACTGCA GTCGGCATGC CAGGACCCGC CAGCCCCGCT CCCACCTAGT GCCCCAGACT GAGCTCTCCA GGCCAGGTGG GAACGGCTGA TGTGGACTGT CTTTTTCATT TTTTTCTCTC TGGAGCCCCT CCTCCCCCGG CTGGGCCTCC TTCTTCCACT TCTCCAAGAA TGGAAGCCTG AACTGAGGCC TTGTGTGTCA GGCCCTCTGC CTGCACTCCC TGGCCTTGCC CGTCGTGTGC TGAAGACATG TTTCAAGAAC CGCATTTCGG GAAGGGCATG CACGGGCATG CACACGGCTG GTCACTCTGC CCTCTGCTGC TGCCCGGGGT GGGGTGCACT CGCCATTTCC TCACGTGCAG GACAGCTCTT GATTTGGGTG GAAAACAGGG TGCTAAAGCC AACCAGCCTT TGGGTCCTGG GCAGGTGGGA GCTGAAAAGG ATCGAGGCAT GGGGCATGTC CTTTCCATCT GTCCACATCC CCAGAGCCCA GCTCTTGCTC TCTTGTGACG TGCACTGTGA ATCCTGGCAA GAAAGCTTGA GTCTCAAGGG TGGCAGGTCA CTGTCACTGC CGACATCCCT CCCCCAGCAG AATGGAGGCA GGGGACAAGG GAGGCAGTGG CTAGTGGGGT GAACAGCTGG TGCCAAATAG CCCCAGACTG GGCCCAGGCA GGTCTGCAAG GGCCCAGAGT GAACCGTCCT TTCACACATC TGGGTGCCCT GAAAGGGCCC TTCCCCTCCC CCACTCCTCT AAGACAAAGT AGATTCTTAC AAGGCCCTTT CCTTTGGAAC AAGACAGCCT TCACTTTTCT GAGTTCTTGA AGCATTTCAA AGCCCTGCCT CTGTGTAGCC GCCCTGAGAG AGAATAGAGC TGCCACTGGG CACCTGCGCA CAGGTGGGAG GAAAGGGCCT GGCCAGTCCT GGTCCTGGCT GCACTCTTGA ACTGGGCGAA TGTCTTATTT AATTACCGTG AGTGACATAG CCTCATGTTC TGTGGGGGTC ATCAGGGAGG GTTAGGAAAA CCACAAACGG AGCCCCTGAA AGCCTCACGT ATTTCACAGA GCACGCCTGC CATCTTCTCC CCGAGGCTGC CCCAGGCCGG AGCCCAGATA CGGGGGCTGT GACTCTGGGC AGGGACCCGG GGTCTCCTGG ACCTTGACAG AGCAGCTAAC TCCGAGAGCA GTGGGCAGGT GGCCGCCCCT GAGGCTTCAC GCCGGGAGAA GCCACCTTCC CACCCCTTCA TACCGCCTCG TGCCAGCAGC CTCGCACAGG CCCTAGCTTT ACGCTCATCA CCTAAACTTG TACTTTATTT TTCTGATAGA AATGGTTTCC TCTGGATCGT TTTATGCGGT TCTTACAGCA CATCACCTCT TTGCCCCCGA CGGCTGTGAC GCAGCCGGAG GGAGGCACTA GTCACCGACA GCGGCCTTGA AGACAGAGCA AAGCGCCCAC CCAGGTCCCC CGACTGCCTG TCTCCATGAG GTACTGGTCC CTTCCTTTTG TTAACGTGAT GTGCCACTAT ATTTTACACG TATCTCTTGG TATGCATCTT TTATAGACGC TCTTTTCTAA GTGGCGTGTG CATAGCGTCC TGCCCTGCCC CCTCGGGGGC CTGTGGTGGC TCCCCCTCTG CTTCTCGGGG TCCAGTGCAT TTTGTTTCTG TATATGATTC TCTGTGGTTT TTTTTGAATC CAAATCTGTC CTCTGTAGTA TTTTTTAAAT AAATCAGTGT TTACATTAGA A
47	Secuencia Armored RNA®	GAUGCUCACU UCAUCUAUGG UUACCCUGGG ACUUUUACAC CAACAGAACU AGCAUCAUCC UCUGCAUGGU CAGGUCAUGG AUCGGCAUCC UGACAGUUUC GGGAAUUAGG CAUCUGCAGU CUUACUGCUC AUCGGCUGAU GAUGCUGCUG UAAUCCCCAU CCAAGCAAGC UUGUGAUCCU CCGCCAUUAU CCCAAAUGGU AUAACAUUUA GGACUUAAAG CUAUGCAAUU AUCACCUUGU UUUUCAACAG CAAGACCUAA UAUUUUCUUU UCAUCAUUAA UGCCUUUUGA UGGAUCAGGC AACCAUUUAU AAAUAUGUUC ACCAGCCGAA GUCAGUAGUG AUUGGGUGGU UCCUGGCUUG GGAUCAUGCC GCUGCAGAGG CUAUUCUCCU CUUGGCAGAU UGUCUGUAGC CGAGAAGGCG GAGUCUGGCA AUGAUGAUGC AUACAGUGUA CGACAGCCUU AGGGACUGGA GCUCAAGCAG UGUUUCCUCA ACCAGUCACA

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
49	Receptor de andrógeno humano (AR) ARNm, variante de transcripción 1 (GenBank NM_000044.3)	CGAGATCCCG GGGAGCCAGC TTGCTGGGAG AGCGGGACGG TCCGGAGCAA GCCCAGAGGC AGAGGAGGCG ACAGAGGGAA AAAGGGCCGA GCTAGCCGCT CCAGTGCTGT ACAGGAGCCG AAGGGACGCA CCACGCCAGC CCCAGCCCGG CTCCAGCGAC AGCCAACGCC TCTTGCAGCG CGGCGGCTTC GAAGCCGCCG CCCGGAGCTG CCCTTTCCTC TTCGGTGAAG TTTTTAAAAG CTGCTAAAGA CTCGGAGGAA GCAAGGAAAG TGCCTGGTAG GACTGACGGC TGCCTTTGTC CTCCTCCTCT CCACCCCGCC TCCCCCCACC CTGCCTTCCC CCCCTCCCCC GTCTTCTCTC CCGCAGCTGC CTCAGTCGGC TACTCTCAGC CAACCCCCCT CACCACCCTT CTCCCCACCC GCCCCCCCGC CCCCGTCGGC CCAGCGCTGC CAGCCCGAGT TTGCAGAGAG GTAACTCCCT TTGGCTGCGA GCGGGCGAGC TAGCTGCACA TTGCAAAGAA GGCTCTTAGG AGCCAGGCGA CTGGGGAGCG GCTTCAGCAC TGCAGCCACG ACCCGCCTGG TTAGGCTGCA CGCGGAGAGA ACCCTCTGTT TTCCCCCACT CTCTCTCCAC CTCCTCCTGC CTTCCCCACC CCGAGTGCGG AGCCAGAGAT CAAAAGATGA AAAGGCAGTC AGGTCTTCAG TAGCCAAAAA ACAAAACAAA CAAAAACAAA AAAGCCGAAA TAAAAGAAAA AGATAATAAC TCAGTTCTTA TTTGCACCTA CTTCAGTGGA CACTGAATTT GGAAGGTGGA GGATTTTGTT TTTTTCTTTT AAGATCTGGG CATCTTTTGA ATCTACCCTT CAAGTATTAA GAGACAGACT GTGAGCCTAG CAGGGCAGAT CTTGTCCACC GTGTGTCTTC TTCTGCACGA GACTTTGAGG CTGTCAGAGC GCTTTTTGCG TGGTTGCTCC CGCAAGTTTC CTTCTCTGGA GCTTCCCGCA GGTGGGCAGC TAGCTGCAGC GACTACCGCA TCATCACAGC CTGTTGAACT CTTCTGAGCA AGAGAAGGGG AGGCGGGGTA AGGGAAGTAG GTGGAAGATT CAGCCAAGCT CAAGGATGGA AGTGCAGTTA GGGCTGGGAA GGGTCTACCC TCGGCCGCCG TCCAAGACCT ACCGAGGAGC TTTCCAGAAT CTGTTCCAGA GCGTGCGCGA AGTGATCCAG AACCCGGGCC CCAGGCACCC AGAGGCCGCG AGCGCAGCAC CTCCCGGCGC CAGTTTGCTG CTGCTGCAGC AGCAGCAGCA GCAGCAGCAG CAGCAGCAGC AGCAGCAGCA GCAGCAGCAG CAGCAGCAGC AGCAAGAGAC TAGCCCCAGG CAGCAGCAGC AGCAGCAGGG TGAGGATGGT TCTCCCCAAG CCCATCGTAG AGGCCCCACA GGCTACCTGG TCCTGGATGA GGAACAGCAA CCTTCACAGC CGCAGTCGGC CCTGGAGTGC CACCCCGAGA GAGGTTGCGT CCCAGAGCCT GGAGCCGCCG TGGCCGCCAG CAAGGGGCTG CCGCAGCAGC TGCCAGCACC TCCGGACGAG GATGACTCAG CTGCCCCATC CACGTTGTCC CTGCTGGGCC

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		CCACTTTCCC CGGCTTAAGC AGCTGCTCCG CTGACCTTAA AGACATCCTG AGCGAGGCCA GCACCATGCA ACTCCTTCAG CAACAGCAGC AGGAAGCAGT ATCCGAAGGC AGCAGCAGCG GGAGAGCGAG GGAGGCCTCG GGGGCTCCCA CTTCCTCCAA GGACAATTAC TTAGGGGGCA CTTCGACCAT TTCTGACAAC GCCAAGGAGT TGTGTAAGGC AGTGTCGGTG TCCATGGGCC TGGGTGTGGA GGCGTTGGAG CATCTGAGTC CAGGGGAACA GCTTCGGGGG GATTGCATGT ACGCCCCACT TTTGGGAGTT CCACCCGCTG TGCGTCCCAC TCCTTGTGCC CCATTGGCCG AATGCAAAGG TTCTCTGCTA GACGACAGCG CAGGCAAGAG CACTGAAGAT ACTGCTGAGT ATTCCCCTTT CAAGGGAGGT TACACCAAAG GGCTAGAAGG CGAGAGCCTA GGCTGCTCTG GCAGCGCTGC AGCAGGGAGC TCCGGGACAC TTGAACTGCC GTCTACCCTG TCTCTCTACA AGTCCGGAGC ACTGGACGAG GCAGCTGCGT ACCAGAGTCG CGACTACTAC AACTTTCCAC TGGCTCTGGC CGGACCGCCG CCCCCTCCGC CGCCTCCCCA TCCCCACGCT CGCATCAAGC TGGAGAACCC GCTGGACTAC GGCAGCGCCT GGGCGGCTGC GGCGGCGCAG TGCCGCTATG GGGACCTGGC GAGCCTGCAT GGCGCGGGTG CAGCGGGACC CGGTTCTGGG TCACCCTCAG CCGCCGCTTC CTCATCCTGG CACACTCTCT TCACAGCCGA AGAAGGCCAG TTGTATGGAC CGTGTGGTGG TGGTGGGGGT GGTGGCGGCG GCGGCGGCGG CGGCGGCGGC GGCGGCGGCG GCGGCGGCGG CGGCGAGGCG GGAGCTGTAG CCCCCTACGG CTACACTCGG CCCCCTCAGG GGCTGGCGGG CCAGGAAAGC GACTTCACCG CACCTGATGT GTGGTACCCT GGCGGCATGG TGAGCAGAGT GCCCTATCCC AGTCCCACTT GTGTCAAAAG CGAAATGGGC CCCTGGATGG ATAGCTACTC CGGACCTTAC GGGGACATGC GTTTGGAGAC TGCCAGGGAC CATGTTTTGC CCATTGACTA TTACTTTCCA CCCCAGAAGA CCTGCCTGAT CTGTGGAGAT GAAGCTTCTG GGTGTCACTA TGGAGCTCTC ACATGTGGAA GCTGCAAGGT CTTCTTCAAA AGAGCCGCTG AAGGGAAACA GAAGTACCTG TGCGCCAGCA GAAATGATTG CACTATTGAT AAATTCCGAA GGAAAAATTG TCCATCTTGT CGTCTTCGGA AATGTTATGA AGCAGGGATG ACTCTGGGAG CCCGGAAGCT GAAGAAACTT GGTAATCTGA AACTACAGGA GGAAGGAGAG GCTTCCAGCA CCACCAGCCC CACTGAGGAG ACAACCCAGA AGCTGACAGT GTCACACATT GAAGGCTATG AATGTCAGCC CATCTTTCTG AATGTCCTGG AAGCCATTGA GCCAGGTGTA GTGTGTGCTG GACACGACAA CAACCAGCCC GACTCCTTTG CAGCCTTGCT CTCTAGCCTC AATGAACTGG GAGAGAGACA GCTTGTACAC GTGGTCAAGT GGGCCAAGGC CTTGCCTGGC TTCCGCAACT TACACGTGGA CGACCAGATG GCTGTCATTC AGTACTCCTG GATGGGGCTC ATGGTGTTTG CCATGGGCTG GCGATCCTTC ACCAATGTCA ACTCCAGGAT GCTCTACTTC GCCCCTGATC TGGTTTTCAA TGAGTACCGC ATGCACAAGT CCCGGATGTA CAGCCAGTGT GTCCGAATGA GGCACCTCTC TCAAGAGTTT GGATGGCTCC AAATCACCCC CCAGGAATTC CTGTGCATGA AAGCACTGCT ACTCTTCAGC ATTATTCCAG TGGATGGGCT GAAAAATCAA AAATTCTTTG ATGAACTTCG AATGAACTAC ATCAAGGAAC TCGATCGTAT CATTGCATGC AAAAGAAAAA ATCCCACATC CTGCTCAAGA CGCTTCTACC AGCTCACCAA GCTCCTGGAC TCCGTGCAGC CTATTGCGAG AGAGCTGCAT CAGTTCACTT TTGACCTGCT AATCAAGTCA CACATGGTGA GCGTGGACTT TCCGGAAATG ATGGCAGAGA TCATCTCTGT GCAAGTGCCC AAGATCCTTT CTGGGAAAGT CAAGCCCATC TATTTCCACA CCCAGTGAAG CATTGGAAAC CCTATTTCCC CACCCCAGCT CATGCCCCCT TTCAGATGTC TTCTGCCTGT TATAACTCTG CACTACTCCT CTGCAGTGCC TTGGGGAATT TCCTCTATTG ATGTACAGTC TGTCATGAAC ATGTTCCTGA ATTCTATTTG CTGGGCTTTT TTTTTCTCTT TCTCTCCTTT CTTTTTCTTC TTCCCTCCCT ATCTAACCCT CCCATGGCAC CTTCAGACTT TGCTTCCCAT TGTGGCTCCT ATCTGTGTTT TGAATGGTGT TGTATGCCTT TAAATCTGTG ATGATCCTCA TATGGCCCAG TGTCAAGTTG TGCTTGTTTA CAGCACTACT CTGTGCCAGC CACACAAACG TTTACTTATC TTATGCCACG GGAAGTTTAG AGAGCTAAGA TTATCTGGGG AAATCAAAAC AAAAACAAGC AAACAAAAAA AAAAAGCAAA AACAAAACAA AAAATAAGCC AAAAAACCTT GCTAGTGTTT TTTCCTCAAA AATAAATAAA TAAATAAATA AATACGTACA TACATACACA CATACATACA AACATATAGA AATCCCCAAA GAGGCCAATA GTGACGAGAA GGTGAAAATT GCAGGCCCAT GGGGAGTTAC TGATTTTTTC ATCTCCTCCC TCCACGGGAG ACTTTATTTT CTGCCAATGG CTATTGCCAT TAGAGGGCAG AGTGACCCCA GAGCTGAGTT GGGCAGGGGG GTGGACAGAG AGGAGAGGAC AAGGAGGGCA ATGGAGCATC AGTACCTGCC CACAGCCTTG GTCCCTGGGG GCTAGACTGC TCAACTGTGG AGCAATTCAT TATACTGAAA ATGTGCTTGT TGTTGAAAAT TTGTCTGCAT GTTAATGCCT CACCCCCAAA CCCTTTTCTC TCTCACTCTC TGCCTCCAAC TTCAGATTGA CTTTCAATAG TTTTTCTAAG ACCTTTGAAC TGAATGTTCT CTTCAGCCAA AACTTGGCGA CTTCCACAGA AAAGTCTGAC CACTGAGAAG AAGGAGAGCA GAGATTTAAC CCTTTGTAAG GCCCCATTTG GATCCAGGTC TGCTTTCTCA TGTGTGAGTC AGGGAGGAGC TGGAGCCAGA GGAGAAGAAA ATGATAGCTT GGCTGTTCTC CTGCTTAGGA CACTGACTGA ATAGTTAAAC TCTCACTGCC ACTACCTTTT CCCCACCTTT AAAAGACCTG AATGAAGTTT TCTGCCAAAC TCCGTGAAGC CACAAGCACC TTATGTCCTC CCTTCAGTGT TTTGTGGGCC TGAATTTCAT CACACTGCAT TTCAGCCATG GTCATCAAGC CTGTTTGCTT CTTTTGGGCA TGTTCACAGA TTCTCTGTTA AGAGCCCCCA CCACCAAGAA GGTTAGCAGG CCAACAGCTC TGACATCTAT CTGTAGATGC CAGTAGTCAC AAAGATTTCT TACCAACTCT CAGATCGCTG GAGCCCTTAG ACAAACTGGA AAGAAGGCAT CAAAGGGATC AGGCAAGCTG GGCGTCTTGC CCTTGTCCCC CAGAGATGAT ACCCTCCCAG CAAGTGGAGA AGTTCTCACT TCCTTCTTTA GAGCAGCTAA AGGGGCTACC CAGATCAGGG TTGAAGAGAA AACTCAATTA CCAGGGTGGG AAGAATGAAG GCACTAGAAC CAGAAACCCT GCAAATGCTC TTCTTGTCAC CCAGCATATC CACCTGCAGA AGTCATGAGA AGAGAGAAGG AACAAAGAGG AGACTCTGAC TACTGAATTA AAATCTTCAG CGGCAAAGCC TAAAGCCAGA TGGACACCAT CTGGTGAGTT TACTCATCAT CCTCCTCTGC

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		TGCTGATTCT GGGCTCTGAC ATTGCCCATA CTCACTCAGA TTCCCCACCT TTGTTGCTGC CTCTTAGTCA GAGGGAGGCC AAACCATTGA GACTTTCTAC AGAACCATGG CTTCTTTCGG AAAGGTCTGG TTGGTGTGGC TCCAATACTT TGCCACCCAT GAACTCAGGG TGTGCCCTGG GACACTGGTT TTATATAGTC TTTTGGCACA CCTGTGTTCT GTTGACTTCG TTCTTCAAGC CCAAGTGCAA GGGAAAATGT CCACCTACTT TCTCATCTTG GCCTCTGCCT CCTTACTTAG CTCTTAATCT CATCTGTTGA ACTCAAGAAA TCAAGGGCCA GTCATCAAGC TGCCCATTTT AATTGATTCA CTCTGTTTGT TGAGAGGATA GTTTCTGAGT GACATGATAT GATCCACAAG GGTTTCCTTC CCTGATTTCT GCATTGATAT TAATAGCCAA ACGAACTTCA AAACAGCTTT AAATAACAAG GGAGAGGGGA ACCTAAGATG AGTAATATGC CAATCCAAGA CTGCTGGAGA AAACTAAAGC TGACAGGTTC CCTTTTTGGG GTGGGATAGA CATGTTCTGG TTTTCTTTAT TATTACACAA TCTGGCTCAT GTACAGGATC ACTTTTAGCT GTTTTAAACA GAAAAAAATA TCCACCACTC TTTTCAGTTA CACTAGGTTA CATTTTAATA GGTCCTTTAC ATCTGTTTTG GAATGATTTT CATCTTTTGT GATACACAGA TTGAATTATA TCATTTTCAT ATCTCTCCTT GTAAATACTA GAAGCTCTCC TTTACATTTC TCTATCAAAT TTTTCATCTT TATGGGTTTC CCAATTGTGA CTCTTGTCTT CATGAATATA TGTTTTTCAT TTGCAAAAGC CAAAAATCAG TGAAACAGCA GTGTAATTAA AAGCAACAAC TGGATTACTC CAAATTTCCA AATGACAAAA CTAGGGAAAA ATAGCCTACA CAAGCCTTTA GGCCTACTCT TTCTGTGCTT GGGTTTGAGT GAACAAAGGA GATTTTAGCT TGGCTCTGTT CTCCCATGGA TGAAAGGAGG AGGATTTTTT TTTTCTTTTG GCCATTGATG TTCTAGCCAA TGTAATTGAC AGAAGTCTCA TTTTGCATGC GCTCTGCTCT ACAAACAGAG TTGGTATGGT TGGTATACTG TACTCACCTG TGAGGGACTG GCCACTCAGA CCCACTTAGC TGGTGAGCTA GAAGATGAGG ATCACTCACT GGAAAAGTCA CAAGGACCAT CTCCAAACAA GTTGGCAGTG CTCGATGTGG ACGAAGAGTG AGGAAGAGAA AAAGAAGGAG CACCAGGGAG AAGGCTCCGT CTGTGCTGGG CAGCAGACAG CTGCCAGGAT CACGAACTCT GTAGTCAAAG AAAAGAGTCG TGTGGCAGTT TCAGCTCTCG TTCATTGGGC AGCTCGCCTA GGCCCAGCCT CTGAGCTGAC ATGGGAGTTG TTGGATTCTT TGTTTCATAG CTTTTTCTAT GCCATAGGCA ATATTGTTGT TCTTGGAAAG TTTATTATTT TTTTAACTCC CTTACTCTGA GAAAGGGATA TTTTGAAGGA CTGTCATATA TCTTTGAAAA AAGAAAATCT GTAATACATA TATTTTTATG TATGTTCACT GGCACTAAAA AATATAGAGA GCTTCATTCT GTCCTTTGGG TAGTTGCTGA GGTAATTGTC CAGGTTGAAA AATAATGTGC TGATGCTAGA GTCCCTCTCT GTCCATACTC TACTTCTAAA TACATATAGG CATACATAGC AAGTTTTATT TGACTTGTAC TTTAAGAGAA AATATGTCCA CCATCCACAT GATGCACAAA TGAGCTAACA TTGAGCTTCA AGTAGCTTCT AAGTGTTTGT TTCATTAGGC ACAGCACAGA TGTGGCCTTT CCCCCCTTCT CTCCCTTGAT ATCTGGCAGG GCATAAAGGC CCAGGCCACT TCCTCTGCCC CTTCCCAGCC CTGCACCAAA GCTGCATTTC AGGAGACTCT CTCCAGACAG CCCAGTAACT ACCCGAGCAT GGCCCCTGCA TAGCCCTGGA AAAATAAGAG GCTGACTGTC TACGAATTAT CTTGTGCCAG TTGCCCAGGT GAGAGGGCAC TGGGCCAAGG GAGTGGTTTT CATGTTTGAC CCACTACAAG GGGTCATGGG AATCAGGAAT GCCAAAGCAC CAGATCAAAT CCAAAACTTA AAGTCAAAAT AAGCCATTCA GCATGTTCAG TTTCTTGGAA AAGGAAGTTT CTACCCCTGA TGCCTTTGTA GGCAGATCTG TTCTCACCAT TAATCTTTTT GAAAATCTTT TAAAGCAGTT TTTAAAAAGA GAGATGAAAG CATCACATTA TATAACCAAA GATTACATTG TACCTGCTAA GATACCAAAA TTCATAAGGG CAGGGGGGGA GCAAGCATTA GTGCCTCTTT GATAAGCTGT CCAAAGACAG ACTAAAGGAC TCTGCTGGTG ACTGACTTAT AAGAGCTTTG TGGGTTTTTT TTTCCCTAAT AATATACATG TTTAGAAGAA TTGAAAATAA TTTCGGGAAA ATGGGATTAT GGGTCCTTCA CTAAGTGATT TTATAAGCAG AACTGGCTTT CCTTTTCTCT AGTAGTTGCT GAGCAAATTG TTGAAGCTCC ATCATTGCAT GGTTGGAAAT GGAGCTGTTC TTAGCCACTG TGTTTGCTAG TGCCCATGTT AGCTTATCTG AAGATGTGAA ACCCTTGCTG ATAAGGGAGC ATTTAAAGTA CTAGATTTTG CACTAGAGGG ACAGCAGGCA GAAATCCTTA TTTCTGCCCA CTTTGGATGG CACAAAAAGT TATCTGCAGT TGAAGGCAGA AAGTTGAAAT ACATTGTAAA TGAATATTTG TATCCATGTT TCAAAATTGA AATATATATA TATATATATA TATATATATA TATATATATA TAGTGTGTGT GTGTGTTCTG ATAGCTTTAA CTTTCTCTGC ATCTTTATAT TTGGTTCCAG ATCACACCTG ATGCCATGTA CTTGTGAGAG AGGATGCAGT TTTGTTTTGG AAGCTCTCTC AGAACAAACA AGACACCTGG ATTGATCAGT TAACTAAAAG TTTTCTCCCC TATTGGGTTT GACCCACAGG TCCTGTGAAG GAGCAGAGGG ATAAAAAGAG TAGAGGACAT GATACATTGT ACTTTACTAG TTCAAGACAG ATGAATGTGG AAAGCATAAA AACTCAATGG AACTGACTGA GATTTACCAC AGGGAAGGCC CAAACTTGGG GCCAAAAGCC TACCCAAGTG ATTGACCAGT GGCCCCCTAA TGGGACCTGA GCTGTTGGAA GAAGAGAACT GTTCCTTGGT CTTCACCATC CTTGTGAGAG AAGGGCAGTT TCCTGCATTG GAACCTGGAG CAAGCGCTCT ATCTTTCACA CAAATTCCCT CACCTGAGAT TGAGGTGCTC TTGTTACTGG GTGTCTGTGT GCTGTAATTC TGGTTTTGGA TATGTTCTGT AAAGATTTTG ACAAATGAAA ATGTGTTTTT CTCTGTTAAA ACTTGTCAGA GTACTAGAAG TTGTATCTCT GTAGGTGCAG GTCCATTTCT GCCCACAGGT AGGGTGTTTT TCTTTGATTA AGAGATTGAC ACTTCTGTTG CCTAGGACCT CCCAACTCAA CCATTTCTAG GTGAAGGCAG AAAAATCCAC ATTAGTTACT CCTCTTCAGA CATTTCAGCT GAGATAACAA ATCTTTTGGA ATTTTTTCAC CCATAGAAAG AGTGGTAGAT ATTTGAATTT AGCAGGTGGA GTTTCATAGT AAAAACAGCT TTTGACTCAG CTTTGATTTA TCCTCATTTG ATTTGGCCAG AAAGTAGGTA ATATGCATTG ATTGGCTTCT GATTCCAATT CAGTATAGCA AGGTGCTAGG TTTTTTCCTT TCCCCACCTG TCTCTTAGCC TGGGGAATTA AATGAGAAGC CTTAGAATGG GTGGCCCTTG TGACCTGAAA CACTTCCCAC ATAAGCTACT TAACAAGATT GTCATGGAGC TGCAGATTCC ATTGCCCACC AAAGACTAGA ACACACACAT

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		ATCCATACAC CAAAGGAAAG ACAATTCTGA AATGCTGTTT CTCTGGTGGT TCCCTCTCTG GCTGCTGCCT CACAGTATGG GAACCTGTAC TCTGCAGAGG TGACAGGCCA GATTTGCATT ATCTCACAAC CTTAGCCCTT GGTGCTAACT GTCCTACAGT GAAGTGCCTG GGGGGTTGTC CTATCCCATA AGCCACTTGG ATGCTGACAG CAGCCACCAT CAGAATGACC CACGCAAAAA AAAGAAAAAA AAAATTAAAA AGTCCCCTCA CAACCCAGTG ACACCTTTCT GCTTTCCTCT AGACTGGAAC ATTGATTAGG GAGTGCCTCA GACATGACAT TCTTGTGCTG TCCTTGGAAT TAATCTGGCA GCAGGAGGGA GCAGACTATG TAAACAGAGA TAAAAATTAA TTTTCAATAT TGAAGGAAAA AAGAAATAAG AAGAGAGAGA GAAAGAAAGC ATCACACAAA GATTTTCTTA AAAGAAACAA TTTTGCTTGA AATCTCTTTA GATGGGGCTC ATTTCTCACG GTGGCACTTG GCCTCCACTG GGCAGCAGGA CCAGCTCCAA GCGCTAGTGT TCTGTTCTCT TTTTGTAATC TTGGAATCTT TTGTTGCTCT AAATACAATT AAAAATGGCA GAAACTTGTT TGTTGGACTA CATGTGTGAC TTTGGGTCTG TCTCTGCCTC TGCTTTCAGA AATGTCATCC ATTGTGTAAA ATATTGGCTT ACTGGTCTGC CAGCTAAAAC TTGGCCACAT CCCCTGTTAT GGCTGCAGGA TCGAGTTATT GTTAACAAAG AGACCCAAGA AAAGCTGCTA ATGTCCTCTT ATCATTGTTG TTAATTTGTT AAAACATAAA GAAATCTAAA ATTTCAAAAAA

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
57	Receptor de andrógeno humano (AR) ARNm, variante de transcripción 2 (GenBank NM 001011645.2)	GCTGCGAGCA GAGAGGGATT CCTCGGAGGT CATCTGTTCC ATCTTCTTGC CTATGCAAAT GCCTGCCTGA AGCTGCTGGA GGCTGGCTTT GTACCGGACT TTGTACAGGG AACCAGGGAA ACGAATGCAG AGTGCTCCTG ACATTGCCTG TCACTTTTTC CCATGATACT CTGGCTTCAC AGTTTGGAGA CTGCCAGGGA CCATGTTTTG CCCATTGACT ATTACTTTCC ACCCCAGAAG ACCTGCCTGA TCTGTGGAGA TGAAGCTTCT GGGTGTCACT ATGGAGCTCT CACATGTGGA AGCTGCAAGG TCTTCTTCAA AAGAGCCGCT GAAGGGAAAC AGAAGTACCT GTGCGCCAGC AGAAATGATT GCACTATTGA TAAATTCCGA AGGAAAAATT GTCCATCTTG TCGTCTTCGG AAATGTTATG AAGCAGGGAT GACTCTGGGA GCCCGGAAGC TGAAGAAACT TGGTAATCTG AAACTACAGG AGGAAGGAGA GGCTTCCAGC ACCACCAGCC CCACTGAGGA GACAACCCAG AAGCTGACAG TGTCACACAT TGAAGGCTAT GAATGTCAGC CCATCTTTCT GAATGTCCTG GAAGCCATTG AGCCAGGTGT AGTGTGTGCT GGACACGACA ACAACCAGCC CGACTCCTTT GCAGCCTTGC TCTCTAGCCT CAATGAACTG GGAGAGAGAC AGCTTGTACA CGTGGTCAAG TGGGCCAAGG CCTTGCCTGG CTTCCGCAAC TTACACGTGG ACGACCAGAT GGCTGTCATT CAGTACTCCT GGATGGGGCT CATGGTGTTT GCCATGGGCT GGCGATCCTT CACCAATGTC AACTCCAGGA TGCTCTACTT CGCCCCTGAT CTGGTTTTCA ATGAGTACCG CATGCACAAG TCCCGGATGT ACAGCCAGTG TGTCCGAATG AGGCACCTCT CTCAAGAGTT TGGATGGCTC CAAATCACCC CCCAGGAATT CCTGTGCATG AAAGCACTGC TACTCTTCAG CATTATTCCA GTGGATGGGC TGAAAAATCA AAAATTCTTT GATGAACTTC GAATGAACTA CATCAAGGAA CTCGATCGTA TCATTGCATG CAAAAGAAAA AATCCCACAT CCTGCTCAAG ACGCTTCTAC CAGCTCACCA AGCTCCTGGA CTCCGTGCAG CCTATTGCGA GAGAGCTGCA TCAGTTCACT TTTGACCTGC TAATCAAGTC ACACATGGTG AGCGTGGACT TTCCGGAAAT GATGGCAGAG ATCATCTCTG TGCAAGTGCC CAAGATCCTT TCTGGGAAAG TCAAGCCCAT CTATTTCCAC ACCCAGTGAA GCATTGGAAA CCCTATTTCC CCACCCCAGC TCATGCCCCC TTTCAGATGT CTTCTGCCTG TTATAACTCT GCACTACTCC TCTGCAGTGC CTTGGGGAAT TTCCTCTATT GATGTACAGT CTGTCATGAA CATGTTCCTG AATTCTATTT GCTGGGCTTT TTTTTTCTCT TTCTCTCCTT TCTTTTTCTT CTTCCCTCCC TATCTAACCC TCCCATGGCA CCTTCAGACT TTGCTTCCCA TTGTGGCTCC TATCTGTGTT TTGAATGGTG TTGTATGCCT TTAAATCTGT GATGATCCTC ATATGGCCCA GTGTCAAGTT GTGCTTGTTT ACAGCACTAC TCTGTGCCAG CCACACAAAC GTTTACTTAT CTTATGCCAC GGGAAGTTTA GAGAGCTAAG ATTATCTGGG GAAATCAAAA CAAAAACAAG CAAACAAAAA AAAAAAGCAA AAACAAAACA AAAAATAAGC CAAAAAACCT TGCTAGTGTT TTTTCCTCAA AAATAAATAA ATAAATAAAT AAATACGTAC ATACATACAC ACATACATAC AAACATATAG AAATCCCCAA AGAGGCCAAT AGTGACGAGA AGGTGAAAAT TGCAGGCCCA TGGGGAGTTA CTGATTTTTT CATCTCCTCC CTCCACGGGA GACTTTATTT TCTGCCAATG GCTATTGCCA TTAGAGGGCA GAGTGACCCC AGAGCTGAGT TGGGCAGGGG GGTGGACAGA GAGGAGAGGA CAAGGAGGGC AATGGAGCAT CAGTACCTGC CCACAGCCTT GGTCCCTGGG GGCTAGACTG CTCAACTGTG GAGCAATTCA TTATACTGAA AATGTGCTTG TTGTTGAAAA TTTGTCTGCA TGTTAATGCC TCACCCCCAA ACCCTTTTCT CTCTCACTCT CTGCCTCCAA CTTCAGATTG ACTTTCAATA GTTTTTCTAA GACCTTTGAA CTGAATGTTC TCTTCAGCCA AAACTTGGCG ACTTCCACAG AAAAGTCTGA CCACTGAGAA GAAGGAGAGC AGAGATTTAA CCCTTTGTAA GGCCCCATTT GGATCCAGGT CTGCTTTCTC ATGTGTGAGT CAGGGAGGAG CTGGAGCCAG AGGAGAAGAA AATGATAGCT TGGCTGTTCT CCTGCTTAGG ACACTGACTG AATAGTTAAA CTCTCACTGC CACTACCTTT TCCCCACCTT TAAAAGACCT GAATGAAGTT TTCTGCCAAA CTCCGTGAAG CCACAAGCAC CTTATGTCCT CCCTTCAGTG TTTTGTGGGC CTGAATTTCA TCACACTGCA TTTCAGCCAT GGTCATCAAG CCTGTTTGCT TCTTTTGGGC ATGTTCACAG ATTCTCTGTT AAGAGCCCCC ACCACCAAGA AGGTTAGCAG GCCAACAGCT CTGACATCTA TCTGTAGATG CCAGTAGTCA CAAAGATTTC TTACCAACTC TCAGATCGCT GGAGCCCTTA GACAAACTGG AAAGAAGGCA TCAAAGGGAT CAGGCAAGCT GGGCGTCTTG CCCTTGTCCC CCAGAGATGA TACCCTCCCA GCAAGTGGAG AAGTTCTCAC TTCCTTCTTT AGAGCAGCTA AAGGGGCTAC CCAGATCAGG GTTGAAGAGA AAACTCAATT ACCAGGGTGG GAAGAATGAA GGCACTAGAA CCAGAAACCC TGCAAATGCT CTTCTTGTCA CCCAGCATAT CCACCTGCAG AAGTCATGAG AAGAGAGAAG GAACAAAGAG GAGACTCTGA CTACTGAATT AAAATCTTCA GCGGCAAAGC CTAAAGCCAG ATGGACACCA TCTGGTGAGT TTACTCATCA TCCTCCTCTG CTGCTGATTC TGGGCTCTGA CATTGCCCAT

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		ACTCACTCAG ATTCCCCACC TTTGTTGCTG CCTCTTAGTC AGAGGGAGGC CAAACCATTG AGACTTTCTA CAGAACCATG GCTTCTTTCG GAAAGGTCTG GTTGGTGTGG CTCCAATACT TTGCCACCCA TGAACTCAGG GTGTGCCCTG GGACACTGGT TTTATATAGT CTTTTGGCAC ACCTGTGTTC TGTTGACTTC GTTCTTCAAG CCCAAGTGCA AGGGAAAATG TCCACCTACT TTCTCATCTT GGCCTCTGCC TCCTTACTTA GCTCTTAATC TCATCTGTTG AACTCAAGAA ATCAAGGGCC AGTCATCAAG CTGCCCATTT TAATTGATTC ACTCTGTTTG TTGAGAGGAT AGTTTCTGAG TGACATGATA TGATCCACAA GGGTTTCCTT CCCTGATTTC TGCATTGATA TTAATAGCCA AACGAACTTC AAAACAGCTT TAAATAACAA GGGAGAGGGG AACCTAAGAT GAGTAATATG CCAATCCAAG ACTGCTGGAG AAAACTAAAG CTGACAGGTT CCCTTTTTGG GGTGGGATAG ACATGTTCTG GTTTTCTTTA TTATTACACA ATCTGGCTCA TGTACAGGAT CACTTTTAGC TGTTTTAAAC AGAAAAAAAT ATCCACCACT CTTTTCAGTT ACACTAGGTT ACATTTTAAT AGGTCCTTTA CATCTGTTTT GGAATGATTT TCATCTTTTG TGATACACAG ATTGAATTAT ATCATTTTCA TATCTCTCCT TGTAAATACT AGAAGCTCTC CTTTACATTT CTCTATCAAA TTTTTCATCT TTATGGGTTT CCCAATTGTG ACTCTTGTCT TCATGAATAT ATGTTTTTCA TTTGCAAAAG CCAAAAATCA GTGAAACAGC AGTGTAATTA AAAGCAACAA CTGGATTACT CCAAATTTCC AAATGACAAA ACTAGGGAAA AATAGCCTAC ACAAGCCTTT AGGCCTACTC TTTCTGTGCT TGGGTTTGAG TGAACAAAGG AGATTTTAGC TTGGCTCTGT TCTCCCATGG ATGAAAGGAG GAGGATTTTT TTTTTCTTTT GGCCATTGAT GTTCTAGCCA ATGTAATTGA CAGAAGTCTC ATTTTGCATG CGCTCTGCTC TACAAACAGA GTTGGTATGG TTGGTATACT GTACTCACCT GTGAGGGACT GGCCACTCAG ACCCACTTAG CTGGTGAGCT AGAAGATGAG GATCACTCAC TGGAAAAGTC ACAAGGACCA TCTCCAAACA AGTTGGCAGT GCTCGATGTG GACGAAGAGT GAGGAAGAGA AAAAGAAGGA GCACCAGGGA GAAGGCTCCG TCTGTGCTGG GCAGCAGACA GCTGCCAGGA TCACGAACTC TGTAGTCAAA GAAAAGAGTC GTGTGGCAGT TTCAGCTCTC GTTCATTGGG CAGCTCGCCT AGGCCCAGCC TCTGAGCTGA CATGGGAGTT GTTGGATTCT TTGTTTCATA GCTTTTTCTA TGCCATAGGC AATATTGTTG TTCTTGGAAA GTTTATTATT TTTTTAACTC CCTTACTCTG AGAAAGGGAT ATTTTGAAGG ACTGTCATAT ATCTTTGAAA AAAGAAAATC TGTAATACAT ATATTTTTAT GTATGTTCAC TGGCACTAAA AAATATAGAG AGCTTCATTC TGTCCTTTGG GTAGTTGCTG AGGTAATTGT CCAGGTTGAA AAATAATGTG CTGATGCTAG AGTCCCTCTC TGTCCATACT CTACTTCTAA ATACATATAG GCATACATAG CAAGTTTTAT TTGACTTGTA CTTTAAGAGA AAATATGTCC ACCATCCACA TGATGCACAA ATGAGCTAAC ATTGAGCTTC AAGTAGCTTC TAAGTGTTTG TTTCATTAGG CACAGCACAG ATGTGGCCTT TCCCCCCTTC TCTCCCTTGA TATCTGGCAG GGCATAAAGG CCCAGGCCAC TTCCTCTGCC CCTTCCCAGC CCTGCACCAA AGCTGCATTT CAGGAGACTC TCTCCAGACA GCCCAGTAAC TACCCGAGCA TGGCCCCTGC ATAGCCCTGG AAAAATAAGA GGCTGACTGT CTACGAATTA TCTTGTGCCA GTTGCCCAGG TGAGAGGGCA CTGGGCCAAG GGAGTGGTTT TCATGTTTGA CCCACTACAA GGGGTCATGG GAATCAGGAA TGCCAAAGCA CCAGATCAAA TCCAAAACTT AAAGTCAAAA TAAGCCATTC AGCATGTTCA GTTTCTTGGA AAAGGAAGTT TCTACCCCTG ATGCCTTTGT AGGCAGATCT GTTCTCACCA TTAATCTTTT TGAAAATCTT TTAAAGCAGT TTTTAAAAAG AGAGATGAAA GCATCACATT ATATAACCAA AGATTACATT GTACCTGCTA AGATACCAAA ATTCATAAGG GCAGGGGGGG AGCAAGCATT AGTGCCTCTT TGATAAGCTG TCCAAAGACA GACTAAAGGA CTCTGCTGGT GACTGACTTA TAAGAGCTTT GTGGGTTTTT TTTTCCCTAA TAATATACAT GTTTAGAAGA ATTGAAAATA ATTTCGGGAA AATGGGATTA TGGGTCCTTC ACTAAGTGAT TTTATAAGCA GAACTGGCTT TCCTTTTCTC TAGTAGTTGC TGAGCAAATT GTTGAAGCTC CATCATTGCA TGGTTGGAAA TGGAGCTGTT CTTAGCCACT GTGTTTGCTA GTGCCCATGT TAGCTTATCT GAAGATGTGA AACCCTTGCT GATAAGGGAG CATTTAAAGT ACTAGATTTT GCACTAGAGG GACAGCAGGC AGAAATCCTT ATTTCTGCCC ACTTTGGATG GCACAAAAAG TTATCTGCAG TTGAAGGCAG AAAGTTGAAA TACATTGTAA ATGAATATTT GTATCCATGT TTCAAAATTG AAATATATAT ATATATATAT ATATATATAT ATATATATAT ATAGTGTGTG TGTGTGTTCT GATAGCTTTA ACTTTCTCTG CATCTTTATA TTTGGTTCCA GATCACACCT GATGCCATGT ACTTGTGAGA GAGGATGCAG TTTTGTTTTG GAAGCTCTCT CAGAACAAAC AAGACACCTG GATTGATCAG TTAACTAAAA GTTTTCTCCC CTATTGGGTT TGACCCACAG GTCCTGTGAA GGAGCAGAGG GATAAAAAGA GTAGAGGACA TGATACATTG TACTTTACTA GTTCAAGACA GATGAATGTG GAAAGCATAA AAACTCAATG GAACTGACTG AGATTTACCA CAGGGAAGGC CCAAACTTGG GGCCAAAAGC CTACCCAAGT GATTGACCAG TGGCCCCCTA ATGGGACCTG AGCTGTTGGA AGAAGAGAAC TGTTCCTTGG TCTTCACCAT CCTTGTGAGA GAAGGGCAGT TTCCTGCATT GGAACCTGGA GCAAGCGCTC TATCTTTCAC ACAAATTCCC TCACCTGAGA TTGAGGTGCT CTTGTTACTG GGTGTCTGTG TGCTGTAATT CTGGTTTTGG ATATGTTCTG TAAAGATTTT GACAAATGAA AATGTGTTTT TCTCTGTTAA AACTTGTCAG AGTACTAGAA GTTGTATCTC TGTAGGTGCA GGTCCATTTC TGCCCACAGG TAGGGTGTTT TTCTTTGATT AAGAGATTGA CACTTCTGTT GCCTAGGACC TCCCAACTCA ACCATTTCTA GGTGAAGGCA GAAAAATCCA CATTAGTTAC TCCTCTTCAG ACATTTCAGC TGAGATAACA AATCTTTTGG AATTTTTTCA CCCATAGAAA GAGTGGTAGA TATTTGAATT TAGCAGGTGG AGTTTCATAG TAAAAACAGC TTTTGACTCA GCTTTGATTT ATCCTCATTT GATTTGGCCA GAAAGTAGGT AATATGCATT GATTGGCTTC TGATTCCAAT TCAGTATAGC AAGGTGCTAG GTTTTTTCCT TTCCCCACCT GTCTCTTAGC CTGGGGAATT AAATGAGAAG CCTTAGAATG GGTGGCCCTT GTGACCTGAA ACACTTCCCA CATAAGCTAC TTAACAAGAT TGTCATGGAG CTGCAGATTC CATTGCCCAC CAAAGACTAG AACACACACA TATCCATACA CCAAAGGAAA GACAATTCTG

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		AAATGCTGTT TCTCTGGTGG TTCCCTCTCT GGCTGCTGCC TCACAGTATG GGAACCTGTA CTCTGCAGAG GTGACAGGCC AGATTTGCAT TATCTCACAA CCTTAGCCCT TGGTGCTAAC TGTCCTACAG TGAAGTGCCT GGGGGGTTGT CCTATCCCAT AAGCCACTTG GATGCTGACA GCAGCCACCA TCAGAATGAC CCACGCAAAA AAAAGAAAAA AAAAATTAAA AAGTCCCCTC ACAACCCAGT GACACCTTTC TGCTTTCCTC TAGACTGGAA CATTGATTAG GGAGTGCCTC AGACATGACA TTCTTGTGCT GTCCTTGGAA TTAATCTGGC AGCAGGAGGG AGCAGACTAT GTAAACAGAG ATAAAAATTA ATTTTCAATA TTGAAGGAAA AAAGAAATAA GAAGAGAGAG AGAAAGAAAG CATCACACAA AGATTTTCTT AAAAGAAACA ATTTTGCTTG AAATCTCTTT AGATGGGGCT CATTTCTCAC GGTGGCACTT GGCCTCCACT GGGCAGCAGG ACCAGCTCCA AGCGCTAGTG TTCTGTTCTC TTTTTGTAAT CTTGGAATCT TTTGTTGCTC TAAATACAAT TAAAAATGGC AGAAACTTGT TTGTTGGACT ACATGTGTGA CTTTGGGTCT GTCTCTGCCT CTGCTTTCAG AAATGTCATC CATTGTGTAA AATATTGGCT TACTGGTCTG CCAGCTAAAA CTTGGCCACA TCCCCTGTTA TGGCTGCAGG ATCGAGTTAT TGTTAACAAA GAGACCCAAG AAAAGCTGCT AATGTCCTCT TATCATTGTT GTTAATTTGT TAAAACATAA AGAAATCTAA AATTTCAAAA AA
50	Uroplakin 1B humana (UPK1B) ARNm	ACCTGGGTCG GGTGCAGACT GCGGAGCGGG CCCTACCGTG TGCGCAGAAA GAGGAGGCGC TTGCCTTCAG CTTGTGGGAA ATCCCGAAGA TGGCCAAAGA CAACTCAACT GTTCGTTGCT TCCAGGGCCT GCTGATTTTT GGAAATGTGA TTATTGGTTG TTGCGGCATT GCCCTGACTG CGGAGTGCAT CTTCTTTGTA TCTGACCAAC ACAGCCTCTA CCCACTGCTT GAAGCCACCG ACAACGATGA CATCTATGGG GCTGCCTGGA TCGGCATATT TGTGGGCATC TGCCTCTTCT GCCTGTCTGT TCTAGGCATT GTAGGCATCA TGAAGTCCAG CAGGAAAATT CTTCTGGCGT ATTTCATTCT GATGTTTATA GTATATGCCT TTGAAGTGGC ATCTTGTATC ACAGCAGCAA CACAACAAGA CTTTTTCACA CCCAACCTCT TCCTGAAGCA GATGCTAGAG AGGTACCAAA ACAACAGCCC TCCAAACAAT GATGACCAGT GGAAAAACAA TGGAGTCACC AAAACCTGGG ACAGGCTCAT GCTCCAGGAC AATTGCTGTG GCGTAAATGG TCCATCAGAC TGGCAAAAAT ACACATCTGC CTTCCGGACT GAGAATAATG ATGCTGACTA TCCCTGGCCT CGTCAATGCT GTGTTATGAA CAATCTTAAA GAACCTCTCA ACCTGGAGGC TTGTAAACTA GGCGTGCCTG GTTTTTATCA CAATCAGGGC TGCTATGAAC TGATCTCTGG TCCAATGAAC CGACACGCCT GGGGGGTTGC CTGGTTTGGA TTTGCCATTC TCTGCTGGAC TTTTTGGGTT CTCCTGGGTA CCATGTTCTA CTGGAGCAGA ATTGAATATT AAGCATAAAG TGTTGCCACC ATACCTCCTT CCCCGAGTGA CTCTGGATTT GGTGCTGGAA CCAGCTCTCT CCTAATATTC CACGTTTGTG CCCCACACTA ACGTGTGTGT CTTACATTGC CAAGTCAGAT GGTACGGACT TCCTTTAGGA TCTCAGGCTT CTGCAGTTCT CATGACTCCT ACTTTTCATC CTAGTCTAGC ATTCTGCAAC ATTTATATAG ACTGTTGAAA GGAGAATTTG AAAAATGCAT AATAACTACT TCCATCCCTG CTTATTTTTA ATTTGGGAAA ATAAATACAT TCGAAGGAAC CTGTGTTATC ACAGTAACCC AGAGCTGTAT TTGGCTAGCA ATCTGCCTGT ATCTCTCACT ATTATCTAAA AGAAACCTTC CAATGCTTCT GTTGATCTCA GTATTGTCAG GGGAACAGAG AAGTTGGGAA AAGATTACTG AAATATACCT TTTGCATTTC TTTCTAGAGT AGCTCCCATA TATGGAGATG GGTGATTCTC TTGATGCCAC CTTCAGATCC TTTTATTCTC CAGAATAATT CTTAACAGTG GTTCAAATTT CCTTTCATAC CTTGAAGTAT GTGTTTAGTA GCCTCAATTC TCCATTAATT AAAAGTGTGG GCTGGGCGTG GGGGCTCATG CCTGTAATCC CAGCACTTTG GGAGGCCGAG GTGGGCAGAT CACCTGAGGT CAGGAGTTCA AGACCAGCCT GGCCAACATG GTGAAACCCC GTCTCTACAA AAATACAAAA ATTAGCCAGG CGTGATGGCA GGTGCCTGTA ATCCTAGCTA CTTGGCAGGC TAACGCAGGA GAATCACTTG ACCGGGAGAC AGAGGTTGCA GTGAGCTGAG ATCGTACCTA TTGCACTCCA TCCTGGATGA AAGAGCCAGA CTCTGTCTCA AAACAAACAA AAAAGCGTGG GGACTTCTGG GGACAGACAA GGTGCCTGTT ATATATTTAC TCAGTCTTTG CCCTGAATGG TCTCAGCTTG AGACCATTTC AAACTGGAGA GAAGCAAGCC AGCCAATAGA ATGGGGTGAT TTACAGGGAT TTCTGTTTAC TGTCAAAATA TTTCTCATCT GCACTATGTT TCCATTTGTG GTCCTGAAGG AAATTCTTAT AACTCAACAT TTGTCTGGTC TTATAAGTAA AGACAGCTTT AAAATCTGTT CACTTTCAAA

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
58	Uroplakin 2 humana (UPK2) ARNm	ACTTGCCTCA GGAACCCCAG CCTGCCAGCA CCTATTCCAC CTCCCAGCCC AGCATGGCAC CCCTGCTGCC CATCCGGACC TTGCCCTTGA TCCTGATTCT GCTGGCTCTG CTGTCCCCAG GGGCTGCAGA CTTCAACATC TCAAGCCTCT CTGGTCTGCT GTCCCCGGCG CTAACGGAGA GCCTGCTGGT TGCCTTGCCC CCCTGTCACC TCACAGGAGG CAATGCCACA CTGATGGTCC GGAGAGCCAA TGACAGCAAA GTGGTGACGT CCAGCTTTGT GGTGCCTCCG TGCCGTGGGC GCAGGGAACT GGTGAGTGTG GTGGACAGTG GTGCTGGCTT CACAGTCACT CGGCTCAGTG CATACCAGGT GACAAACCTC GTGCCAGGAA CCAAATTCTA CATTTCCTAC CTAGTGAAGA AGGGGACAGC CACTGAGTCC AGCAGAGAGA TCCCAATGTC CACACTCCCT CGAAGGAACA TGGAATCCAT TGGGCTGGGT ATGGCCCGCA CAGGGGGCAT GGTGGTCATC ACGGTGCTGC TCTCTGTCGC CATGTTCCTG CTGGTGCTGG GCTTCATCAT TGCCCTGGCA CTGGGCTCCC GCAAGTAAGG AGGTCTGCCC GGAGCAGCAG CTTCTCCAGG AAGCCCAGGG CACCATCCAG CTCCCCAGCC CACCTGCTCC CAGGCCCCAG GCCTGTGGCT CCCTTGGTGC CCTCGCCTCC TCCTCCTGCC CTCCTCTCCC CTAGAGCCCT CTCCTCCCTC TGTCCCTCTC CTTGCCCCCA GTGCCTCACC TTCCAACACT CCATTATTCC TCTCACCCCA CTCCTGTCAG AGTTGACTTT CCTCCCATTT TACCACTTTA AACACCCCCA TAACAATTCC CCCATCCTTC AGTGAACTAA GTCCCTATAA TAAAGGCTGA GGCTGCATCT GCCAAAAAAA AAAAAAA
59	Humano	GGTCTGCAGC GCAAGCGCAG TGCGGATAAA CAGGAAGCGG GCGGTGGAGG CAGCAGCAGA

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
	Antígeno expresado por meningioma (MGEA5) ARNm, variante de transcripción 1	GGGAGAGCTC GGGGCTTGGA GGGGAAACAG CGGAAGACCT AAGATTATCG GGAGGGCAGC AGAGGCAGAG AACGAGGACA GGACCCTTGG CCGTCTTCTT CCAGGGAACG AGAGGTCACA GCCTCGCTCT CCGCTTAGGC TTCTGGCGCC CCAGCTTAAA GCCGAGGCTG CGGCTGACAA AGGGCTCGCG CCGGTGCCGC CGCCCTTCTC ATCCGGGCAT TCGGGTCCCT GCGGAGAGGG AGGGGGAAGG GCAGAGGGGG AGGGGAAGGA GCCGGAGGGG CGCACACTTG GAGCTGAAGC CCTCTCCAGG GCTCCGGGCC GGTGCCCCAA CGGACAGAGG TCGAGGAGGA CCCGCAGAGG TGGCAGCGGC CGGGGGCAGG AGGATGGTGC AGAAGGAGAG TCAAGCGACG TTGGAGGAGC GGGAGAGCGA GCTCAGCTCC AACCCTGCCG CCTCTGCGGG GGCATCGCTG GAGCCGCCGG CAGCTCCGGC ACCCGGAGAA GACAACCCCG CCGGGGCTGG GGGAGCGGCG GTGGCCGGGG CTGCAGGAGG GGCTCGGCGG TTCCTCTGCG GTGTGGTGGA AGGATTTTAT GGAAGACCTT GGGTTATGGA ACAGAGAAAA GAACTCTTTA GAAGGCTCCA GAAATGGGAA TTAAATACAT ACTTGTATGC CCCAAAAGAT GACTACAAAC ATAGGATGTT TTGGCGAGAG ATGTATTCAG TGGAGGAAGC TGAGCAACTT ATGACTCTCA TCTCTGCTGC ACGAGAATAT GAGATAGAGT TCATCTATGC GATCTCACCT GGATTGGATA TCACTTTTTC TAACCCCAAG GAAGTATCCA CATTGAAACG TAAATTGGAC CAGGTTTCTC AGTTTGGGTG CAGATCATTT GCTTTGCTTT TTGATGATAT AGACCATAAT ATGTGTGCAG CAGACAAAGA GGTATTCAGT TCTTTTGCTC ATGCCCAAGT CTCCATCACA AATGAAATCT ATCAGTACCT AGGAGAGCCA GAAACTTTCC TCTTCTGTCC CACAGAATAC TGTGGCACTT TCTGTTATCC AAATGTGTCT CAGTCTCCAT ATTTAAGGAC TGTGGGTGAA AAGCTTCTAC CTGGAATTGA AGTGCTTTGG ACAGGTCCCA AAGTTGTTTC TAAAGAAATT CCAGTAGAGT CCATCGAAGA GGTTTCTAAG ATTATTAAGA GAGCTCCAGT AATCTGGGAT AACATTCATG CTAATGATTA TGATCAGAAG AGACTGTTTC TGGGCCCGTA CAAAGGAAGA TCCACAGAAC TCATCCCACG GTTAAAAGGA GTCCTCACTA ATCCAAATTG TGAATTTGAA GCCAACTACG TTGCTATCCA CACCCTTGCC ACCTGGTACA AATCAAACAT GAATGGAGTG AGAAAAGATG TAGTGATGAC TGACAGTGAA GATAGTACTG TGTCCATCCA GATAAAATTA GAAAATGAAG GCAGTGATGA AGATATTGAA ACTGATGTAC TCTATAGTCC ACAGATGGCT CTAAAGCTAG CATTAACAGA ATGGTTGCAA GAGTTTGGTG TGCCTCATCA ATACAGCAGT AGGCAAGTTG CACACAGTGG AGCTAAAGCA AGTGTAGTTG ATGGGACTCC TTTAGTTGCA GCACCCTCTT TAAATGCCAC AACCGTAGTA ACAACAGTTT ATCAGGAGCC CATTATGAGC CAGGGAGCAG CCTTGAGTGG TGAGCCTACT ACTCTGACCA AGGAAGAAGA AAAGAAACAG CCTGATGAAG AACCCATGGA CATGGTGGTG GAAAAACAAG AAGAAACGGA CCACAAGAAT GACAATCAAA TACTGAGTGA AATTGTTGAA GCGAAAATGG CAGAGGAATT GAAACCAATG GACACTGATA AAGAGAGCAT AGCTGAATCA AAATCCCCAG AGATGTCCAT GCAAGAAGAT TGTATTAGTG ACATTGCCCC CATGCAAACT GATGAACAGA CAAACAAGGA GCAGTTTGTG CCAGGTCCAA ATGAAAAGCC TTTGTACACT GCGGAACCAG TGACCCTGGA GGATTTGCAG TTACTTGCTG ATCTATTCTA CCTTCCTTAC GAGCATGGAC CCAAAGGAGC ACAGATGTTA CGGGAATTTC AATGGCTTCG AGCAAATAGT AGTGTTGTCA GTGTCAATTG CAAAGGAAAA GACTCTGAAA AAATTGAAGA ATGGCGGTCA CGAGCAGCCA AGTTTGAAGA GATGTGTGGA CTAGTGATGG GAATGTTCAC TCGGCTCTCC AATTGTGCCA ACAGGACAAT TCTTTATGAC ATGTACTCCT ATGTTTGGGA TATCAAGAGT ATAATGTCTA TGGTGAAGTC TTTTGTACAG TGGTTAGGGT GTCGTAGTCA TTCTTCAGCA CAATTCTTAA TTGGAGACCA AGAACCCTGG GCCTTTAGAG GTGGTCTAGC AGGAGAGTTC CAGCGTTTGC TGCCAATTGA TGGGGCAAAT GATCTCTTTT TTCAGCCACC TCCACTGACT CCTACCTCCA AAGTTTATAC TATCAGACCT TATTTTCCTA AGGATGAGGC ATCCGTGTAC AAGATTTGCA GAGAAATGTA TGACGATGGA GTGGGTTTAC CCTTTCAAAG TCAGCCTGAT CTTATTGGAG ACAAGTTAGT AGGAGGGCTG CTTTCCCTCA GCCTGGATTA CTGCTTTGTC CTAGAAGATG AAGATGGCAT ATGTGGTTAT GCCTTGGGCA CTGTAGATGT GACCCCCTTT ATTAAAAAAT GTAAAATTTC CTGGATCCCC TTCATGCAGG AGAAGTATAC CAAGCCAAAT GGTGACAAGG AACTCTCTGA GGCTGAGAAA ATAATGTTGA GTTTCCATGA AGAACAGGAA GTACTGCCAG AAACTTTCCT TGCTAATTTC CCTTCTCTGA TAAAGATGGA CATTCACAAA AAAGTAACTG ACCCAAGTGT GGCCAAAAGC ATGATGGCTT GCCTCCTGTC TTCACTGAAG GCTAATGGCT CCCGGGGAGC TTTCTGTGAA GTGAGACCAG ATGATAAAAG AATTCTGGAA TTTTACAGCA AGTTAGGATG TTTTGAAATT GCAAAAATGG AAGGATTTCC AAAGGATGTG GTTATACTTG GTCGGAGCCT GTGACATTTG TTGACACTGT GAACTGTCCA AAAGTCTCTT AACTGCACCT TGTGAATGGT AGTTGAGGTC TTCATACAGT TCAGCCTCTA GAATGGTAAC AAATCAGCCA ATTGGATTCG AAACAAAGAA GACTATGTAA AACTCACCCA TCACACTTTG AGACTACTCA CTGGTTGGAA GAATATAGTA TTGCAGCAAA TCCTGTATGA AAGAGAGATG TGGGCTTCCT TTTTGAGTCT TGTGTTAGGT GCTGAGACCT TTTACATGGG CTTATACAGG GAGAGAGTCT TCAATAAATG TAGTCAGCAC TATTTTCTGC ATCCAGTGTG GTTGCGTTTC TCACCTGAGA GTAATCAAGA TAACATCTGT CATCTTCCTT GGTTTATTGA GTGAAATGCC TCTCAGTCTT AGGGGACATG GCAGAGATGA AAGAAAGAAA GAGTGGGTTT CAGAAGTGTC AGGGTGGAGT GATTCCAAGT GGGATGGTTG TGGCATTAGT TTAAGCTGAA TAAATAATTT CAATTTGGGG CAGTTATTCT GCTTTTTGTA AAGCCGTGGC CAATTGTCTC CTGTAATGAC TGTTGGTTCA GGCATGTTGT ACTTTGTAGG GACAAATGTG CATTTGTTTG TGGCAAAAGC CTACAATTGA CAAACTTGTA AATTTCTTTG TATATAAACT AGCTGTAACC TGACTATCCT TTGTGTTTAC TGTTTTTGTA AATTTTTTTC CTCTATAAAT GAAAGGGTGT TGGTTCAGAA TGGCACTTTG AATAATGTAA ACCAGTGAAA AGTGGATTTT CTTTACTTTT GTCTTTGGGT TTGGGGTTGT TTTTGTTCTT TTTGAAGTTT TATTATTTTT AAAGTGCCTC CCACCTAGGC GTAGGCCATG ACCATTTGGG GTACGAGAGC CTAATTTTGT AGGACTTAAT CTGTTGAAAA GTGCAGTTAC

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		TTCTGGAAAT TAACCTCAAT ATTAGGTCAG CATGTGAAAT GTTGGATTTG ACATGTCAGG TAGGGTTCAG GGACTGATTG GTCCCATTTG CCCTCAGGTC AGTTGTTTAA TCTCAAGACC TGTTACTACT GATTTTATTA AATCAGAGTC TTTAATTCTT GCATGTTTGT ATCTAATTTC TGAACGAATG AGCACACTTT AACCAGTTAT TTACAGTTAC CTTTTTCCTT TAACCGGATT GTGAAAGCTT CATGTATTTT AATTTAGATT CTGTGTTTTT AAGGGTTCTG AGCATGAAGC TGGCAGATAG TCGGCAGGAC TCATTTTTTC ATCATGGCTG GCTGATTTCT CCATAGATTG ATAACAGTAT TTTGTTATCT TGCTTCTCTG TAGTTTTGCA TCAGCTGTTT AACTTTGAGC TGAGTGAGGG GAGAGGGGTA AAGAGAAAGA AACTTAAGTT TTCTTTCACA GAACTCCACC ATTGTGGGCT TTGAGAGAGC CCTAAAGCAT TGTACCTAGT GGTACCTAGT GACTTCCAAC CAAAGCCTTT GAGTATGCAC TAAATAGGTG AGAAGAAAGG AGAGAAGGTT TTTAGGTTAG AAACCTTTAA CCGATAGAAG GATATGGTAT GTTGTAAAGC TGGAACCAAG TTTGCATTTT TGAGGGCTTG AGATGAAGGG AAGACTCTTA CCAGATAGTA AGACAGCTGA GTTTTCCTCA GTTTTCTCGT CTTAACACTA GTGGACAATT CTAGCATTTT GTTTGGAGGA TTTCAGAGTT AACCTCATGG AATTCAGGAT TTTTTAGCAA GTTTGCTTTT GGTTTTATCT TGGCTTTTAG TAATCATGTT GGCTGGTCTG GTCACAGGTG ACTGTGAAAC AGATGCCCTG GTCTTGCTTT CATCACTCTA GGATCATGAA GTGCTATGCT ATTTCCTGGT TATGAATATT AAGGTTGGAA TTACATTTTT ATTGATTGTT TGGATCAGAG CTCAGTTCCT GTAGAAAACG AACTGTAAAA GACCATGCAA GAGGCAAAAT AAAACTTGAA GTGAATGCTT GTAAAAAAAA AAAAAAAAAA
60	Antígeno expresado por meningioma 5 humano (MGEA5) ARNm, variante de transcripción 2	GGTCTGCAGC GCAAGCGCAG TGCGGATAAA CAGGAAGCGG GCGGTGGAGG CAGCAGCAGA GGGAGAGCTC GGGGCTTGGA GGGGAAACAG CGGAAGACCT AAGATTATCG GGAGGGCAGC AGAGGCAGAG AACGAGGACA GGACCCTTGG CCGTCTTCTT CCAGGGAACG AGAGGTCACA GCCTCGCTCT CCGCTTAGGC TTCTGGCGCC CCAGCTTAAA GCCGAGGCTG CGGCTGACAA AGGGCTCGCG CCGGTGCCGC CGCCCTTCTC ATCCGGGCAT TCGGGTCCCT GCGGAGAGGG AGGGGGAAGG GCAGAGGGGG AGGGGAAGGA GCCGGAGGGG CGCACACTTG GAGCTGAAGC CCTCTCCAGG GCTCCGGGCC GGTGCCCCAA CGGACAGAGG TCGAGGAGGA CCCGCAGAGG TGGCAGCGGC CGGGGGCAGG AGGATGGTGC AGAAGGAGAG TCAAGCGACG TTGGAGGAGC GGGAGAGCGA GCTCAGCTCC AACCCTGCCG CCTCTGCGGG GGCATCGCTG GAGCCGCCGG CAGCTCCGGC ACCCGGAGAA GACAACCCCG CCGGGGCTGG GGGAGCGGCG GTGGCCGGGG CTGCAGGAGG GGCTCGGCGG TTCCTCTGCG GTGTGGTGGA AGGATTTTAT GGAAGACCTT GGGTTATGGA ACAGAGAAAA GAACTCTTTA GAAGGCTCCA GAAATGGGAA TTAAATACAT ACTTGTATGC CCCAAAAGAT GACTACAAAC ATAGGATGTT TTGGCGAGAG ATGTATTCAG TGGAGGAAGC TGAGCAACTT ATGACTCTCA TCTCTGCTGC ACGAGAATAT GAGATAGAGT TCATCTATGC GATCTCACCT GGATTGGATA TCACTTTTTC TAACCCCAAG GAAGTATCCA CATTGAAACG TAAATTGGAC CAGGTTTCTC AGTTTGGGTG CAGATCATTT GCTTTGCTTT TTGATGATAT AGACCATAAT ATGTGTGCAG CAGACAAAGA GGTATTCAGT TCTTTTGCTC ATGCCCAAGT CTCCATCACA AATGAAATCT ATCAGTACCT AGGAGAGCCA GAAACTTTCC TCTTCTGTCC CACAGAATAC TGTGGCACTT TCTGTTATCC AAATGTGTCT CAGTCTCCAT ATTTAAGGAC TGTGGGTGAA AAGCTTCTAC CTGGAATTGA AGTGCTTTGG ACAGGTCCCA AAGTTGTTTC TAAAGAAATT CCAGTAGAGT CCATCGAAGA GGTTTCTAAG ATTATTAAGA GAGCTCCAGT AATCTGGGAT AACATTCATG CTAATGATTA TGATCAGAAG AGACTGTTTC TGGGCCCGTA CAAAGGAAGA TCCACAGAAC TCATCCCACG GTTAAAAGGA GTCCTCACTA ATCCAAATTG TGAATTTGAA GCCAACTACG TTGCTATCCA CACCCTTGCC ACCTGGTACA AATCAAACAT GAATGGAGTG AGAAAAGATG TAGTGATGAG TAGGCAAGTT GCACACAGTG GAGCTAAAGC AAGTGTAGTT GATGGGACTC CTTTAGTTGC AGCACCCTCT TTAAATGCCA CAACCGTAGT AACAACAGTT TATCAGGAGC CCATTATGAG CCAGGGAGCA GCCTTGAGTG GTGAGCCTAC TACTCTGACC AAGGAAGAAG AAAAGAAACA GCCTGATGAA GAACCCATGG ACATGGTGGT GGAAAAACAA GAAGAAACGG ACCACAAGAA TGACAATCAA ATACTGAGTG AAATTGTTGA AGCGAAAATG GCAGAGGAAT TGAAACCAAT GGACACTGAT AAAGAGAGCA TAGCTGAATC AAAATCCCCA GAGATGTCCA TGCAAGAAGA TTGTATTAGT GACATTGCCC CCATGCAAAC TGATGAACAG ACAAACAAGG AGCAGTTTGT GCCAGGTCCA AATGAAAAGC CTTTGTACAC TGCGGAACCA GTGACCCTGG AGGATTTGCA GTTACTTGCT GATCTATTCT ACCTTCCTTA CGAGCATGGA CCCAAAGGAG CACAGATGTT ACGGGAATTT CAATGGCTTC GAGCAAATAG TAGTGTTGTC AGTGTCAATT GCAAAGGAAA AGACTCTGAA AAAATTGAAG AATGGCGGTC ACGAGCAGCC AAGTTTGAAG AGATGTGTGG ACTAGTGATG GGAATGTTCA CTCGGCTCTC CAATTGTGCC AACAGGACAA TTCTTTATGA CATGTACTCC TATGTTTGGG ATATCAAGAG TATAATGTCT ATGGTGAAGT CTTTTGTACA GTGGTTAGGG TGTCGTAGTC ATTCTTCAGC ACAATTCTTA ATTGGAGACC AAGAACCCTG GGCCTTTAGA GGTGGTCTAG CAGGAGAGTT CCAGCGTTTG CTGCCAATTG ATGGGGCAAA TGATCTCTTT TTTCAGCCAC CTCCACTGAC TCCTACCTCC AAAGTTTATA CTATCAGACC TTATTTTCCT AAGGATGAGG CATCCGTGTA CAAGATTTGC AGAGAAATGT ATGACGATGG AGTGGGTTTA CCCTTTCAAA GTCAGCCTGA TCTTATTGGA GACAAGTTAG TAGGAGGGCT GCTTTCCCTC AGCCTGGATT ACTGCTTTGT CCTAGAAGAT GAAGATGGCA TATGTGGTTA TGCCTTGGGC ACTGTAGATG TGACCCCCTT TATTAAAAAA TGTAAAATTT CCTGGATCCC CTTCATGCAG GAGAAGTATA CCAAGCCAAA TGGTGACAAG GAACTCTCTG AGGCTGAGAA AATAATGTTG AGTTTCCATG AAGAACAGGA AGTACTGCCA GAAACTTTCC TTGCTAATTT CCCTTCTCTG ATAAAGATGG ACATTCACAA AAAAGTAACT GACCCAAGTG TGGCCAAAAG CATGATGGCT TGCCTCCTGT

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
		CTTCACTGAA GGCTAATGGC TCCCGGGGAG CTTTCTGTGA AGTGAGACCA GATGATAAAA GAATTCTGGA ATTTTACAGC AAGTTAGGAT GTTTTGAAAT TGCAAAAATG GAAGGATTTC CAAAGGATGT GGTTATACTT GGTCGGAGCC TGTGACATTT GTTGACACTG TGAACTGTCC AAAAGTCTCT TAACTGCACC TTGTGAATGG TAGTTGAGGT CTTCATACAG TTCAGCCTCT AGAATGGTAA CAAATCAGCC AATTGGATTC GAAACAAAGA AGACTATGTA AAACTCACCC ATCACACTTT GAGACTACTC ACTGGTTGGA AGAATATAGT ATTGCAGCAA ATCCTGTATG AAAGAGAGAT GTGGGCTTCC TTTTTGAGTC TTGTGTTAGG TGCTGAGACC TTTTACATGG GCTTATACAG GGAGAGAGTC TTCAATAAAT GTAGTCAGCA CTATTTTCTG CATCCAGTGT GGTTGCGTTT CTCACCTGAG AGTAATCAAG ATAACATCTG TCATCTTCCT TGGTTTATTG AGTGAAATGC CTCTCAGTCT TAGGGGACAT GGCAGAGATG AAAGAAAGAA AGAGTGGGTT TCAGAAGTGT CAGGGTGGAG TGATTCCAAG TGGGATGGTT GTGGCATTAG TTTAAGCTGA ATAAATAATT TCAATTTGGG GCAGTTATTC TGCTTTTTGT AAAGCCGTGG CCAATTGTCT CCTGTAATGA CTGTTGGTTC AGGCATGTTG TACTTTGTAG GGACAAATGT GCATTTGTTT GTGGCAAAAG CCTACAATTG ACAAACTTGT AAATTTCTTT GTATATAAAC TAGCTGTAAC CTGACTATCC TTTGTGTTTA CTGTTTTTGT AAATTTTTTT CCTCTATAAA TGAAAGGGTG TTGGTTCAGA ATGGCACTTT GAATAATGTA AACCAGTGAA AAGTGGATTT TCTTTACTTT TGTCTTTGGG TTTGGGGTTG TTTTTGTTCT TTTTGAAGTT TTATTATTTT TAAAGTGCCT CCCACCTAGG CGTAGGCCAT GACCATTTGG GGTACGAGAG CCTAATTTTG TAGGACTTAA TCTGTTGAAA AGTGCAGTTA CTTCTGGAAA TTAACCTCAA TATTAGGTCA GCATGTGAAA TGTTGGATTT GACATGTCAG GTAGGGTTCA GGGACTGATT GGTCCCATTT GCCCTCAGGT CAGTTGTTTA ATCTCAAGAC CTGTTACTAC TGATTTTATT AAATCAGAGT CTTTAATTCT TGCATGTTTG TATCTAATTT CTGAACGAAT GAGCACACTT TAACCAGTTA TTTACAGTTA CCTTTTTCCT TTAACCGGAT TGTGAAAGCT TCATGTATTT TAATTTAGAT TCTGTGTTTT TAAGGGTTCT GAGCATGAAG CTGGCAGATA GTCGGCAGGA CTCATTTTTT CATCATGGCT GGCTGATTTC TCCATAGATT GATAACAGTA TTTTGTTATC TTGCTTCTCT GTAGTTTTGC ATCAGCTGTT TAACTTTGAG CTGAGTGAGG GGAGAGGGGT AAAGAGAAAG AAACTTAAGT TTTCTTTCAC AGAACTCCAC CATTGTGGGC TTTGAGAGAG CCCTAAAGCA TTGTACCTAG TGGTACCTAG TGACTTCCAA CCAAAGCCTT TGAGTATGCA CTAAATAGGT GAGAAGAAAG GAGAGAAGGT TTTTAGGTTA GAAACCTTTA ACCGATAGAA GGATATGGTA TGTTGTAAAG CTGGAACCAA GTTTGCATTT TTGAGGGCTT GAGATGAAGG GAAGACTCTT ACCAGATAGT AAGACAGCTG AGTTTTCCTC AGTTTTCTCG TCTTAACACT AGTGGACAAT TCTAGCATTT TGTTTGGAGG ATTTCAGAGT TAACCTCATG GAATTCAGGA TTTTTTAGCA AGTTTGCTTT TGGTTTTATC TTGGCTTTTA GTAATCATGT TGGCTGGTCT GGTCACAGGT GACTGTGAAA CAGATGCCCT GGTCTTGCTT TCATCACTCT AGGATCATGA AGTGCTATGC TATTTCCTGG TTATGAATAT TAAGGTTGGA ATTACATTTT TATTGATTGT TTGGATCAGA GCTCAGTTCC TGTAGAAAAC GAACTGTAAA AGACCATGCA AGAGGCAAAA TAAAACTTGA AGTGAATGCT TGTAAAAAAA AAAAAAAAAA A

(continúa)

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
61	Fosfatidilinositol-4,5-bifosfato humano 3-quinasa, subunidad catalítica alfa (PIK3CA) ARNm	TCTCCCTCGG CGCCGCCGCC GCCGCCCGCG GGGCTGGGAC CCGATGCGGT TAGAGCCGCG GAGCCTGGAA GAGCCCCGAG CGTTTCTGCT TTGGGACAAC CATACATCTA ATTCCTTAAA GTAGTTTTAT ATGTAAAACT TGCAAAGAAT CAGAACAATG CCTCCACGAC CATCATCAGG TGAACTGTGG GGCATCCACT TGATGCCCCC AAGAATCCTA GTAGAATGTT TACTACCAAA TGGAATGATA GTGACTTTAG AATGCCTCCG TGAGGCTACA TTAATAACCA TAAAGCATGA ACTATTTAAA GAAGCAAGAA AATACCCCCT CCATCAACTT CTTCAAGATG AATCTTCTTA CATTTTCGTA AGTGTTACTC AAGAAGCAGA AAGGGAAGAA TTTTTTGATG AAACAAGACG ACTTTGTGAC CTTCGGCTTT TTCAACCCTT TTTAAAAGTA ATTGAACCAG TAGGCAACCG TGAAGAAAAG ATCCTCAATC GAGAAATTGG TTTTGCTATC GGCATGCCAG TGTGTGAATT TGATATGGTT AAAGATCCAG AAGTACAGGA CTTCCGAAGA AATATTCTGA ACGTTTGTAA AGAAGCTGTG GATCTTAGGG ACCTCAATTC ACCTCATAGT AGAGCAATGT ATGTCTATCC TCCAAATGTA GAATCTTCAC CAGAATTGCC AAAGCACATA TATAATAAAT TAGATAAAGG GCAAATAATA GTGGTGATCT GGGTAATAGT TTCTCCAAAT AATGACAAGC AGAAGTATAC TCTGAAAATC AACCATGACT GTGTACCAGA ACAAGTAATT GCTGAAGCAA TCAGGAAAAA AACTCGAAGT ATGTTGCTAT CCTCTGAACA ACTAAAACTC TGTGTTTTAG AATATCAGGG CAAGTATATT TTAAAAGTGT GTGGATGTGA TGAATACTTC CTAGAAAAAT ATCCTCTGAG TCAGTATAAG TATATAAGAA GCTGTATAAT GCTTGGGAGG ATGCCCAATT TGATGTTGAT GGCTAAAGAA AGCCTTTATT CTCAACTGCC AATGGACTGT TTTACAATGC CATCTTATTC CAGACGCATT TCCACAGCTA CACCATATAT GAATGGAGAA ACATCTACAA AATCCCTTTG GGTTATAAAT AGTGCACTCA GAATAAAAAT TCTTTGTGCA ACCTACGTGA ATGTAAATAT TCGAGACATT GATAAGATCT ATGTTCGAAC AGGTATCTAC CATGGAGGAG AACCCTTATG TGACAATGTG AACACTCAAA GAGTACCTTG TTCCAATCCC AGGTGGAATG AATGGCTGAA TTATGATATA TACATTCCTG ATCTTCCTCG TGCTGCTCGA CTTTGCCTTT CCATTTGCTC TGTTAAAGGC CGAAAGGGTG CTAAAGAGGA ACACTGTCCA TTGGCATGGG GAAATATAAA CTTGTTTGAT TACACAGACA CTCTAGTATC TGGAAAAATG GCTTTGAATC TTTGGCCAGT ACCTCATGGA TTAGAAGATT TGCTGAACCC TATTGGTGTT ACTGGATCAA ATCCAAATAA AGAAACTCCA TGCTTAGAGT TGGAGTTTGA CTGGTTCAGC AGTGTGGTAA AGTTCCCAGA TATGTCAGTG ATTGAAGAGC ATGCCAATTG GTCTGTATCC CGAGAAGCAG GATTTAGCTA TTCCCACGCA GGACTGAGTA ACAGACTAGC TAGAGACAAT GAATTAAGGG AAAATGACAA AGAACAGCTC AAAGCAATTT CTACACGAGA TCCTCTCTCT GAAATCACTG AGCAGGAGAA AGATTTTCTA TGGAGTCACA GACACTATTG TGTAACTATC CCCGAAATTC TACCCAAATT GCTTCTGTCT GTTAAATGGA ATTCTAGAGA TGAAGTAGCC CAGATGTATT GCTTGGTAAA AGATTGGCCT CCAATCAAAC CTGAACAGGC TATGGAACTT CTGGACTGTA ATTACCCAGA TCCTATGGTT CGAGGTTTTG CTGTTCGGTG CTTGGAAAAA TATTTAACAG ATGACAAACT TTCTCAGTAT TTAATTCAGC TAGTACAGGT CCTAAAATAT GAACAATATT TGGATAACTT GCTTGTGAGA TTTTTACTGA AGAAAGCATT GACTAATCAA AGGATTGGGC ACTTTTTCTT TTGGCATTTA AAATCTGAGA TGCACAATAA AACAGTTAGC CAGAGGTTTG GCCTGCTTTT GGAGTCCTAT TGTCGTGCAT GTGGGATGTA TTTGAAGCAC CTGAATAGGC AAGTCGAGGC AATGGAAAAG CTCATTAACT TAACTGACAT TCTCAAACAG GAGAAGAAGG ATGAAACACA AAAGGTACAG ATGAAGTTTT TAGTTGAGCA AATGAGGCGA CCAGATTTCA TGGATGCTCT ACAGGGCTTT CTGTCTCCTC TAAACCCTGC TCATCAACTA GGAAACCTCA GGCTTGAAGA GTGTCGAATT ATGTCCTCTG CAAAAAGGCC ACTGTGGTTG AATTGGGAGA ACCCAGACAT CATGTCAGAG TTACTGTTTC AGAACAATGA GATCATCTTT AAAAATGGGG ATGATTTACG GCAAGATATG CTAACACTTC AAATTATTCG TATTATGGAA AATATCTGGC AAAATCAAGG TCTTGATCTT CGAATGTTAC CTTATGGTTG TCTGTCAATC GGTGACTGTG TGGGACTTAT TGAGGTGGTG CGAAATTCTC ACACTATTAT GCAAATTCAG TGCAAAGGCG GCTTGAAAGG TGCACTGCAG TTCAACAGCC ACACACTACA TCAGTGGCTC AAAGACAAGA ACAAAGGAGA AATATATGAT GCAGCCATTG ACCTGTTTAC ACGTTCATGT GCTGGATACT GTGTAGCTAC CTTCATTTTG GGAATTGGAG ATCGTCACAA TAGTAACATC ATGGTGAAAG ACGATGGACA ACTGTTTCAT ATAGATTTTG GACACTTTTT GGATCACAAG AAGAAAAAAT TTGGTTATAA ACGAGAACGT GTGCCATTTG TTTTGACACA GGATTTCTTA ATAGTGATTA GTAAAGGAGC CCAAGAATGC ACAAAGACAA GAGAATTTGA GAGGTTTCAG GAGATGTGTT ACAAGGCTTA TCTAGCTATT CGACAGCATG CCAATCTCTT CATAAATCTT TTCTCAATGA TGCTTGGCTC TGGAATGCCA GAACTACAAT CTTTTGATGA CATTGCATAC ATTCGAAAGA CCCTAGCCTT AGATAAAACT GAGCAAGAGG CTTTGGAGTA TTTCATGAAA CAAATGAATG ATGCACATCA TGGTGGCTGG ACAACAAAAA TGGATTGGAT CTTCCACACA ATTAAACAGC ATGCATTGAA CTGAAAAGAT AACTGAGAAA ATGAAAGCTC ACTCTGGATT CCACACTGCA CTGTTAATAA CTCTCAGCAG GCAAAGACCG ATTGCATAGG AATTGCACAA TCCATGAACA GCATTAGAAT TTACAGCAAG AACAGAAATA AAATACTATA TAATTTAAAT AATGTAAACG CAAACAGGGT TTGATAGCAC TTAAACTAGT TCATTTCAAA ATTAAGCTTT AGAATAATGC GCAATTTCAT GTTATGCCTT AAGTCCAAAA AGGTAAACTT TGAAGATTGT TTGTATCTTT TTTTAAAAAA CAAAACAAAA CAAAAATCCC CAAAATATAT AGAAATGATG GAGAAGGAAA AAAAAAAAAA AAAA

LISTADO DE SECUENCIAS

[0253]

<110> CEPHEID

<120> MÉTODOS DE DETECCIÓN DE CÁNCER DE VEJIGA

<130> CEPHD-33197/WO-1/ORD

<150> US 61/773.724
<151> 2013-03-06

<160> 76

<170> PatentIn versión 3,5

<210> 1
<211> 1434
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 1

```
tcgttccttg gcagggccct atgatttatg caggagcaga ggcagcacgc aatcgagctg       60
tcaagagagc gtcagcttat taggcaaatg ctgcgtggtt tttgaagagg gtcgacacta      120
taaaatccca ctccaggctc tggagtggag aaactcagag accaagtcca ttgagagact      180
gaggggaaag agaggagaga aagaaaaaga gagtgggaac agtaaagaga aaggaagaca      240
acctccagag aaagcccccg gagacgtctc tctgcagaga ggcggcagca cccggctcac      300
ctgcgaagcg cctgggaagc gagtgcccct aacatgcggc tgccgctgct tgtgtccgcg      360
ggagtcctgc tggtggctct cctgccctgc ccgccatgca gggcgctcct gagccgcggg      420
ccggtcccgg gagctcggca ggcgccgcag caccctcagc ccttggattt cttccagccg      480
ccgccgcagt ccgagcagcc ccagcagccg caggctcggc cggtcctgct ccgcatggga      540
gaggagtact tcctccgcct ggggaacctc aacaagagcc cggccgctcc cctttcgccc      600
gcctcctcgc tcctcgccgg aggcagcggc agccgccctt cgccggaaca ggcgaccgcc      660
aacttttcc gcgtgttgct gcagcagctg ctgctgcctc ggcgctcgct cgacagcccc      720
gcggctctcg cggagcgcgg cgctaggaat gccctcggcg gccaccagga ggcaccggag      780
agagaaaggc ggtccgagga gcctcccatc tccctggatc tcaccttcca cctcctccgg      840
gaagtcttgg aaatggccag ggccgagcag ttagcacagc aagctcacag caacaggaaa      900
ctcatggaga ttattgggaa ataaaacggt gcgtttggcc aaaaagaatc tgcatttagc      960
acaaaaaaaa tttaaaaaaa tacagtattc tgtaccatag cgctgctctt atgccatttg     1020
tttatttta tatagcttga aacatagagg gagagaggga gagagcctat acccccttact     1080
tagcatgcac aaagtgtatt cacgtgcagc agcaacacaa tgttattcgt tttgtctacg     1140
tttagtttcc gtttccaggt gtttatagtg gtgttttaaa gagaatgtag acctgtgaga     1200
aaacgttttg tttgaaaaag cagacagaag tcactcaatt gtttttgttg tggtctgagc     1260
caaagagaat gccattctct tgggtgggta agactaaatc tgtaagctct ttgaaacaac     1320
tttctcttgt aaacgtttca gtaataaaac atctttccag tccttggtca gtttggttgt     1380
gtaagagaat gttgaatact tatattttta ataaaagttg caaaggtaat catg           1434
```

<210> 2
<211> 5156
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 2

```
ccgctaatgt accatgccct ggtgctggaa agtgcctgag ccagctgccc cagcggcctc       60
agcactacca agttggcaca aagctcccca aattcggagg ggctcaggga aacgagtgga      120
ggggatgagg aggtgagggg taaacccatc atttcagttg gcatttgagc aggtgccatg      180
ctcagcggag atgaggctct cccatctgta ggggccgtat taacatgcac actctaaaag      240
tgcccttcgt ttctccagcc tcagctttgt ccctctcctc ctccacgtca acctggccag      300
agggtctgga cgccacagcc agggcacccc ctgctttggt ggtgactgct aatattggcc      360
aggccggcgg atcatcgtcc aggcagtttc ggcagagagc cttgggcacc agtgactccc      420
cggtcctctt tatccactgt ccaggagctg cggggactgc gcagggacta gagtacaggg      480
gccgaagagt caccaccgag cttgtgtggg aggaggtgga ttccagcccc cagccccagg      540
gctctgaatc gctgccagct cagccccctg cccagcctgc cccacagcct gagccccagc      600
aggccagaga gcccagtcct gaggtgagct gctgtggcct gtggcccagg cgaccccagc      660
gctcccagaa ctgaggctgg cagccagccc cagcctcagc cccaactgcg aggcagagag      720
acaccaatgg gaatcccaat ggggaagtcg atgctggtgc ttctcacctt cttggccttc      780
gcctcgtgct gcattgctgc ttaccgcccc agtgagaccc tgtgcggcgg ggagctggtg      840
gacaccctcc agttcgtctg tggggaccgc ggcttctact tcagcaggcc cgcaagccgt      900
gtgagccgtc gcagccgtgg catcgttgag gagtgctgtt tccgcagctg tgacctggcc      960
ctcctggaga cgtactgtgc tacccccgcc aagtccgaga gggacgtgtc gacccctccg     1020
accgtgcttc cggacaactt ccccagatac cccgtgggca agttcttcca atatgacacc     1080
tggaagcagt ccacccagcg cctgcgcagg ggcctgcctg ccctcctgcg tgcccgccgg     1140
ggtcacgtgc tcgccaagga gctcgaggcg ttcagggagg ccaaacgtca ccgtcccctg     1200
attgctctac ccacccaaga ccccgcccac gggggcgccc ccccagagat ggccagcaat     1260
cggaagtgag caaaactgcc gcaagtctgc agcccggcgc caccatcctg cagcctcctc     1320
ctgaccacgg acgtttccat caggttccat cccgaaaatc tctcggttcc acgtcccctt     1380
ggggcttctc ctgacccagt ccccgtgccc cgcctccccg aaacaggcta ctctcctcgg     1440
ccccctccat cgggctgagg aagcacagca gcatcttcaa acatgtacaa aatcgattgg     1500
```

ctttaaacac ccttcacata ccctcccccc aaattatccc caattatccc cacacataaa 1560

aaatcaaaac attaaactaa ccccccttccc ccccccccac aacaaccctc ttaaaactaa 1620

ttggcttttt agaaacaccc cacaaaagct cagaaattgg ctttaaaaaa aacaaccacc 1680

aaaaaaaatc aattggctaa aaaaaaaaag tattaaaaac gaattggctg agaaacaatt 1740

ggcaaaataa aggaatttgg cactccccac ccccctcttt ctcttctccc ttggactttg 1800

agtcaaattg gcctggactt gagtccctga accagcaaag agaaaagaag gaccccagaa 1860

atcacaggtg ggcacgtcgc tgctaccgcc atctcccttc tcacgggaat tttcagggta 1920

aactggccat ccgaaaatag caacaaccca gactggctcc tcactccctt ttccatcact 1980

aaaaatcaca gagcagtcag agggacccag taagaccaaa ggaggggagg acagagcatg 2040

aaaaccaaaa tccatgcaaa tgaaatgtaa ttggcacgac cctcaccccc aaatcttaca 2100

tctcaattcc catcctaaaa agcactcata ctttatgcat ccccgcagct acacacacac 2160

aacacacagc acacgcatga acacagcaca cacacgagca cagcacacac acaaacgcac 2220

agcacacaca gcacacagat gagcacacag cacacacaca aacgcacagc acacacacgc 2280

acacacatgc acacacagca cacaaacgca cggcacacac acgcacacac atgcacacac 2340

agcacacaca caaacgcaca gcacacacaa acgcacagca cacacgcaca cacagcacac 2400

acacgagcac acagcacaca aacgcacagc acacgcacac acatgcacac acagcacaca 2460

cactagcaca cagcacacac acaaagacac agcacacaca tgcacacaca gcacacacac 2520

gcgaacacag cacacacgaa cacagcacac acagcacaca cacaaacaca gcacacacat 2580

gcacacagca cacgcacaca cagcacacac atgaacacag cacacagcac acacatgcac 2640

acacagcaca cacgcatgca cagcacacat gaacacagca cacacacaaa cacacagcac 2700

acacatgcac acacagcaca cacactcatg cgcagcacat acatgaacac agctcacagc 2760

acacaaacac gcagcacaca cgttgcacac gcaagcaccc acctgcacac acacatgcgc 2820

acacacacgc acacccccac aaaattggat gaaaacaata agcatatcta agcaactacg 2880

atatctgtat ggatcaggcc aaagtcccgc taagattctc caatgttttc atggtctgag 2940

ccccgctcct gttcccatct ccactgcccc tcggccctgt ctgtgccctg cctctcagag 3000

gaggggctc agatggtgcg gcctgagtgt gcggccggcg gcatttggga tacacccgta 3060

gggtgggcgg ggtgtgtccc aggcctaatt ccatctttcc accatgacag agatgccctt 3120

gtgaggctgg cctccttggc gcctgtcccc acggcccccg cagcgtgagc cacgatgctc 3180

cccatacccc acccattccc gatacacctt acttactgtg tgttggccca gccagagtga 3240

ggaaggagtt tggccacatt ggagatggcg gtagctgagc agacatgccc ccacgagtag 3300

cctgactccc tggtgtgctc ctggaaggaa gatcttgggg acccccccac cggagcacac 3360

ctagggatca tctttgcccg tctcctgggg acccccccaag aaatgtggag tcctcggggg 3420

ccgtgcactg atgcggggag tgtgggaagt ctggcggttg gaggggtggg tgggggggcag 3480

tgggggctgg gcgggggggag ttctggggta ggaagtggtc ccgggagatt ttggatggaa 3540

aagtcaggag gattgacagc agacttgcag aattacatag agaaattagg aacccccaaa 3600

tttcatgtca attgatctat tccccctctt tgtttcttgg ggcatttttc ctttttttt 3660

tttttttgtt tttttttac ccctccttag ctttatgcgc tcagaaacca aattaaaccc 3720

cccccccatg taacaggggg gcagtgacaa aagcaagaac gcacgaagcc agcctggaga 3780

ccaccacgtc ctgccccccg ccatttatcg ccctgattgg attttgtttt tcatctgtcc 3840

ctgttgcttg ggttgagttg agggtggagc ctcctgggggg gcactggcca ctgagccccc 3900

ttggagaagt cagaggggag tggagaaggc cactgtccgg cctggcttct ggggacagtg 3960

gctggtcccc agaagtcctg agggcggagg ggggggttgg gcagggtctc ctcaggtgtc 4020

aggagggtgc tcggaggcca caggaggggg ctcctggctg gcctgaggct ggccggaggg 4080

gaaggggcta gcaggtgtgt aaacagaggg ttccatcagg ctggggcagg gtggccgcct 4140

tccgcacact tgaggaaccc tcccctctcc ctcggtgaca tcttgcccgc ccctcagcac 4200

cctgccttgt ctccaggagg tccgaagctc tgtgggacct cttgggggca aggtggggtg 4260

aggccgggga gtagggaggt caggcgggtc tgagcccaca gagcaggaga gctgccaggt 4320

ctgcccatcg accaggttgc ttgggccccg gagcccacgg gtctggtgat gccatagcag 4380

ccaccaccgc ggcgcctagg gctgcggcag ggactcggcc tctgggaggt ttacctcgcc 4440

cccacttgtg cccccagctc agccccccctg cacgcagccc gactagcagt ctagaggcct 4500

gaggcttctg ggtcctggtg acggggctgg catgaccccg ggggtcgtcc atgccagtcc 4560

gcctcagtcg cagagggtcc ctcggcaagc gccctgtgag tgggccattc ggaacattgg 4620

acagaagccc aaagagccaa attgtcacaa ttgtggaacc cacattggcc tgagatccaa 4680

aacgcttcga ggcaccccaa attacctgcc cattcgtcag gacacccacc cacccagtgt 4740

tatattctgc ctcgccggag tgggtgttcc cgggggcact tgccgaccag ccccttgcgt 4800

ccccaggttt gcagctctcc cctgggccac taaccatcct ggcccgggct gcctgtctga 4860

cctccgtgcc tagtcgtggc tctccatctt gtctcctccc cgtgtcccca atgtcttcag 4920

tgggggggccc cctcttgggt cccctcctct gccatcacct gaagaccccc acgccaaaca 4980

ctgaatgtca cctgtgcctg ccgcctcggt ccaccttgcg gcccgtgttt gactcaactc 5040

aactccttta acgctaatat ttccggcaaa atcccatgct tgggttttgt ctttaacctt 5100

gtaacgcttg caatcccaat aaagcattaa aagtcatgaa aaaaaaaaaa aaaaaa 5156

<210> 3
<211> 5182
<212> ADN

<213> Homo sapiens

<400> 3

cgcctgtccc cctcccgagg cccgggctcg cgacggcaga gggctccgtc ggcccaaacc 60

gagctgggcg cccgcggtcc gggtgcagcc tccactccgc cccccagtca ccgcctcccc 120

cggcccctcg acgtggcgcc cttccctccg cttctctgtg ctccccgcgc ccctcttggc 180

gtctggcccc ggcccccgct ctttctcccg caaccttccc ttcgctccct cccgtccccc 240

ccagctccta gcctccgact ccctcccccc ctcacgcccg ccctctcgcc ttcgccgaac 300

caaagtggat taattacacg ctttctgttt ctctccgtgc tgttctctcc cgctgtgcgc 360

ctgcccgcct ctcgctgtcc tctctccccc tcgccctctc ttcggccccc ccctttcacg 420

ttcactctgt ctctcccact atctctgccc ccctctatcc ttgatacaac agctgacctc 480

atttcccgat accttttccc ccccgaaaag tacaacatct ggcccgcccc agcccgaaga 540

cagcccgtcc tccctggaca atcagacgaa ttctcccccc ccccccaaaa aaaagccatc 600

cccccgctct gccccgtcgc acattcggcc cccgcgactc ggccagagcg gcgctggcag 660

aggagtgtcc ggcaggaggg ccaacgcccg ctgttcggtt tgcgacacgc agcagggagg 720

tgggcggcag cgtcgccggc ttccagacac caatgggaat cccaatgggg aagtcgatgc 780

tggtgcttct caccttcttg gccttcgcct cgtgctgcat tgctgcttac cgccccagtg 840

agaccctgtg cggcggggag ctggtggaca ccctccagtt cgtctgtggg gaccgcggct 900

tctacttcag caggcccgca agccgtgtga gccgtcgcag ccgtggcatc gttgaggagt 960

gctgtttccg cagctgtgac ctggccctcc tggagacgta ctgtgctacc cccgccaagt 1020

ccgagaggga cgtgtcgacc cctccgaccg tgcttccgga caacttcccc agataccccg 1080

tgggcaagtt cttccaatat gacacctgga agcagtccac ccagcgcctg cgcaggggcc 1140

tgcctgccct cctgcgtgcc cgccggggtc acgtgctcgc caaggagctc gaggcgttca 1200

gggaggccaa acgtcaccgt cccctgattg ctctacccac ccaagacccc gcccacgggg 1260

gcgcccccccc agagatggcc agcaatcgga agtgagcaaa actgccgcaa gtctgcagcc 1320

cggcgccacc atcctgcagc ctcctcctga ccacggacgt ttccatcagg ttccatcccg 1380

aaaatctctc ggttccacgt ccccctgggg cttctcctga cccagtcccc gtgccccgcc 1440

tccccgaaac aggctactct cctcggcccc ctccatcggg ctgaggaagc acagcagcat 1500

cttcaaacat gtacaaaatc gattggcttt aaacaccctt cacataccct ccccccaaat 1560

tatccccaat tatccccaca cataaaaaat caaaacatta aactaacccc cttcccccccc 1620

ccccacaaca accctcttaa aactaattgg ctttttagaa acaccccaca aaagctcaga 1680

aattggcttt aaaaaaaaca accaccaaaa aaaatcaatt ggctaaaaaa aaaaagtatt 1740

aaaaacgaat tggctgagaa acaattggca aaataaagga atttggcact ccccaccccc 1800

ctctttctct tctcccttgg actttgagtc aaattggcct ggacttgagt ccctgaacca 1860

gcaaagagaa aagaaggacc ccagaaatca caggtgggca cgtcgctgct accgccatct 1920

cccttctcac gggaattttc agggtaaact ggccatccga aaatagcaac aacccagact 1980

ggctcctcac tccctttcc atcactaaaa atcacagagc agtcagaggg acccagtaag 2040

accaaaggag gggaggacag agcatgaaaa ccaaaatcca tgcaaatgaa atgtaattgg 2100

cacgaccctc acccccaaat cttacatctc aattcccatc ctaaaaagca ctcatacttt 2160

atgcatcccc gcagctacac acacacaaca cacagcacac gcatgaacac agcacacaca 2220

cgagcacagc acacacacaa acgcacagca cacacagcac acagatgagc acacagcaca 2280

cacacaaacg cacagcacac acacgcacac acatgcacac acagcacaca aacgcacggc 2340

acacacacgc acacacatgc acacacagca cacacacaaa cgcacagcac acacaaacgc 2400

acagcacaca cgcacacaca gcacacacac gagcacacag cacacaaacg cacagcacac 2460

gcacacacat gcacacacag cacacacact agcacacagc acacacacaa agacacagca 2520

cacacatgca cacacagcac acacacgcga acacagcaca cacgaacaca gcacacacag 2580

cacacacaca aacacagcac acacatgcac acagcacacg cacacacagc acacacatga 2640

acacagcaca cagcacacac atgcacacac agcacacacg catgcacagc acacatgaac 2700

acagcacaca cacaaacaca cagcacacac atgcacacac agcacacaca ctcatgcgca 2760

gcacatacat gaacacagct cacagcacac aaacacgcag cacacacgtt gcacacgcaa 2820

gcacccacct gcacacacac atgcgcacac acacgcacac ccccacaaaa ttggatgaaa 2880

acaataagca tatctaagca actacgatat ctgtatggat caggccaaag tcccgctaag 2940

attctccaat gttttcatgg tctgagcccc gctcctgttc ccatctccac tgcccctcgg 3000

ccctgtctgt gccctgcctc tcagaggagg gggctcagat ggtgcggcct gagtgtgcgg 3060

ccggcggcat ttgggataca cccgtagggt gggcggggtg tgtcccaggc ctaattccat 3120

ctttccacca tgacagagat gcccttgtga ggctggcctc cttggcgcct gtccccacgg 3180

cccccgcagc gtgagccacg atgctcccca taccccaccc attcccgata caccttactt 3240

actgtgtgtt ggcccagcca gagtgaggaa ggagtttggc cacattggag atggcggtag 3300

ctgagcagac atgcccccac gagtagcctg actccctggt gtgctcctgg aaggaagatc 3360

ttggggaccc ccccaccgga gcacacctag ggatcatctt tgcccgtctc ctggggaccc 3420

cccaagaaat gtggagtcct cgggggccgt gcactgatgc ggggagtgtg ggaagtctgg 3480

cggttggagg ggtgggtggg gggcagtggg ggctgggcgg ggggagttct ggggtaggaa 3540

gtggtcccgg gagattttgg atggaaaagt caggaggatt gacagcagac ttgcagaatt 3600

acatagagaa attaggaacc cccaaatttc atgtcaattg atctattccc cctctttgtt 3660

tcttggggca tttttccttt ttttttttt tttgtttttt ttttaccccc ccttagcttt 3720

atgcgctcag aaaccaaatt aaaccccccc cccatgtaac agggggggcag tgacaaaagc 3780

aagaacgcac gaagccagcc tggagaccac cacgtcctgc cccccgccat ttatcgccct 3840

gattggattt tgtttttcat ctgtccctgt tgcttgggtt gagttgaggg tggagcctcc 3900

tgggggggcac tggccactga gccccccttgg agaagtcaga ggggagtgga gaaggccact 3960

gtccggcctg gcttctgggg acagtggctg gtccccagaa gtcctgaggg cggaggggggg 4020

ggttgggcag ggtctcctca ggtgtcagga gggtgctcgg aggccacagg agggggctcc 4080

tggctggcct gaggctggcc ggaggggaag gggctagcag gtgtgtaaac agagggttcc 4140

atcaggctgg ggcagggtgg ccgccttccg cacacttgag gaaccctccc ctctccctcg 4200

gtgacatctt gcccgccccct cagcaccctg ccttgtctcc aggaggtccg aagctctgtg 4260

ggacctcttg ggggcaaggt ggggtgaggc cggggagtag ggaggtcagg cgggtctgag 4320

cccacagagc aggagagctg ccaggtctgc ccatcgacca ggttgcttgg gccccggagc 4380

ccacgggtct ggtgatgcca tagcagccac caccgcggcg cctagggctg cggcagggac 4440

tcggcctctg ggaggtttac ctcgccccca cttgtgcccc cagctcagcc cccctgcacg 4500

cagcccgact agcagtctag aggcctgagg cttctgggtc ctggtgacgg ggctggcatg 4560

accccggggg tcgtccatgc cagtccgcct cagtcgcaga gggtccctcg gcaagcgccc 4620

tgtgagtggg ccattcggaa cattggacag aagcccaaag agccaaattg tcacaattgt 4680

ggaacccaca ttggcctgag atccaaaacg cttcgaggca ccccaaatta cctgcccatt 4740

cgtcaggaca cccacccacc cagtgttata ttctgcctcg ccggagtggg tgttcccggg 4800

ggcacttgcc gaccagcccc ttgcgtcccc aggtttgcag ctctcccctg ggccactaac 4860

catcctggcc cgggctgcct gtctgacctc cgtgcctagt cgtggctctc catcttgtct 4920

cctccccgtg tccccaatgt cttcagtggg gggccccctc ttgggtcccc tcctctgcca 4980

tcacctgaag acccccacgc caaacactga atgtcacctg tgcctgccgc ctcggtccac 5040

cttgcggccc gtgtttgact caactcaact cctttaacgc taatatttcc ggcaaaatcc 5100

catgcttggg ttttgtcttt aaccttgtaa cgcttgcaat cccaataaag cattaaaagt 5160

catgaaaaaa aaaaaaaaaa aa 5182

<210> 4
<211> 4856
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 4

ggccgcgcgc cctcaggacg tggacaggga gggcttcccc gtgtccagga aagcgaccgg 60

gcattgcccc cagtctcccc caaatttggg cattgtcccc gggtcttcca acggactggg 120

cgttgctccc ggacactgag gactggcccc ggggtctcgc tcaccttcag cagcgtccac 180

cgcctgccac agagcgttcg atcgctcgct gcctgagctc ctggtgcgcc cgcggacgca 240

gcctccagct tcgcggagat ggtttcccca gacccccaaa ttatcgtggt ggcccccgag 300

accgaactcg cgtctatgca agtccaacgc actgaggacg gggtaaccat tatccagata 360

ttttgggtgg gccgcaaagg cgagctactt agacgcaccc cggtgagctc ggccatgcag 420

acaccaatgg gaatcccaat ggggaagtcg atgctggtgc ttctcacctt cttggccttc 480

gcctcgtgct gcattgctgc ttaccgcccc agtgagaccc tgtgcggcgg ggagctggtg 540

gacaccctcc agttcgtctg tggggaccgc ggcttctact tcagcaggcc cgcaagccgt 600

gtgagccgtc gcagccgtgg catcgttgag gagtgctgtt tccgcagctg tgacctggcc 660

ctcctggaga cgtactgtgc tacccccgcc aagtccgaga gggacgtgtc gacccctccg 720

accgtgcttc cggacaactt ccccagatac cccgtgggca agttcttcca atatgacacc 780

tggaagcagt ccacccagcg cctgcgcagg ggcctgcctg ccctcctgcg tgcccgccgg 840

ggtcacgtgc tcgccaagga gctcgaggcg ttcagggagg ccaaacgtca ccgtcccctg 900

attgctctac ccacccaaga ccccgcccac gggggcgccc ccccagagat ggccagcaat 960

cggaagtgag caaaactgcc gcaagtctgc agcccggcgc caccatcctg cagcctcctc 1020

ctgaccacgg acgtttccat caggttccat cccgaaaatc tctcggttcc acgtcccccct 1080

ggggcttctc ctgacccagt ccccgtgccc cgcctccccg aaacaggcta ctctcctcgg 1140

ccccctccat cgggctgagg aagcacagca gcatcttcaa acatgtacaa aatcgattgg 1200

ctttaaacac ccttcacata ccctcccccc aaattatccc caattatccc cacacataaa 1260

aaatcaaaac attaaactaa ccccccttccc ccccccccac aacaaccctc ttaaaactaa 1320

ttggcttttt agaaacaccc cacaaaagct cagaaattgg ctttaaaaaa aacaaccacc 1380

aaaaaaaatc aattggctaa aaaaaaaaag tattaaaaac gaattggctg agaaacaatt 1440

ggcaaaataa aggaatttgg cactccccac ccccctcttt ctcttctccc ttggactttg 1500

agtcaaattg gcctggactt gagtccctga accagcaaag agaaaagaag gaccccagaa 1560

atcacaggtg ggcacgtcgc tgctaccgcc atctcccttc tcacgggaat tttcagggta 1620

aactggccat ccgaaaatag caacaaccca gactggctcc tcactccctt ttccatcact 1680

aaaaatcaca gagcagtcag agggacccag taagaccaaa ggaggggagg acagagcatg 1740

aaaaccaaaa tccatgcaaa tgaaatgtaa ttggcacgac cctcaccccc aaatcttaca 1800

tctcaattcc catcctaaaa agcactcata ctttatgcat ccccgcagct acacacacac 1860

aacacacagc acacgcatga acacagcaca cacacgagca cagcacacac acaaacgcac 1920

agcacacaca gcacacagat gagcacacag cacacacaca aacgcacagc acacacacgc 1980

acacacatgc acacacagca cacaaacgca cggcacacac acgcacacac atgcacacac 2040

agcacacaca caaacgcaca gcacacacaa acgcacagca cacacgcaca cacagcacac 2100

acacgagcac acagcacaca aacgcacagc acacgcacac acatgcacac acagcacaca 2160

cactagcaca cagcacacac acaaagacac agcacacaca tgcacacaca gcacacacac 2220

gcgaacacag cacacacgaa cacagcacac acagcacaca cacaaacaca gcacacacat 2280

gcacacagca cacgcacaca cagcacacac atgaacacag cacacagcac acacatgcac 2340

acacagcaca cacgcatgca cagcacacat gaacacagca cacacacaaa cacacagcac 2400

acacatgcac acacagcaca cacactcatg cgcagcacat acatgaacac agctcacagc 2460

acacaaacac gcagcacaca cgttgcacac gcaagcaccc acctgcacac acacatgcgc 2520

acacacacgc acacccccac aaaattggat gaaaacaata agcatatcta agcaactacg 2580

atatctgtat ggatcaggcc aaagtcccgc taagattctc caatgttttc atggtctgag 2640

ccccgctcct gttcccatct ccactgcccc tcggccctgt ctgtgccctg cctctcagag 2700

gaggggctc agatggtgcg gcctgagtgt gcggccggcg gcatttggga tacacccgta 2760

gggtgggcgg ggtgtgtccc aggcctaatt ccatctttcc accatgacag agatgccctt 2820

gtgaggctgg cctccttggc gcctgtcccc acggcccccg cagcgtgagc cacgatgctc 2880

cccatacccc acccattccc gatacacctt acttactgtg tgttggccca gccagagtga 2940

ggaaggagtt tggccacatt ggagatggcg gtagctgagc agacatgccc ccacgagtag 3000

cctgactccc tggtgtgctc ctggaaggaa gatcttgggg acccccccac cggagcacac 3060

ctagggatca tctttgcccg tctcctgggg acccccccaag aaatgtggag tcctcggggg 3120

ccgtgcactg atgcggggag tgtgggaagt ctggcggttg gaggggtggg tgggggcag 3180

tgggggctgg gcgggggggag ttctggggta ggaagtggtc ccgggagatt ttggatggaa 3240

aagtcaggag gattgacagc agacttgcag aattacatag agaaattagg aacccccaaa 3300

tttcatgtca attgatctat tccccctctt tgtttcttgg ggcatttttc ctttttttt 3360

tttttttgtt tttttttac ccctccttag ctttatgcgc tcagaaacca aattaaaccc 3420

ccccccatg taacaggggg gcagtgacaa aagcaagaac gcacgaagcc agcctggaga 3480

ccaccacgtc ctgcccccg ccatttatcg ccctgattgg attttgtttt tcatctgtcc 3540

ctgttgcttg ggttgagttg agggtggagc ctcctgggg gcactggcca ctgagccccc 3600

ttggagaagt cagaggggag tggagaaggc cactgtccgg cctggcttct ggggacagtg 3660

gctggtcccc agaagtcctg agggcggagg ggggggttgg gcagggtctc ctcaggtgtc 3720

aggagggtgc tcggaggcca caggaggggg ctcctggctg gcctgaggct ggccggaggg 3780

gaaggggcta gcaggtgtgt aaacagaggg ttccatcagg ctggggcagg gtggccgcct 3840

tccgcacact tgaggaaccc tcccctctcc ctcggtgaca tcttgcccgc ccctcagcac 3900

cctgccttgt ctccaggagg tccgaagctc tgtgggacct cttgggggca aggtggggtg 3960

```
aggccgggga gtagggaggt caggcgggtc tgagcccaca gagcaggaga gctgccaggt     4020
ctgcccatcg accaggttgc ttgggccccg gagcccacgg gtctggtgat gccatagcag     4080
ccaccaccgc ggcgcctagg gctgcggcag ggactcggcc tctgggaggt ttacctcgcc     4140
cccacttgtg cccccagctc agccccccctg cacgcagccc gactagcagt ctagaggcct     4200
gaggcttctg ggtcctggtg acggggctgg catgaccccg ggggtcgtcc atgccagtcc     4260
gcctcagtcg cagagggtcc ctcggcaagc gccctgtgag tgggccattc ggaacattgg     4320
acagaagccc aaagagccaa attgtcacaa ttgtggaacc cacattggcc tgagatccaa     4380
aacgcttcga ggcaccccaa attacctgcc cattcgtcag gacacccacc cacccagtgt     4440
tatattctgc ctcgccggag tgggtgttcc cgggggcact tgccgaccag ccccttgcgt     4500
ccccaggttt gcagctctcc cctgggccac taaccatcct ggcccgggct gcctgtctga     4560
cctccgtgcc tagtcgtggc tctccatctt gtctcctccc cgtgtcccca atgtcttcag     4620
tgggggggccc cctcttgggt cccctcctct gccatcacct gaagaccccc acgccaaaca     4680
ctgaatgtca cctgtgcctg ccgcctcggt ccaccttgcg gcccgtgttt gactcaactc     4740
aactccttta acgctaatat ttccggcaaa atcccatgct tgggttttgt ctttaacctt     4800
gtaacgcttg caatcccaat aaagcattaa aagtcatgaa aaaaaaaaaa aaaaaa          4856
```

<210> 5
<211> 1805
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 5

gagacacact ctgccccaac catcctgaag ctacaggtgc tccctcctgg aatctccaat 60

ggatttcagt cgcagaagct tccacagaag cctgagctcc tccttgcagg cccctgtagt 120

cagtacagtg ggcatgcagc gcctcgggac gacacccagc gtttatgggg gtgctggagg 180

ccggggcatc cgcatctcca actccagaca cacggtgaac tatgggagcg atctcacagg 240

cggcggggac ctgtttgttg gcaatgagaa aatggccatg cagaacctaa atgaccgtct 300

agcgagctac ctagaaaagg tgcggaccct ggagcagtcc aactccaaac ttgaagtgca 360

aatcaagcag tggtacgaaa ccaacgcccc gagggctggt cgcgactaca gtgcatatta 420

cagacaaatt gaagagctgc gaagtcagat taaggatgct caactgcaaa atgctcggtg 480

tgtcctgcaa attgataatg ctaaactggc tgctgaggac ttcagactga agtatgagac 540

tgagagagga atacgtctaa cagtggaagc tgatctccaa ggcctgaata aggtctttga 600

tgacctaacc ctacataaaa cagatttgga gattcaaatt gaagaactga ataaagacct 660

agctctcctc aaaaaggagc atcaggagga agtcgatggc ctacacaagc atctgggcaa 720

cactgtcaat gtggaggttg atgctgctcc aggcctgaac cttggcgtca tcatgaatga 780

aatgaggcag aagtatgaag tcatggccca gaagaacctt caagaggcca aagaacagtt 840

tgagagacag actgcagttc tgcagcaaca ggtcacagtg aatactgaag aattaaaagg 900

aactgaggtt caactaacgg agctgagacg cacctcccag agccttgaga tagaactcca 960

gtcccatctc agcatgaaag agtctttgga gcacactcta gaggagacca aggcccgtta 1020

cagcagccag ttagccaacc tccagtcgct gttgagctct ctggaggccc aactgatgca 1080

gattcggagt aacatggaac gccagaacaa cgaataccat atccttcttg acataaagac 1140

tcgacttgaa caggaaattg ctacttaccg ccgccttctg gaaggagaag acgtaaaaac 1200

tacagaatat cagttaagca ccctggaaga gagagatata aagaaaacca ggaagattaa 1260

gacagtcgtg caagaagtag tggatggcaa ggtcgtgtca tctgaagtca aagaggtgga 1320

agaaaatatc taaatagcta ccagaaggag atgctgctga ggttttgaaa gaaatttggc 1380

tataatctta tctttgctcc ctgcaagaaa tcagccataa gaaagcacta ttaatactct 1440

gcagtgatta gaaggggtgg ggtggcggga atcctattta tcagactctg taattgaata 1500

taaatgtttt actcagagga gctgcaaatt gcctgcaaaa atgaaatcca gtgagcacta 1560

gaatatttaa aacatcatta ctgccatctt tatcatgaag cacatcaatt acaagctgta 1620

gaccacctaa tatcaatttg taggtaatgt tcctgaaaat tgcaatacat ttcaattata 1680

ctaaacctca caaagtagag gaatccatgt aaattgcaaa taaaccactt tctaattttt 1740

tcctgtttct gaattgtaaa acccccttg ggagtccctg gtttcttatt gagccaattt 1800

ctggg 1805

<210> 6
<211> 1447
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 6

```
atccagattt gcttttacat tttcttgcct gagtctgagg tgaacagtga acatatttac      60
atttgattta acagtgaacc ttaattcttt ctggcttcac agtgaaacaa gtttatgcaa     120
tcgatcaaat attttcatcc ctgaggttaa caattaccat caaaatgttt tgtggagact     180
atgtgcaagg aaccatcttc ccagctccca atttcaatcc cataatggat gcccaaatgc     240
taggaggagc actccaagga tttgactgtg acaaagacat gctgatcaac attctgactc     300
agcgctgcaa tgcacaaagg atgatgattg cagaggcata ccagagcatg tatggccggg     360
acctgattgg ggatatgagg gagcagcttt cggatcactt caaagatgtg atggctggcc     420
tcatgtaccc accaccactg tatgatgctc atgagctctg gcatgccatg aagggagtag     480
gcactgatga gaattgcctc attgaaatac tagcttcaag aacaaatgga gaaattttcc     540
agatgcgaga agcctactgc ttgcaataca gcaataacct ccaagaggac atttattcag     600
agacctcagg acacttcaga gatactctca tgaacttggt ccaggggacc agagaggaag     660
gatatacaga ccctgcgatg gctgctcagg atgcaatggt cctatgggaa gcctgtcagc     720
agaagacggg ggagcacaaa accatgctgc aaatgatcct gtgcaacaag agctaccagc     780
agctgcggct ggttttccag gaatttcaaa atatttctgg gcaagatatg gtagatgcca     840
ttaatgaatg ttatgatgga tactttcagg agctgctggt tgcaattgtt ctctgtgttc     900
gagacaaacc agcctatttt gcttatagat tatatagtgc aattcatgac tttggtttcc     960
ataataaaac tgtaatcagg attctcattg ccagaagtga aatagacctg ctgaccataa    1020
ggaaacgata caaagagcga tatggaaaat ccctatttca tgatatcaga aattttgctt    1080
cagggcatta taagaaagca ctgcttgcca tctgtgctgg tgatgctgag gactactaaa    1140
atgaagagga cttggagtac tgtgcactcc tctttctaga cacttccaaa tagagatttt    1200
ctcacaaatt tgtactgttc atggcactat taacaaaact atacaatcat attttctctt    1260
ctatctttga aattattcta agccaaagaa aactatgaat gaaagtatat gatactgaat    1320
ttgcctacta tcctgaattt gcctactatc taatcagcaa ttaaataaat tgtgcatgat    1380
ggaataatag aaaaattgca ttggaataga ttttatttaa atgtgaacca tcaacaacct    1440
acaacaa                                                             1447
```

<210> 7
<211> 5881
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 7

```
ggttggtgac ttccacagga aaagttctgg aggagtagcc aaagaccatc agcgtttcct      60
ttatgtgtga gaattgaaat gactagcatt attgaccctt ttcagcatcc cctgtgaata     120
tttctgttta ggtttttctt cttgaaaaga aattgttatt cagcccgttt aaaacaaatc     180
aagaaacttt tgggtaacat tgcaattaca tgaaattgat aaccgcgaaa ataattggaa     240
ctcctgcttg caagtgtcaa cctaaaaaaa gtgcttcctt ttgttatgga agatgtcttt     300
ctgtgattga cttcaattgc tgacttgtgg agatgcagcg aatgtgaaat cccacgtata     360
tgccatttcc ctctacgctc gctgaccgtt ctggaagatc ttgaaccctc ttctggaaag     420
gggtacctat tattacttta tggggcagca gcctggaaaa gtacttgggg accaaagaag     480
gccaagcttg cctgccctgc attttatcaa aggagcaggg aagaaggaat catcgaggca     540
tgggggtcca cactgcaatg tttttgtgga acatgaagcc cttcagcggc cagtagcatc     600
tgactttgag cctcagggtc tgagtgaagc cgctcgttgg aactccaagg aaaaccttct     660
cgctggaccc agtgaaaatg accccaacct tttcgttgca ctgtatgatt ttgtggccag     720
tggagataac actctaagca taactaaagg tgaaaagctc cgggtcttag gctataatca     780
```

caatggggaa tggtgtgaag cccaaaccaa aaatggccaa ggctgggtcc caagcaacta 840

catcacgcca gtcaacagtc tggagaaaca ctcctggtac catgggcctg tgtcccgcaa 900

tgccgctgag tatctgctga gcagcgggat caatggcagc ttcttggtgc gtgagagtga 960

gagcagtcct ggccagaggt ccatctcgct gagatacgaa gggagggtgt accattacag 1020

gatcaacact gcttctgatg gcaagctcta cgtctcctcc gagagccgct tcaacaccct 1080

ggccgagttg gttcatcatc attcaacggt ggccgacggg ctcatcacca cgctccatta 1140

tccagcccca aagcgcaaca agcccactgt ctatggtgtg tcccccaact acgacaagtg 1200

ggagatggaa cgcacggaca tcaccatgaa gcacaagctg ggcgggggcc agtacgggga 1260

ggtgtacgag ggcgtgtgga agaaatacag cctgacggtg gccgtgaaga ccttgaagga 1320

ggacaccatg gaggtggaag agttcttgaa agaagctgca gtcatgaaag agatcaaaca 1380

ccctaacctg gtgcagctcc ttggggtctg cacccgggag cccccgttct atatcatcac 1440

tgagttcatg acctacggga acctcctgga ctacctgagg gagtgcaacc ggcaggaggt 1500

gaacgccgtg gtgctgctgt acatggccac tcagatctcg tcagccatgg agtacctgga 1560

gaagaaaaac ttcatccaca gagatcttgc tgcccgaaac tgcctggtag gggagaacca 1620

cttggtgaag gtagctgatt ttggcctgag caggttgatg acaggggaca cctacacagc 1680

ccatgctgga gccaagttcc ccatcaaatg gactgcaccc gagagcctgg cctacaacaa 1740

gttctccatc aagtccgacg tctgggcatt tggagtattg ctttgggaaa ttgctaccta 1800

tggcatgtcc ccttacccgg gaattgacct gtcccaggtg tatgagctgc tagagaagga 1860

ctaccgcatg gagcgcccag aaggctgccc agagaaggtc tatgaactca tgcgagcatg 1920

ttggcagtgg aatccctctg accggccctc ctttgctgaa atccaccaag cctttgaaac 1980

aatgttccag gaatccagta tctcagacga agtggaaaag gagctgggga aacaaggcgt 2040

ccgtggggct gtgagtacct tgctgcaggc cccagagctg cccaccaaga cgaggacctc 2100

caggagagct gcagagcaca gagacaccac tgacgtgcct gagatgcctc actccaaggg 2160

ccagggagag agcgatcctc tggaccatga gcctgccgtg tctccattgc tccctcgaaa 2220

agagcgaggt cccccggagg gcggcctgaa tgaagatgag cgccttctcc ccaaagacaa 2280

aaagaccaac ttgttcagcg ccttgatcaa gaagaagaag aagacagccc caacccctcc 2340

caaacgcagc agctccttcc gggagatgga cggccagccg gagcgcagag gggccggcga 2400

ggaagagggc cgagacatca gcaacggggc actggctttc acccccttgg acacagctga 2460

cccagccaag tccccaaagc ccagcaatgg ggctggggtc cccaatggag ccctccggga 2520

gtccgggggc tcaggcttcc ggtctcccca cctgtggaag aagtccagca cgctgaccag 2580

cagccgccta gccaccggcg aggaggaggg cggtggcagc tccagcaagc gcttcctgcg 2640

ctcttgctcc gcctcctgcg ttccccatgg ggccaaggac acggagtgga ggtcagtcac 2700

gctgcctcgg gacttgcagt ccacgggaag acagtttgac tcgtccacat ttggagggca 2760

caaaagtgag aagccggctc tgcctcggaa gagggcaggg gagaacaggt ctgaccaggt 2820

gacccgaggc acagtaacgc ctccccccag gctggtgaaa aagaatgagg aagctgctga 2880

tgaggtcttc aaagacatca tggagtccag cccgggctcc agcccgccca acctgactcc 2940

aaaaccccctc cggcggcagg tcaccgtggc ccctgcctcg ggcctccccc acaaggaaga 3000

agctggaaag ggcagtgcct tagggacccc tgctgcagct gagccagtga cccccaccag 3060

caaagcaggc tcaggtgcac caggggggcac cagcaagggc cccgccgagg agtccagagt 3120

gaggaggcac aagcactcct ctgagtcgcc agggagggac aaggggaaat tgtccaggct 3180

caaacctgcc ccgccgcccc caccagcagc ctctgcaggg aaggctggag gaaagccctc 3240

gcagagcccg agccaggagg cggccgggga ggcagtcctg ggcgcaaaga caaaagccac 3300

gagtctggtt gatgctgtga acagtgacgc tgccaagccc agccagccgg gagagggcct 3360

caaaaagccc gtgctcccgg ccactccaaa gccacagtcc gccaagccgt cggggacccc 3420

catcagccca gcccccgttc cctccacgtt gccatcagca tcctcggccc tggcagggga 3480

ccagccgtct tccaccgcct tcatccctct catatcaacc cgagtgtctc ttcggaaaac 3540

ccgccagcct ccagagcgga tcgccagcgg cgccatcacc aagggcgtgg tcctggacag 3600

caccgaggcg ctgtgcctcg ccatctctag gaactccgag cagatggcca gccacagcgc 3660

agtgctggag gccggcaaaa acctctacac gttctgcgtg agctatgtgg attccatcca 3720

gcaaatgagg aacaagtttg ccttccgaga ggccatcaac aaactggaga ataatctccg 3780

ggagcttcag atctgcccgg cgacagcagg cagtggtcca gcggccactc aggacttcag 3840

caagctcctc agttcggtga aggaaatcag tgacatagtg cagaggtagc agcagtcagg 3900

ggtcaggtgt caggcccgtc ggagctgcct gcagcacatg cgggctcgcc catacccgtg 3960

acagtggctg acaagggact agtgagtcag caccttggcc caggagctct gcgccaggca 4020

gagctgaggg ccctgtggag tccagctcta ctacctacgt ttgcaccgcc tgccctcccg 4080

caccttcctc ctccccgctc cgtctctgtc ctcgaatttt atctgtggag ttcctgctcc 4140

gtggactgca gtcggcatgc caggacccgc cagccccgct cccacctagt gccccagact 4200

gagctctcca ggccaggtgg gaacggctga tgtggactgt ctttttcatt tttttctctc 4260

tggagcccct cctcccccgg ctgggcctcc ttcttccact tctccaagaa tggaagcctg 4320

aactgaggcc ttgtgtgtca ggccctctgc ctgcactccc tggccttgcc cgtcgtgtgc 4380

tgaagacatg tttcaagaac cgcatttcgg gaagggcatg cacgggcatg cacacggctg 4440

gtcactctgc cctctgctgc tgcccggggt ggggtgcact cgccatttcc tcacgtgcag 4500

gacagctctt gatttgggtg gaaaacaggg tgctaaagcc aaccagcctt tgggtcctgg 4560

gcaggtggga gctgaaaagg atcgaggcat ggggcatgtc ctttccatct gtccacatcc 4620

ccagagccca gctcttgctc tcttgtgacg tgcactgtga atcctggcaa gaaagcttga 4680

gtctcaaggg tggcaggtca ctgtcactgc cgacatccct cccccagcag aatggaggca 4740

ggggacaagg gaggcagtgg ctagtggggt gaacagctgg tgccaaatag ccccagactg 4800

ggcccaggca ggtctgcaag ggcccagagt gaaccgtcct ttcacacatc tgggtgccct 4860

gaaagggccc ttcccctccc ccactcctct aagacaaagt agattcttac aaggcccttt 4920

cctttggaac aagacagcct tcacttttct gagttcttga agcatttcaa agccctgcct 4980

ctgtgtagcc gccctgagag agaatagagc tgccactggg cacctgcgca caggtgggag 5040

gaaagggcct ggccagtcct ggtcctggct gcactcttga actgggcgaa tgtcttattt 5100

aattaccgtg agtgacatag cctcatgttc tgtgggggtc atcagggagg gttaggaaaa 5160

ccacaaacgg agcccctgaa agcctcacgt atttcacaga gcacgcctgc catcttctcc 5220

ccgaggctgc cccaggccgg agcccagata cgggggctgt gactctgggc agggacccgg 5280

ggtctcctgg accttgacag agcagctaac tccgagagca gtgggcaggt ggccgccccc 5340

gaggcttcac gccgggagaa gccaccttcc caccccttca taccgcctcg tgccagcagc 5400

ctcgcacagg ccctagcttt acgctcatca cctaaacttg tactttattt ttctgataga 5460

aatggtttcc tctggatcgt tttatgcggt tcttacagca catcacctct ttgcccccga 5520

cggctgtgac gcagccggag ggaggcacta gtcaccgaca gcggccttga agacagagca 5580

aagcgcccac ccaggtcccc cgactgcctg tctccatgag gtactggtcc cttccttttg 5640

ttaacgtgat gtgccactat attttacacg tatctcttgg tatgcatctt ttatagacgc 5700

tcttttctaa gtggcgtgtg catagcgtcc tgccctgccc cctcgggggc ctgtggtggc 5760

tccccctctg cttctcgggg tccagtgcat tttgtttctg tatatgattc tctgtggttt 5820

tttttgaatc caaatctgtc ctctgtagta ttttttaaat aaatcagtgt ttacattaga 5880

a 5881

<210> 8
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 8
gatcaacact gcttctgatg gcaa 24

<210> 9
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 9
ccaccgttga atgatgatga accaa 25

<210> 10
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 10
cctccgagag ccgcttcaac 20

<210> 11
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 11
cctccgagag ccgcttcaac 20

<210> 12
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 12
cctccgagag ccgcttcaac 20

<210> 13
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 13
ttgaagagct gcgaagtcag at 22

<210> 14
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 14
tgaagtcctc agcagccagt t 21

<210> 15
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 15
tcaactgcaa aatgctcggt gtgtcc 26

<210> 16
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 16
cgcggcttct acttcagcag 20

<210> 17
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 17
gcggaaacag cactcctcaa 20

<210> 18
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 18
tgtgagccgt cgcagccgtg 20

<210> 19
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 19
acccggctca cctgcgaa 18

<210> 20
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 20
ggactcccgc ggacacaa 18

<210> 21
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 21
tcctgggaag cgagtgcccc taa 23

<210> 22
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 22
ctgggaagcg agtgccccta a 21

<210> 23
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 23
ggctattctc ctcttggcag at 22

<210> 24
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 24
tgcttgagct ccagtcccta ag 22

<210> 25
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 25
agccgagaag gcggagtctg gc 22

<210> 26
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 26
gtgaaacaag tttatgcaat cgatcaa 27

<210> 27
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 27
gattgaaatt gggagctggg aa 22

<210> 28
<211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 28
tcatccctga ggttaacaat taccatcaa 29

<210> 29
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 29
cgactacagt gcatattaca gacaa 25

<210> 30
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 30
cagcagccag tttagcatta tcaa 24

<210> 31
<211> 26
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 31
tcaactgcaa aatgctcggt gtgtcc 26

<210> 32
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 32
ggaccgcggc ttctacttca 20

<210> 33
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 33
ccaggtcaca gctgcggaa 19

<210> 34
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 34
tgtgagccgt cgcagccgtg 20

<210> 35
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 35
tgcgaagcgc ctgggaagc 19

<210> 36
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 36
ggactcccgc ggacacaa 18

<210> 37
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 37
tgcccctaac atgcggctgc c 21

<210> 38
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 38
tcagcgctgc aatgcacaa 19

<210> 39
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 39
ggccagccat cacatctttg aa 22

<210> 40
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 40
tagagcatgt atggccggga cct 23

<210> 41
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 41
gatcaacact gcttctgatg gcaa 24

<210> 42
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 42
ccaccgttga atgatgatga accaa 25

<210> 43
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 43
cctccgagag ccgcttcaac 20

<210> 44
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 44
ggctattctc ctcttggcag at 22

<210> 45
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 45
tgcttgagct ccagtcccta ag 22

<210> 46
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 46
agccgagaag gcggagtctg gc 22

<210> 47
<211> 500
<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 47

gaugcucacu ucaucuaugg uuacccuggg acuuuuacac caacagaacu agcaucaucc 60

ucugcauggu caggucaugg aucggcaucc ugacaguuuc gggaauuagg caucugcagu 120

cuuacugcuc aucggcugau gaugcugcug uaauccccau ccaagcaagc uugugauccu 180

ccgccauuau cccaaauggu auaacauuua ggacuuaaag cuaugcaauu aucaccuugu 240

uuuucaacag caagaccuaa uauuuucuuu ucaucauuaa ugccuuuuga uggaucaggc 300

aaccauuuau aaauauguuc accagccgaa gucaguagug auuggguggu uccuggcuug 360

ggaucaugcc gcugcagagg cuauucuccu cuuggcagau ugucuguagc cgagaaggcg 420

gagucuggca augaugaugc auacagugua cgacagccuu agggacugga gcucaagcag 480

uguuuccuca accagucaca 500

<210> 48
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 48
ctgcaatgca caaaggatga 20

<210> 49
<211> 10661
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 49
20

```
cgagatcccg gggagccagc ttgctgggag agcgggacgg tccggagcaa gcccagaggc      60
agaggaggcg acagagggaa aaagggccga gctagccgct ccagtgctgt acaggagccg     120
aagggacgca ccacgccagc cccagcccgg ctccagcgac agccaacgcc tcttgcagcg     180
```

cggcggcttc gaagccgccg cccggagctg ccctttcctc ttcggtgaag tttttaaaag 240

ctgctaaaga ctcggaggaa gcaaggaaag tgcctggtag gactgacggc tgcctttgtc 300

ctcctcctct ccaccccgcc tccccccacc ctgccttccc cccctccccc gtcttctctc 360

ccgcagctgc ctcagtcggc tactctcagc caaccccccc caccaccctt ctccccaccc 420

gccccccccgc ccccgtcggc ccagcgctgc cagcccgagt ttgcagagag gtaactccct 480

ttggctgcga gcgggcgagc tagctgcaca ttgcaaagaa ggctcttagg agccaggcga 540

ctggggagcg gcttcagcac tgcagccacg acccgcctgg ttaggctgca cgcggagaga 600

accctctgtt ttcccccact ctctctccac ctcctcctgc cttccccacc ccgagtgcgg 660

agccagagat caaaagatga aaaggcagtc aggtcttcag tagccaaaaa acaaaacaaa 720

caaaaacaaa aaagccgaaa taaaagaaaa agataataac tcagttctta tttgcaccta 780

cttcagtgga cactgaattt ggaaggtgga ggattttgtt tttttctttt aagatctggg 840

catcttttga atctaccctt caagtattaa gagacagact gtgagcctag cagggcagat 900

cttgtccacc gtgtgtcttc ttctgcacga gactttgagg ctgtcagagc gctttttgcg 960

tggttgctcc cgcaagtttc cttctctgga gcttcccgca ggtgggcagc tagctgcagc 1020

gactaccgca tcatcacagc ctgttgaact cttctgagca agagaagggg aggcggggta 1080

agggaagtag gtggaagatt cagccaagct caaggatgga agtgcagtta gggctgggaa 1140

gggtctaccc tcggccgccg tccaagacct accgaggagc tttccagaat ctgttccaga 1200

gcgtgcgcga agtgatccag aacccgggcc ccaggcaccc agaggccgcg agcgcagcac 1260

ctcccggcgc cagtttgctg ctgctgcagc agcagcagca gcagcagcag cagcagcagc 1320

agcagcagca gcagcagcag cagcagcagc agcaagagac tagccccagg cagcagcagc 1380

agcagcaggg tgaggatggt tctccccaag cccatcgtag aggccccaca ggctacctgg 1440

tcctggatga ggaacagcaa ccttcacagc cgcagtcggc cctggagtgc caccccgaga 1500

gaggttgcgt cccagagcct ggagccgccg tggccgccag caaggggctg ccgcagcagc 1560

tgccagcacc tccggacgag gatgactcag ctgccccatc cacgttgtcc ctgctgggcc 1620

ccactttccc cggcttaagc agctgctccg ctgaccttaa agacatcctg agcgaggcca 1680

gcaccatgca actccttcag caacagcagc aggaagcagt atccgaaggc agcagcagcg 1740

ggagagcgag ggaggcctcg ggggctccca cttcctccaa ggacaattac ttaggggca 1800

cttcgaccat ttctgacaac gccaaggagt tgtgtaaggc agtgtcggtg tccatgggcc 1860

tgggtgtgga ggcgttggag catctgagtc caggggaaca gcttcggggg gattgcatgt 1920

acgccccact tttgggagtt ccacccgctg tgcgtcccac tccttgtgcc ccattggccg 1980

aatgcaaagg ttctctgcta gacgacagcg caggcaagag cactgaagat actgctgagt 2040

attccccttt caagggaggt tacaccaaag ggctagaagg cgagagccta ggctgctctg 2100

gcagcgctgc agcagggagc tccgggacac ttgaactgcc gtctaccctg tctctctaca 2160

agtccggagc actggacgag gcagctgcgt accagagtcg cgactactac aactttccac 2220

tggctctggc cggaccgccg ccccctccgc cgcctcccca tccccacgct cgcatcaagc 2280

tggagaaccc gctggactac ggcagcgcct gggcggctgc ggcggcgcag tgccgctatg 2340

gggacctggc gagcctgcat ggcgcgggtg cagcgggacc cggttctggg tcaccctcag 2400

ccgccgcttc ctcatcctgg cacactctct tcacagccga agaaggccag ttgtatggac 2460

cgtgtggtgg tggtgggggt ggtggcggcg gcggcggcgg cggcggcggc ggcggcggcg 2520

gcggcggcgg cggcgaggcg ggagctgtag ccccctacgg ctacactcgg ccccctcagg 2580

ggctggcggg ccaggaaagc gacttcaccg cacctgatgt gtggtaccct ggcggcatgg 2640

tgagcagagt gccctatccc agtcccactt gtgtcaaaag cgaaatgggc ccctggatgg 2700

atagctactc cggaccttac ggggacatgc gtttggagac tgccagggac catgttttgc 2760

ccattgacta ttactttcca ccccagaaga cctgcctgat ctgtggagat gaagcttctg 2820

ggtgtcacta tggagctctc acatgtggaa gctgcaaggt cttcttcaaa agagccgctg 2880

aagggaaaca gaagtacctg tgcgccagca gaaatgattg cactattgat aaattccgaa 2940

ggaaaaattg tccatcttgt cgtcttcgga aatgttatga agcagggatg actctgggag 3000

cccggaagct gaagaaactt ggtaatctga aactacagga ggaaggagag gcttccagca 3060

ccaccagccc cactgaggag acaacccaga agctgacagt gtcacacatt gaaggctatg 3120

aatgtcagcc catctttctg aatgtcctgg aagccattga gccaggtgta gtgtgtgctg 3180

gacacgacaa caaccagccc gactcctttg cagccttgct ctctagcctc aatgaactgg 3240

gagagagaca gcttgtacac gtggtcaagt gggccaaggc cttgcctggc ttccgcaact 3300

tacacgtgga cgaccagatg gctgtcattc agtactcctg gatggggctc atggtgtttg 3360

ccatgggctg gcgatccttc accaatgtca actccaggat gctctacttc gcccctgatc 3420

tggttttcaa tgagtaccgc atgcacaagt cccggatgta cagccagtgt gtccgaatga 3480

ggcacctctc tcaagagttt ggatggctcc aaatcacccc ccaggaattc ctgtgcatga 3540

aagcactgct actcttcagc attattccag tggatgggct gaaaaatcaa aaattctttg 3600

atgaacttcg aatgaactac atcaaggaac tcgatcgtat cattgcatgc aaaagaaaaa 3660

atcccacatc ctgctcaaga cgcttctacc agctcaccaa gctcctggac tccgtgcagc 3720

ctattgcgag agagctgcat cagttcactt ttgacctgct aatcaagtca cacatggtga 3780

gcgtggactt tccggaaatg atggcagaga tcatctctgt gcaagtgccc aagatccttt 3840

ctgggaaagt caagcccatc tatttccaca cccagtgaag cattggaaac cctatttccc 3900

caccccagct catgcccccc ttcagatgtc ttctgcctgt tataactctg cactactcct 3960

ctgcagtgcc ttggggaatt tcctctattg atgtacagtc tgtcatgaac atgttcctga 4020

attctatttg ctgggctttt tttttctctt tctctccttt ctttttcttc ttccctccct 4080

atctaaccct cccatggcac cttcagactt tgcttcccat tgtggctcct atctgtgttt 4140

tgaatggtgt tgtatgcctt taaatctgtg atgatcctca tatggcccag tgtcaagttg 4200

tgcttgttta cagcactact ctgtgccagc cacacaaacg tttacttatc ttatgccacg 4260

ggaagtttag agagctaaga ttatctgggg aaatcaaaac aaaaacaagc aaacaaaaaa 4320

aaaaagcaaa aacaaaacaa aaaataagcc aaaaaacctt gctagtgttt tttcctcaaa 4380

aataaataaa taaataaata aatacgtaca tacatacaca catacataca aacatataga 4440

aatccccaaa gaggccaata gtgacgagaa ggtgaaaatt gcaggcccat ggggagttac 4500

tgatttttc atctcctccc tccacgggag actttatttt ctgccaatgg ctattgccat 4560

tagagggcag agtgacccca gagctgagtt gggcaggggg gtggacagag aggagaggac 4620

aaggagggca atggagcatc agtacctgcc cacagccttg gtccctgggg gctagactgc 4680

tcaactgtgg agcaattcat tatactgaaa atgtgcttgt tgttgaaaat ttgtctgcat 4740

gttaatgcct caccccccaaa ccctttctc tctcactctc tgcctccaac ttcagattga 4800

ctttcaatag tttttctaag acctttgaac tgaatgttct cttcagccaa aacttggcga 4860

cttccacaga aaagtctgac cactgagaag aaggagagca gagatttaac cctttgtaag 4920

gccccatttg gatccaggtc tgctttctca tgtgtgagtc agggaggagc tggagccaga 4980

ggagaagaaa atgatagctt ggctgttctc ctgcttagga cactgactga atagttaaac 5040

tctcactgcc actacctttt ccccaccttt aaaagacctg aatgaagttt tctgccaaac 5100

tccgtgaagc cacaagcacc ttatgtcctc ccttcagtgt tttgtgggcc tgaatttcat 5160

cacactgcat ttcagccatg gtcatcaagc ctgtttgctt cttttgggca tgttcacaga 5220

ttctctgtta agagccccca ccaccaagaa ggttagcagg ccaacagctc tgacatctat 5280

ctgtagatgc cagtagtcac aaagatttct taccaactct cagatcgctg gagcccttag 5340

acaaactgga aagaaggcat caaagggatc aggcaagctg ggcgtcttgc ccttgtcccc 5400

cagagatgat accctcccag caagtggaga agttctcact tccttcttta gagcagctaa 5460

aggggctacc cagatcaggg ttgaagagaa aactcaatta ccagggtggg aagaatgaag 5520

gcactagaac cagaaaccct gcaaatgctc ttcttgtcac ccagcatatc cacctgcaga 5580

agtcatgaga agagagaagg aacaaagagg agactctgac tactgaatta aaatcttcag 5640

cggcaaagcc taaagccaga tggacaccat ctggtgagtt tactcatcat cctcctctgc 5700

tgctgattct gggctctgac attgcccata ctcactcaga ttccccacct ttgttgctgc 5760

ctcttagtca gagggaggcc aaaccattga gactttctac agaaccatgg cttctttcgg 5820

aaaggtctgg ttggtgtggc tccaatactt tgccacccat gaactcaggg tgtgccctgg 5880

gacactggtt ttatatagtc ttttggcaca cctgtgttct gttgacttcg ttcttcaagc 5940

ccaagtgcaa gggaaaatgt ccacctactt tctcatcttg gcctctgcct ccttacttag 6000

ctcttaatct catctgttga actcaagaaa tcaagggcca gtcatcaagc tgcccatttt 6060

aattgattca ctctgtttgt tgagaggata gtttctgagt gacatgatat gatccacaag 6120

ggtttccttc cctgatttct gcattgatat taatagccaa acgaacttca aaacagcttt 6180

aaataacaag ggagagggga acctaagatg agtaatatgc caatccaaga ctgctggaga 6240

aaactaaagc tgacaggttc ccttttgggg gtgggataga catgttctgg ttttctttat 6300

tattacacaa tctggctcat gtacaggatc acttttagct gttttaaaca gaaaaaaata 6360

tccaccactc ttttcagtta cactaggtta cattttaata ggtcctttac atctgttttg 6420

gaatgatttt catcttttgt gatacacaga ttgaattata tcattttcat atctctcctt 6480

gtaaatacta gaagctctcc tttacatttc tctatcaaat ttttcatctt tatgggtttc 6540

ccaattgtga ctcttgtctt catgaatata tgtttttcat ttgcaaaagc caaaaatcag 6600

tgaaacagca gtgtaattaa aagcaacaac tggattactc caaatttcca aatgacaaaa 6660

ctagggaaaa atagcctaca caagccttta ggcctactct ttctgtgctt gggtttgagt 6720

gaacaaagga gattttagct tggctctgtt ctcccatgga tgaaaggagg aggatttttt 6780

ttttcttttg gccattgatg ttctagccaa tgtaattgac agaagtctca ttttgcatgc 6840

gctctgctct acaaacagag ttggtatggt tggtatactg tactcacctg tgagggactg 6900

gccactcaga cccacttagc tggtgagcta gaagatgagg atcactcact ggaaaagtca 6960

caaggaccat ctccaaacaa gttggcagtg ctcgatgtgg acgaagagtg aggaagagaa 7020

aaagaaggag caccagggag aaggctccgt ctgtgctggg cagcagacag ctgccaggat 7080

cacgaactct gtagtcaaag aaaagagtcg tgtggcagtt tcagctctcg ttcattgggc 7140

agctcgccta ggcccagcct ctgagctgac atgggagttg ttggattctt tgtttcatag 7200

ctttttctat gccataggca atattgttgt tcttggaaag tttattattt ttttaactcc 7260

cttactctga gaaagggata ttttgaagga ctgtcatata tctttgaaaa aagaaaatct 7320

gtaatacata tatttttatg tatgttcact ggcactaaaa aatatagaga gcttcattct 7380

gtcctttggg tagttgctga ggtaattgtc caggttgaaa aataatgtgc tgatgctaga 7440

gtccctctct gtccatactc tacttctaaa tacatatagg catacatagc aagttttatt 7500

tgacttgtac tttaagagaa aatatgtcca ccatccacat gatgcacaaa tgagctaaca 7560

ttgagcttca agtagcttct aagtgtttgt ttcattaggc acagcacaga tgtggccttt 7620

ccccccttct ctcccttgat atctggcagg gcataaaggc ccaggccact tcctctgccc 7680

cttcccagcc ctgcaccaaa gctgcatttc aggagactct ctccagacag cccagtaact 7740

acccgagcat ggcccctgca tagccctgga aaaataagag gctgactgtc tacgaattat 7800

cttgtgccag ttgcccaggt gagagggcac tgggccaagg gagtggtttt catgtttgac 7860

ccactacaag gggtcatggg aatcaggaat gccaaagcac cagatcaaat ccaaaactta 7920

aagtcaaaat aagccattca gcatgttcag tttcttggaa aaggaagttt ctacccctga 7980

tgcctttgta ggcagatctg ttctcaccat taatcttttt gaaaatcttt taaagcagtt 8040

tttaaaaaga gagatgaaag catcacatta tataaccaaa gattacattg tacctgctaa 8100

gataccaaaa ttcataaggg caggggggga gcaagcatta gtgcctcttt gataagctgt 8160

ccaaagacag actaaaggac tctgctggtg actgacttat aagagctttg tgggtttttt 8220

tttccctaat aatatacatg tttagaagaa ttgaaaataa tttcgggaaa atgggattat 8280

gggtccttca ctaagtgatt ttataagcag aactggcttt ccttttctct agtagttgct 8340

gagcaaattg ttgaagctcc atcattgcat ggttggaaat ggagctgttc ttagccactg 8400

tgtttgctag tgcccatgtt agcttatctg aagatgtgaa acccttgctg ataagggagc 8460

atttaaagta ctagattttg cactagaggg acagcaggca gaaatcctta tttctgccca 8520

ctttggatgg cacaaaaagt tatctgcagt tgaaggcaga aagttgaaat acattgtaaa 8580

tgaatatttg tatccatgtt tcaaaattga aatatatata tatatatata tatatatata 8640

tatatatata tagtgtgtgt gtgtgttctg atagctttaa ctttctctgc atctttatat 8700

ttggttccag atcacacctg atgccatgta cttgtgagag aggatgcagt tttgttttgg 8760

aagctctctc agaacaaaca agacacctgg attgatcagt taactaaaag ttttctcccc 8820

tattgggttt gacccacagg tcctgtgaag gagcagaggg ataaaaagag tagaggacat 8880

gatacattgt actttactag ttcaagacag atgaatgtgg aaagcataaa aactcaatgg 8940

aactgactga gatttaccac agggaaggcc caaacttggg gccaaaagcc tacccaagtg 9000

attgaccagt ggcccccctaa tgggacctga gctgttggaa gaagagaact gttccttggt 9060

cttcaccatc cttgtgagag aagggcagtt tcctgcattg gaacctggag caagcgctct 9120

atctttcaca caaattccct cacctgagat tgaggtgctc ttgttactgg gtgtctgtgt 9180

gctgtaattc tggttttgga tatgttctgt aaagattttg acaaatgaaa atgtgttttt 9240

ctctgttaaa acttgtcaga gtactagaag ttgtatctct gtaggtgcag gtccatttct 9300

gcccacaggt agggtgtttt tctttgatta agagattgac acttctgttg cctaggacct 9360

cccaactcaa ccatttctag gtgaaggcag aaaaatccac attagttact cctcttcaga 9420

catttcagct gagataacaa atcttttgga atttttttcac ccatagaaag agtggtagat 9480

atttgaattt agcaggtgga gtttcatagt aaaaacagct tttgactcag ctttgattta 9540

tcctcatttg atttggccag aaagtaggta atatgcattg attggcttct gattccaatt 9600

```
cagtatagca aggtgctagg ttttttcctt tccccacctg tctcttagcc tggggaatta     9660
aatgagaagc cttagaatgg gtggcccttg tgacctgaaa cacttcccac ataagctact     9720
taacaagatt gtcatggagc tgcagattcc attgcccacc aaagactaga acacacacat     9780
atccatacac caaaggaaag acaattctga aatgctgttt ctctggtggt tccctctctg     9840
gctgctgcct cacagtatgg gaacctgtac tctgcagagg tgacaggcca gatttgcatt     9900
atctcacaac cttagccctt ggtgctaact gtcctacagt gaagtgcctg gggggttgtc     9960
ctatcccata agccacttgg atgctgacag cagccaccat cagaatgacc cacgcaaaaa    10020
aaagaaaaaa aaaattaaaa agtcccctca caacccagtg acacctttct gctttcctct    10080
agactggaac attgattagg gagtgcctca gacatgacat tcttgtgctg tccttggaat    10140
taatctggca gcaggaggga gcagactatg taaacagaga taaaaattaa ttttcaatat    10200
tgaaggaaaa aagaaataag aagagagaga gaaagaaagc atcacacaaa gattttctta    10260
aaagaaacaa ttttgcttga aatctcttta gatggggctc atttctcacg gtggcacttg    10320
gcctccactg ggcagcagga ccagctccaa gcgctagtgt tctgttctct ttttgtaatc    10380
ttggaatctt ttgttgctct aaatacaatt aaaaatggca gaaacttgtt tgttggacta    10440
catgtgtgac tttgggtctg tctctgcctc tgctttcaga aatgtcatcc attgtgtaaa    10500
atattggctt actggtctgc cagctaaaac ttggccacat cccctgttat ggctgcagga    10560
tcgagttatt gttaacaaag agacccaaga aaagctgcta atgtcctctt atcattgttg    10620
ttaatttgtt aaaacataaa gaaatctaaa atttcaaaaa a                        10661
```

<210> 50
<211> 2060
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 50

acctgggtcg ggtgcagact gcggagcggg ccctaccgtg tgcgcagaaa gaggaggcgc 60

ttgccttcag cttgtgggaa atcccgaaga tggccaaaga caactcaact gttcgttgct 120

tccagggcct gctgattttt ggaaatgtga ttattggttg ttgcggcatt gccctgactg 180

cggagtgcat cttctttgta tctgaccaac acagcctcta cccactgctt gaagccaccg 240

acaacgatga catctatggg gctgcctgga tcggcatatt tgtgggcatc tgcctcttct 300

gcctgtctgt tctaggcatt gtaggcatca tgaagtccag caggaaaatt cttctggcgt 360

atttcattct gatgtttata gtatatgcct ttgaagtggc atcttgtatc acagcagcaa 420

cacaacaaga ctttttcaca cccaacctct tcctgaagca gatgctagag aggtaccaaa 480

acaacagccc tccaaacaat gatgaccagt ggaaaaacaa tggagtcacc aaaacctggg 540

acaggctcat gctccaggac aattgctgtg gcgtaaatgg tccatcagac tggcaaaaat 600

```
acacatctgc cttccggact gagaataatg atgctgacta tccctggcct cgtcaatgct      660
gtgttatgaa caatcttaaa gaacctctca acctggaggc ttgtaaacta ggcgtgcctg      720
gtttttatca caatcagggc tgctatgaac tgatctctgg tccaatgaac cgacacgcct      780
gggggggttgc ctggtttgga tttgccattc tctgctggac tttttgggtt ctcctgggta     840
ccatgttcta ctggagcaga attgaatatt aagcataaag tgttgccacc atacctcctt      900
ccccgagtga ctctggattt ggtgctggaa ccagctctct cctaatattc cacgtttgtg      960
ccccacacta acgtgtgtgt cttacattgc caagtcagat ggtacggact tcctttagga     1020
tctcaggctt ctgcagttct catgactcct acttttcatc ctagtctagc attctgcaac     1080
atttatatag actgttgaaa ggagaatttg aaaaatgcat aataactact tccatccctg     1140
cttattttta atttgggaaa ataaatacat tcgaaggaac ctgtgttatc acagtaaccc     1200
agagctgtat ttggctagca atctgcctgt atctctcact attatctaaa agaaaccttc     1260
caatgcttct gttgatctca gtattgtcag gggaacagag aagttgggaa aagattactg     1320
aaatatacct tttgcatttc tttctagagt agctcccata tatggagatg ggtgattctc     1380
ttgatgccac cttcagatcc ttttattctc cagaataatt cttaacagtg gttcaaattt     1440
cctttcatac cttgaagtat gtgtttagta gcctcaattc tccattaatt aaaagtgtgg     1500
gctgggcgtg ggggctcatg cctgtaatcc cagcactttg ggaggccgag gtgggcagat     1560
cacctgaggt caggagttca agaccagcct ggccaacatg gtgaaacccc gtctctacaa     1620
aaatacaaaa attagccagg cgtgatggca ggtgcctgta atcctagcta cttggcaggc     1680
taacgcagga gaatcacttg accgggagac agaggttgca gtgagctgag atcgtaccta     1740
ttgcactcca tcctggatga aagagccaga ctctgtctca aaacaaacaa aaaagcgtgg     1800
ggacttctgg ggacagacaa ggtgcctgtt atatatttac tcagtctttg ccctgaatgg     1860
tctcagcttg agaccatttc aaactggaga gaagcaagcc agccaataga atggggtgat     1920
ttacagggat ttctgtttac tgtcaaaata tttctcatct gcactatgtt tccatttgtg     1980
gtcctgaagg aaattcttat aactcaacat ttgtctggtc ttataagtaa agacagcttt     2040
aaaatctgtt cactttcaaa                                                2060
```

<210> 51
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 51
cggactgaga ataatgatgc tga 23

<210> 52
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 52
gatcagttca tagcagccct g 21

<210> 53
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 53
tctcaacctg gaggcttgta aactagg 27

<210> 54
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 54
ggactccgtg cagcctatt 19

<210> 55
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 55
agaaaggatc ttgggcactt g 21

<210> 56
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 56
tcagttcact tttgacctgc taatcaagtc 30

<210> 57
<211> 8112
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 57

gctgcgagca gagagggatt cctcggaggt catctgttcc atcttcttgc ctatgcaaat 60
gcctgcctga agctgctgga ggctggcttt gtaccggact ttgtacaggg aaccagggaa 120
acgaatgcag agtgctcctg acattgcctg tcacttttc ccatgatact ctggcttcac 180
agtttggaga ctgccaggga ccatgttttg cccattgact attactttcc accccagaag 240
acctgcctga tctgtggaga tgaagcttct gggtgtcact atggagctct cacatgtgga 300
agctgcaagg tcttcttcaa aagagccgct gaagggaaac agaagtacct gtgcgccagc 360
agaaatgatt gcactattga taaattccga aggaaaaatt gtccatcttg tcgtcttcgg 420
aaatgttatg aagcagggat gactctggga gcccggaagc tgaagaaact tggtaatctg 480
aaactacagg aggaaggaga ggcttccagc accaccagcc ccactgagga gacaacccag 540
aagctgacag tgtcacacat tgaaggctat gaatgtcagc ccatctttct gaatgtcctg 600
gaagccattg agccaggtgt agtgtgtgct ggacacgaca acaaccagcc cgactccttt 660
gcagccttgc tctctagcct caatgaactg ggagagagac agcttgtaca cgtggtcaag 720
tgggccaagg ccttgcctgg cttccgcaac ttacacgtgg acgaccagat ggctgtcatt 780
cagtactcct ggatggggct catggtgttt gccatgggct ggcgatcctt caccaatgtc 840
aactccagga tgctctactt cgcccctgat ctggttttca atgagtaccg catgcacaag 900
tcccggatgt acagccagtg tgtccgaatg aggcacctct ctcaagagtt tggatggctc 960
caaatcaccc cccaggaatt cctgtgcatg aaagcactgc tactcttcag cattattcca 1020
gtggatgggc tgaaaaatca aaaattcttt gatgaacttc gaatgaacta catcaaggaa 1080
ctcgatcgta tcattgcatg caaaagaaaa aatcccacat cctgctcaag acgcttctac 1140
cagctcacca agctcctgga ctccgtgcag cctattgcga gagagctgca tcagttcact 1200
tttgacctgc taatcaagtc acacatggtg agcgtggact ttccggaaat gatggcagag 1260
atcatctctg tgcaagtgcc caagatcctt tctgggaaag tcaagcccat ctatttccac 1320
acccagtgaa gcattggaaa ccctatttcc ccaccccagc tcatgccccc tttcagatgt 1380
cttctgcctg ttataactct gcactactcc tctgcagtgc cttggggaat ttcctctatt 1440
gatgtacagt ctgtcatgaa catgttcctg aattctattt gctgggcttt ttttttctct 1500
ttctctcctt tctttttctt cttccctccc tatctaaccc tcccatggca ccttcagact 1560
ttgcttccca ttgtggctcc tatctgtgtt ttgaatggtg ttgtatgcct ttaaatctgt 1620
gatgatcctc atatggccca gtgtcaagtt gtgcttgttt acagcactac tctgtgccag 1680
ccacacaaac gtttacttat cttatgccac gggaagttta gagagctaag attatctggg 1740
gaaatcaaaa caaaaacaag caaacaaaaa aaaaaagcaa aaacaaaaca aaaaataagc 1800

caaaaaacct tgctagtgtt ttttcctcaa aaataaataa ataaataaat aaatacgtac 1860

atacatacac acatacatac aaacatatag aaatccccaa agaggccaat agtgacgaga 1920

aggtgaaaat tgcaggccca tggggagtta ctgatttttt catctcctcc ctccacggga 1980

gactttattt tctgccaatg gctattgcca ttagagggca gagtgacccc agagctgagt 2040

tgggcagggg ggtggacaga gaggagagga caaggagggc aatggagcat cagtacctgc 2100

ccacagcctt ggtccctggg ggctagactg ctcaactgtg gagcaattca ttatactgaa 2160

aatgtgcttg ttgttgaaaa tttgtctgca tgttaatgcc tcacccccaa acccttttct 2220

ctctcactct ctgcctccaa cttcagattg actttcaata gtttttctaa gacctttgaa 2280

ctgaatgttc tcttcagcca aaacttggcg acttccacag aaaagtctga ccactgagaa 2340

gaaggagagc agagatttaa ccctttgtaa ggccccattt ggatccaggt ctgctttctc 2400

atgtgtgagt cagggaggag ctggagccag aggagaagaa aatgatagct tggctgttct 2460

cctgcttagg acactgactg aatagttaaa ctctcactgc cactaccttt tccccacctt 2520

taaaagacct gaatgaagtt ttctgccaaa ctccgtgaag ccacaagcac cttatgtcct 2580

cccttcagtg ttttgtgggc ctgaatttca tcacactgca tttcagccat ggtcatcaag 2640

cctgtttgct tcttttgggc atgttcacag attctctgtt aagagccccc accaccaaga 2700

aggttagcag gccaacagct ctgacatcta tctgtagatg ccagtagtca caaagatttc 2760

ttaccaactc tcagatcgct ggagccctta gacaaactgg aaagaaggca tcaaagggat 2820

caggcaagct gggcgtcttg cccttgtccc ccagagatga taccctccca gcaagtggag 2880

aagttctcac ttccttcttt agagcagcta aaggggctac ccagatcagg gttgaagaga 2940

aaactcaatt accagggtgg gaagaatgaa ggcactagaa ccagaaaccc tgcaaatgct 3000

cttcttgtca cccagcatat ccacctgcag aagtcatgag aagagagaag gaacaaagag 3060

gagactctga ctactgaatt aaaatcttca gcggcaaagc ctaaagccag atggacacca 3120

tctggtgagt ttactcatca tcctcctctg ctgctgattc tgggctctga cattgcccat 3180

actcactcag attccccacc tttgttgctg cctcttagtc agagggaggc caaaccattg 3240

agactttcta cagaaccatg gcttctttcg gaaaggtctg gttggtgtgg ctccaatact 3300

ttgccaccca tgaactcagg gtgtgccctg ggacactggt tttatatagt cttttggcac 3360

acctgtgttc tgttgacttc gttcttcaag cccaagtgca agggaaaatg tccacctact 3420

ttctcatctt ggcctctgcc tccttactta gctcttaatc tcatctgttg aactcaagaa 3480

atcaagggcc agtcatcaag ctgcccattt taattgattc actctgtttg ttgagaggat 3540

agtttctgag tgacatgata tgatccacaa gggtttcctt ccctgatttc tgcattgata 3600

ttaatagcca aacgaacttc aaaacagctt taaataacaa gggagagggg aacctaagat 3660

gagtaatatg ccaatccaag actgctggag aaaactaaag ctgacaggtt ccctttttgg 3720

ggtgggatag acatgttctg gttttcttta ttattacaca atctggctca tgtacaggat 3780

cacttttagc tgttttaaac agaaaaaaat atccaccact cttttcagtt acactaggtt 3840

acattttaat aggtccttta catctgtttt ggaatgattt tcatcttttg tgatacacag 3900

attgaattat atcattttca tatctctcct tgtaaatact agaagctctc ctttacattt 3960

ctctatcaaa tttttcatct ttatgggttt cccaattgtg actcttgtct tcatgaatat 4020

atgtttttca tttgcaaaag ccaaaaatca gtgaaacagc agtgtaatta aaagcaacaa 4080

ctggattact ccaaatttcc aaatgacaaa actagggaaa aatagcctac acaagccttt 4140

aggcctactc tttctgtgct tgggtttgag tgaacaaagg agattttagc ttggctctgt 4200

tctcccatgg atgaaaggag gaggattttt tttttctttt ggccattgat gttctagcca 4260

atgtaattga cagaagtctc attttgcatg cgctctgctc tacaaacaga gttggtatgg 4320

ttggtatact gtactcacct gtgagggact ggccactcag acccacttag ctggtgagct 4380

agaagatgag gatcactcac tggaaaagtc acaaggacca tctccaaaca agttggcagt 4440

gctcgatgtg gacgaagagt gaggaagaga aaaagaagga gcaccaggga gaaggctccg 4500

tctgtgctgg gcagcagaca gctgccagga tcacgaactc tgtagtcaaa gaaaagagtc 4560

gtgtggcagt ttcagctctc gttcattggg cagctcgcct aggcccagcc tctgagctga 4620

catgggagtt gttggattct ttgtttcata gctttttcta tgccataggc aatattgttg 4680

ttcttggaaa gtttattatt tttttaactc ccttactctg agaaagggat attttgaagg 4740

actgtcatat atctttgaaa aaagaaaatc tgtaatacat atatttttat gtatgttcac 4800

tggcactaaa aaatatagag agcttcattc tgtcctttgg gtagttgctg aggtaattgt 4860

ccaggttgaa aaataatgtg ctgatgctag agtccctctc tgtccatact ctacttctaa 4920

atacatatag gcatacatag caagttttat ttgacttgta ctttaagaga aaatatgtcc 4980

accatccaca tgatgcacaa atgagctaac attgagcttc aagtagcttc taagtgtttg 5040

tttcattagg cacagcacag atgtggcctt tccccccttc tctcccttga tatctggcag 5100

ggcataaagg cccaggccac ttcctctgcc ccttcccagc cctgcaccaa agctgcattt 5160

caggagactc tctccagaca gcccagtaac tacccgagca tggcccctgc atagccctgg 5220

aaaaataaga ggctgactgt ctacgaatta tcttgtgcca gttgcccagg tgagagggca 5280

ctgggccaag ggagtggttt tcatgtttga cccactacaa ggggtcatgg gaatcaggaa 5340

tgccaaagca ccagatcaaa tccaaaactt aaagtcaaaa taagccattc agcatgttca 5400

gtttcttgga aaaggaagtt tctacccctg atgcctttgt aggcagatct gttctcacca 5460

ttaatctttt tgaaaatctt ttaaagcagt ttttaaaaag agagatgaaa gcatcacatt 5520

atataaccaa agattacatt gtacctgcta agataccaaa attcataagg gcagggggggg 5580

agcaagcatt agtgcctctt tgataagctg tccaaagaca gactaaagga ctctgctggt 5640

gactgactta taagagcttt gtgggttttt ttttccctaa taatatacat gtttagaaga 5700

attgaaaata atttcgggaa aatgggatta tgggtccttc actaagtgat tttataagca 5760

gaactggctt tccttttctc tagtagttgc tgagcaaatt gttgaagctc catcattgca 5820

tggttggaaa tggagctgtt cttagccact gtgtttgcta gtgcccatgt tagcttatct 5880

gaagatgtga aacccttgct gataagggag catttaaagt actagatttt gcactagagg 5940

gacagcaggc agaaatcctt atttctgccc actttggatg gcacaaaaag ttatctgcag 6000

ttgaaggcag aaagttgaaa tacattgtaa atgaatattt gtatccatgt ttcaaaattg 6060

aaatatatat atatatatat atatatatat atatatatat atagtgtgtg tgtgtgttct 6120

gatagcttta actttctctg catctttata tttggttcca gatcacacct gatgccatgt 6180

acttgtgaga gaggatgcag ttttgttttg gaagctctct cagaacaaac aagacacctg 6240

gattgatcag ttaactaaaa gttttctccc ctattgggtt tgacccacag gtcctgtgaa 6300

ggagcagagg gataaaaaga gtagaggaca tgatacattg tactttacta gttcaagaca 6360

gatgaatgtg gaaagcataa aaactcaatg gaactgactg agatttacca cagggaaggc 6420

ccaaacttgg ggccaaaagc ctacccaagt gattgaccag tggcccccta atgggacctg 6480

agctgttgga agaagagaac tgttccttgg tcttcaccat ccttgtgaga gaagggcagt 6540

ttcctgcatt ggaacctgga gcaagcgctc tatctttcac acaaattccc tcacctgaga 6600

ttgaggtgct cttgttactg ggtgtctgtg tgctgtaatt ctggttttgg atatgttctg 6660

taaagatttt gacaaatgaa aatgtgtttt tctctgttaa aacttgtcag agtactagaa 6720

gttgtatctc tgtaggtgca ggtccatttc tgcccacagg tagggtgttt ttctttgatt 6780

aagagattga cacttctgtt gcctaggacc tcccaactca accatttcta ggtgaaggca 6840

gaaaaatcca cattagttac tcctcttcag acatttcagc tgagataaca aatcttttgg 6900

aatttttca cccatagaaa gagtggtaga tatttgaatt tagcaggtgg agtttcatag 6960

taaaaacagc ttttgactca gctttgattt atcctcattt gatttggcca gaaagtaggt 7020

aatatgcatt gattggcttc tgattccaat tcagtatagc aaggtgctag gtttttcct 7080

ttccccacct gtctcttagc ctggggaatt aaatgagaag ccttagaatg ggtggccctt 7140

gtgacctgaa acacttccca cataagctac ttaacaagat tgtcatggag ctgcagattc 7200

cattgcccac caaagactag aacacacaca tatccataca ccaaaggaaa gacaattctg 7260

aaatgctgtt tctctggtgg ttccctctct ggctgctgcc tcacagtatg ggaacctgta 7320

ctctgcagag gtgacaggcc agatttgcat tatctcacaa ccttagccct tggtgctaac 7380

tgtcctacag tgaagtgcct ggggggttgt cctatcccat aagccacttg gatgctgaca 7440

gcagccacca tcagaatgac ccacgcaaaa aaaagaaaaa aaaaattaaa aagtcccctc 7500

acaacccagt gacacctttc tgctttcctc tagactggaa cattgattag ggagtgcctc 7560
agacatgaca ttcttgtgct gtccttggaa ttaatctggc agcaggaggg agcagactat 7620
gtaaacagag ataaaaatta attttcaata ttgaaggaaa aaagaaataa gaagagagag 7680
agaaagaaag catcacacaa agattttctt aaaagaaaca attttgcttg aaatctcttt 7740
agatggggct catttctcac ggtggcactt ggcctccact gggcagcagg accagctcca 7800
agcgctagtg ttctgttctc tttttgtaat cttggaatct tttgttgctc taaatacaat 7860
taaaaatggc agaaacttgt ttgttggact acatgtgtga ctttgggtct gtctctgcct 7920
ctgctttcag aaatgtcatc cattgtgtaa aatattggct tactggtctg ccagctaaaa 7980
cttggccaca tcccctgtta tggctgcagg atcgagttat tgttaacaaa gagacccaag 8040
aaaagctgct aatgtcctct tatcattgtt gttaatttgt taaaacataa agaaatctaa 8100
aatttcaaaa aa 8112

<210> 58
<211> 947
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 58

acttgcctca ggaaccccag cctgccagca cctattccac ctcccagccc agcatggcac 60
ccctgctgcc catccggacc ttgcccttga tcctgattct gctggctctg ctgtccccag 120
gggctgcaga cttcaacatc tcaagcctct ctggtctgct gtccccggcg ctaacggaga 180
gcctgctggt tgccttgccc ccctgtcacc tcacaggagg caatgccaca ctgatggtcc 240
ggagagccaa tgacagcaaa gtggtgacgt ccagctttgt ggtgcctccg tgccgtgggc 300
gcagggaact ggtgagtgtg gtggacagtg gtgctggctt cacagtcact cggctcagtg 360
cataccaggt gacaaacctc gtgccaggaa ccaaattcta catttcctac ctagtgaaga 420
aggggacagc cactgagtcc agcagagaga tcccaatgtc cacactccct cgaaggaaca 480
tggaatccat tgggctgggt atggcccgca caggggcat ggtggtcatc acggtgctgc 540
tctctgtcgc catgttcctg ctggtgctgg gcttcatcat tgccctggca ctgggctccc 600
gcaagtaagg aggtctgccc ggagcagcag cttctccagg aagcccaggg caccatccag 660
ctccccagcc cacctgctcc caggccccag gcctgtggct cccttggtgc cctcgcctcc 720
tcctcctgcc ctcctctccc ctagagccct ctcctccctc tgtccctctc cttgccccca 780
gtgcctcacc ttccaacact ccattattcc tctcacccca ctcctgtcag agttgacttt 840
cctcccattt taccacttta aacaccccca taacaattcc cccatccttc agtgaactaa 900
gtccctataa taaaggctga ggctgcatct gccaaaaaaa aaaaaaa 947

<210> 59

<211> 5220
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 59

```
ggtctgcagc gcaagcgcag tgcggataaa caggaagcgg gcggtggagg cagcagcaga      60
gggagagctc ggggcttgga ggggaaacag cggaagacct aagattatcg ggagggcagc     120
agaggcagag aacgaggaca ggacccttgg ccgtcttctt ccagggaacg agaggtcaca     180
gcctcgctct ccgcttaggc ttctggcgcc ccagcttaaa gccgaggctg cggctgacaa     240
agggctcgcg ccggtgccgc cgcccttctc atccgggcat tcgggtccct gcggagaggg     300
aggggggaagg gcagaggggg aggggaagga gccggagggg cgcacacttg gagctgaagc     360
cctctccagg gctccgggcc ggtgccccaa cggacagagg tcgaggagga cccgcagagg     420
tggcagcggc cgggggcagg aggatggtgc agaaggagag tcaagcgacg ttggaggagc     480
gggagagcga gctcagctcc aaccctgccg cctctgcggg ggcatcgctg gagccgccgg     540
cagctccggc acccggagaa gacaaccccg ccggggctgg gggagcggcg gtggccgggg     600
ctgcaggagg ggctcggcgg ttcctctgcg gtgtggtgga aggattttat ggaagacctt     660
gggttatgga acagagaaaa gaactcttta gaaggctcca gaaatgggaa ttaaatacat     720
acttgtatgc cccaaaagat gactacaaac ataggatgtt ttggcgagag atgtattcag     780
tggaggaagc tgagcaactt atgactctca tctctgctgc acgagaatat gagatagagt     840
tcatctatgc gatctcacct ggattggata tcacttttтc taaccccaag gaagtatcca     900
cattgaaacg taaattggac caggtttctc agtttgggtg cagatcattt gctttgcttt     960
ttgatgatat agaccataat atgtgtgcag cagacaaaga ggtattcagt tcttttgctc    1020
atgcccaagt ctccatcaca aatgaaatct atcagtacct aggagagcca gaaactttcc    1080
tcttctgtcc cacagaatac tgtggcactt tctgttatcc aaatgtgtct cagtctccat    1140
atttaaggac tgtgggtgaa aagcttctac ctggaattga agtgctttgg acaggtccca    1200
aagttgtttc taaagaaatt ccagtagagt ccatcgaaga ggtttctaag attattaaga    1260
gagctccagt aatctgggat aacattcatg ctaatgatta tgatcagaag agactgtttc    1320
tgggcccgta caaaggaaga tccacagaac tcatcccacg gttaaaagga gtcctcacta    1380
atccaaattg tgaatttgaa gccaactacg ttgctatcca cacccttgcc acctggtaca    1440
aatcaaacat gaatggagtg agaaaagatg tagtgatgac tgacagtgaa gatagtactg    1500
tgtccatcca gataaaatta gaaaatgaag gcagtgatga agatattgaa actgatgtac    1560
tctatagtcc acagatggct ctaaagctag cattaacaga atggttgcaa gagtttggtg    1620
tgcctcatca atacagcagt aggcaagttg cacacagtgg agctaaagca agtgtagttg    1680
atgggactcc tttagttgca gcaccctctt taaatgccac aaccgtagta acaacagttt    1740
```

atcaggagcc cattatgagc cagggagcag ccttgagtgg tgagcctact actctgacca 1800

aggaagaaga aaagaaacag cctgatgaag aacccatgga catggtggtg gaaaaacaag 1860

aagaaacgga ccacaagaat gacaatcaaa tactgagtga aattgttgaa gcgaaaatgg 1920

cagaggaatt gaaaccaatg gacactgata aagagagcat agctgaatca aaatccccag 1980

agatgtccat gcaagaagat tgtattagtg acattgcccc catgcaaact gatgaacaga 2040

caaacaagga gcagtttgtg ccaggtccaa atgaaaagcc tttgtacact gcggaaccag 2100

tgaccctgga ggatttgcag ttacttgctg atctattcta ccttccttac gagcatggac 2160

ccaaaggagc acagatgtta cgggaatttc aatggcttcg agcaaatagt agtgttgtca 2220

gtgtcaattg caaaggaaaa gactctgaaa aaattgaaga atggcggtca cgagcagcca 2280

agtttgaaga gatgtgtgga ctagtgatgg gaatgttcac tcggctctcc aattgtgcca 2340

acaggacaat tctttatgac atgtactcct atgtttggga tatcaagagt ataatgtcta 2400

tggtgaagtc ttttgtacag tggttagggt gtcgtagtca ttcttcagca caattcttaa 2460

ttggagacca agaaccctgg gcctttagag gtggtctagc aggagagttc cagcgtttgc 2520

tgccaattga tggggcaaat gatctctttt ttcagccacc tccactgact cctacctcca 2580

aagtttatac tatcagacct tattttccta aggatgaggc atccgtgtac aagatttgca 2640

gagaaatgta tgacgatgga gtgggtttac cctttcaaag tcagcctgat cttattggag 2700

acaagttagt aggagggctg ctttccctca gcctggatta ctgctttgtc ctagaagatg 2760

aagatggcat atgtggttat gccttgggca ctgtagatgt gacccccttt attaaaaaat 2820

gtaaaatttc ctggatcccc ttcatgcagg agaagtatac caagccaaat ggtgacaagg 2880

aactctctga ggctgagaaa ataatgttga gtttccatga agaacaggaa gtactgccag 2940

aaactttcct tgctaatttc ccttctctga taaagatgga cattcacaaa aaagtaactg 3000

acccaagtgt ggccaaaagc atgatggctt gcctcctgtc ttcactgaag gctaatggct 3060

cccggggagc tttctgtgaa gtgagaccag atgataaaag aattctggaa ttttacagca 3120

agttaggatg ttttgaaatt gcaaaaatgg aaggatttcc aaaggatgtg gttatacttg 3180

gtcggagcct gtgacatttg ttgacactgt gaactgtcca aaagtctctt aactgcacct 3240

tgtgaatggt agttgaggtc ttcatacagt tcagcctcta gaatggtaac aaatcagcca 3300

attggattcg aaacaaagaa gactatgtaa aactcaccca tcacactttg agactactca 3360

ctggttggaa gaatatagta ttgcagcaaa tcctgtatga aagagagatg tgggcttcct 3420

ttttgagtct tgtgttaggt gctgagacct tttacatggg cttatacagg gagagagtct 3480

tcaataaatg tagtcagcac tattttctgc atccagtgtg gttgcgtttc tcacctgaga 3540

gtaatcaaga taacatctgt catcttcctt ggtttattga gtgaaatgcc tctcagtctt 3600

aggggacatg gcagagatga aagaaagaaa gagtgggttt cagaagtgtc agggtggagt 3660

gattccaagt gggatggttg tggcattagt ttaagctgaa taaataattt caatttgggg 3720

cagttattct gctttttgta aagccgtggc caattgtctc ctgtaatgac tgttggttca 3780

ggcatgttgt actttgtagg gacaaatgtg catttgtttg tggcaaaagc ctacaattga 3840

caaacttgta aatttctttg tatataaact agctgtaacc tgactatcct ttgtgtttac 3900

tgtttttgta aatttttttc ctctataaat gaaagggtgt tggttcagaa tggcactttg 3960

aataatgtaa accagtgaaa agtggatttt ctttactttt gtctttgggt ttggggttgt 4020

ttttgttctt tttgaagttt tattattttt aaagtgcctc ccacctaggc gtaggccatg 4080

accatttggg gtacgagagc ctaattttgt aggacttaat ctgttgaaaa gtgcagttac 4140

ttctggaaat taacctcaat attaggtcag catgtgaaat gttggatttg acatgtcagg 4200

tagggttcag ggactgattg gtcccatttg ccctcaggtc agttgtttaa tctcaagacc 4260

tgttactact gattttatta aatcagagtc tttaattctt gcatgtttgt atctaatttc 4320

tgaacgaatg agcacacttt aaccagttat ttacagttac ctttttcctt taaccggatt 4380

gtgaaagctt catgtatttt aatttagatt ctgtgttttt aagggttctg agcatgaagc 4440

tggcagatag tcggcaggac tcatttttc atcatggctg gctgatttct ccatagattg 4500

ataacagtat tttgttatct tgcttctctg tagttttgca tcagctgttt aactttgagc 4560

tgagtgaggg gagaggggta aagagaaaga aacttaagtt ttctttcaca gaactccacc 4620

attgtgggct ttgagagagc cctaaagcat tgtacctagt ggtacctagt gacttccaac 4680

caaagccttt gagtatgcac taaataggtg agaagaaagg agagaaggtt tttaggttag 4740

aaacctttaa ccgatagaag gatatggtat gttgtaaagc tggaaccaag tttgcatttt 4800

tgagggcttg agatgaaggg aagactctta ccagatagta agacagctga gttttcctca 4860

gttttctcgt cttaacacta gtggacaatt ctagcatttt gtttggagga tttcagagtt 4920

aacctcatgg aattcaggat tttttagcaa gtttgctttt ggttttatct tggcttttag 4980

taatcatgtt ggctggtctg gtcacaggtg actgtgaaac agatgccctg gtcttgcttt 5040

catcactcta ggatcatgaa gtgctatgct atttcctggt tatgaatatt aaggttggaa 5100

ttacattttt attgattgtt tggatcagag ctcagttcct gtagaaaacg aactgtaaaa 5160

gaccatgcaa gaggcaaaat aaaacttgaa gtgaatgctt gtaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5220

<210> 60
<211> 5061
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 60

ggtctgcagc gcaagcgcag tgcggataaa caggaagcgg gcggtggagg cagcagcaga 60

gggagagctc ggggcttgga ggggaaacag cggaagacct aagattatcg ggagggcagc 120

agaggcagag aacgaggaca ggacccttgg ccgtcttctt ccagggaacg agaggtcaca 180

gcctcgctct ccgcttaggc ttctggcgcc ccagcttaaa gccgaggctg cggctgacaa 240

agggctcgcg ccggtgccgc cgcccttctc atccgggcat tcgggtccct gcggagaggg 300

aggggggaagg gcagaggggg aggggaagga gccggagggg cgcacacttg gagctgaagc 360

cctctccagg gctccgggcc ggtgccccaa cggacagagg tcgaggagga cccgcagagg 420

tggcagcggc cgggggcagg aggatggtgc agaaggagag tcaagcgacg ttggaggagc 480

gggagagcga gctcagctcc aaccctgccg cctctgcggg ggcatcgctg gagccgccgg 540

cagctccggc acccggagaa gacaaccccg ccggggctgg gggagcggcg gtggccgggg 600

ctgcaggagg ggctcggcgg ttcctctgcg gtgtggtgga aggattttat ggaagacctt 660

gggttatgga acagagaaaa gaactcttta gaaggctcca gaaatgggaa ttaaatacat 720

acttgtatgc cccaaaagat gactacaaac ataggatgtt ttggcgagag atgtattcag 780

tggaggaagc tgagcaactt atgactctca tctctgctgc acgagaatat gagatagagt 840

tcatctatgc gatctcacct ggattggata tcacttttтc taaccccaag gaagtatcca 900

cattgaaacg taaattggac caggtttctc agtttgggtg cagatcattt gctttgcttt 960

ttgatgatat agaccataat atgtgtgcag cagacaaaga ggtattcagt tcttttgctc 1020

atgcccaagt ctccatcaca aatgaaatct atcagtacct aggagagcca gaaactttcc 1080

tcttctgtcc cacagaatac tgtggcactt tctgttatcc aaatgtgtct cagtctccat 1140

atttaaggac tgtgggtgaa aagcttctac ctggaattga agtgctttgg acaggtccca 1200

aagttgtttc taaagaaatt ccagtagagt ccatcgaaga ggtttctaag attattaaga 1260

gagctccagt aatctgggat aacattcatg ctaatgatta tgatcagaag agactgtttc 1320

tgggcccgta caaaggaaga tccacagaac tcatcccacg gttaaaagga gtcctcacta 1380

atccaaattg tgaatttgaa gccaactacg ttgctatcca cacccttgcc acctggtaca 1440

aatcaaacat gaatggagtg agaaaagatg tagtgatgag taggcaagtt gcacacagtg 1500

gagctaaagc aagtgtagtt gatgggactc ctttagttgc agcaccctct ttaaatgcca 1560

caaccgtagt aacaacagtt tatcaggagc ccattatgag ccagggagca gccttgagtg 1620

gtgagcctac tactctgacc aaggaagaag aaaagaaaca gcctgatgaa gaacccatgg 1680

acatggtggt ggaaaaacaa gaagaaacgg accacaagaa tgacaatcaa atactgagtg 1740

aaattgttga agcgaaaatg gcagaggaat tgaaaccaat ggacactgat aaagagagca 1800

tagctgaatc aaaatcccca gagatgtcca tgcaagaaga ttgtattagt gacattgccc 1860

ccatgcaaac tgatgaacag acaaacaagg agcagtttgt gccaggtcca aatgaaaagc 1920

ctttgtacac tgcggaacca gtgaccctgg aggatttgca gttacttgct gatctattct 1980

accttcctta cgagcatgga cccaaaggag cacagatgtt acgggaattt caatggcttc 2040

gagcaaatag tagtgttgtc agtgtcaatt gcaaaggaaa agactctgaa aaaattgaag 2100

aatggcggtc acgagcagcc aagtttgaag agatgtgtgg actagtgatg ggaatgttca 2160

ctcggctctc caattgtgcc aacaggacaa ttctttatga catgtactcc tatgtttggg 2220

atatcaagag tataatgtct atggtgaagt cttttgtaca gtggttaggg tgtcgtagtc 2280

attcttcagc acaattctta attggagacc aagaaccctg ggcctttaga ggtggtctag 2340

caggagagtt ccagcgtttg ctgccaattg atggggcaaa tgatctcttt tttcagccac 2400

ctccactgac tcctacctcc aaagtttata ctatcagacc ttattttcct aaggatgagg 2460

catccgtgta caagatttgc agagaaatgt atgacgatgg agtgggttta ccctttcaaa 2520

gtcagcctga tcttattgga gacaagttag taggagggct gctttccctc agcctggatt 2580

actgctttgt cctagaagat gaagatggca tatgtggtta tgccttgggc actgtagatg 2640

tgacccccct tattaaaaaa tgtaaaattt cctggatccc cttcatgcag gagaagtata 2700

ccaagccaaa tggtgacaag gaactctctg aggctgagaa aataatgttg agtttccatg 2760

aagaacagga agtactgcca gaaactttcc ttgctaattt cccttctctg ataaagatgg 2820

acattcacaa aaaagtaact gacccaagtg tggccaaaag catgatggct tgcctcctgt 2880

cttcactgaa ggctaatggc tcccggggag ctttctgtga agtgagacca gatgataaaa 2940

gaattctgga attttacagc aagttaggat gttttgaaat tgcaaaaatg gaaggatttc 3000

caaaggatgt ggttatactt ggtcggagcc tgtgacattt gttgacactg tgaactgtcc 3060

aaaagtctct taactgcacc ttgtgaatgg tagttgaggt cttcatacag ttcagcctct 3120

agaatggtaa caaatcagcc aattggattc gaaacaaaga agactatgta aaactcaccc 3180

atcacacttt gagactactc actggttgga agaatatagt attgcagcaa atcctgtatg 3240

aaagagagat gtgggcttcc tttttgagtc ttgtgttagg tgctgagacc ttttacatgg 3300

gcttatacag ggagagagtc ttcaataaat gtagtcagca ctattttctg catccagtgt 3360

ggttgcgttt ctcacctgag agtaatcaag ataacatctg tcatcttcct tggtttattg 3420

agtgaaatgc ctctcagtct taggggacat ggcagagatg aaagaaagaa agagtgggtt 3480

tcagaagtgt cagggtggag tgattccaag tgggatggtt gtggcattag tttaagctga 3540

ataaataatt tcaatttggg gcagttattc tgctttttgt aaagccgtgg ccaattgtct 3600

cctgtaatga ctgttggttc aggcatgttg tactttgtag ggacaaatgt gcatttgttt 3660

gtggcaaaag cctacaattg acaaacttgt aaatttcttt gtatataaac tagctgtaac 3720

ctgactatcc tttgtgttta ctgtttttgt aaatttttct cctctataaa tgaaagggtg 3780

ttggttcaga atggcacttt gaataatgta aaccagtgaa aagtggattt tctttacttt 3840

tgtctttggg tttggggttg tttttgttct ttttgaagtt ttattatttt taaagtgcct 3900

cccacctagg cgtaggccat gaccatttgg ggtacgagag cctaattttg taggacttaa 3960

tctgttgaaa agtgcagtta cttctggaaa ttaacctcaa tattaggtca gcatgtgaaa 4020

tgttggattt gacatgtcag gtagggttca gggactgatt ggtcccattt gccctcaggt 4080

cagttgttta atctcaagac ctgttactac tgattttatt aaatcagagt ctttaattct 4140

tgcatgtttg tatctaattt ctgaacgaat gagcacactt taaccagtta tttacagtta 4200

ccttttttcct ttaaccggat tgtgaaagct tcatgtattt taatttagat tctgtgtttt 4260

taagggttct gagcatgaag ctggcagata gtcggcagga ctcatttttt catcatggct 4320

ggctgatttc tccatagatt gataacagta ttttgttatc ttgcttctct gtagttttgc 4380

atcagctgtt taactttgag ctgagtgagg ggagaggggt aaagagaaag aaacttaagt 4440

tttctttcac agaactccac cattgtgggc tttgagagag ccctaaagca ttgtacctag 4500

tggtacctag tgacttccaa ccaaagcctt tgagtatgca ctaaataggt gagaagaaag 4560

gagagaaggt ttttaggtta gaaaccttta accgatagaa ggatatggta tgttgtaaag 4620

ctggaaccaa gtttgcattt ttgagggctt gagatgaagg gaagactctt accagatagt 4680

aagacagctg agttttcctc agttttctcg tcttaacact agtggacaat tctagcattt 4740

tgtttggagg atttcagagt taacctcatg gaattcagga ttttttagca agtttgcttt 4800

tggttttatc ttggctttta gtaatcatgt tggctggtct ggtcacaggt gactgtgaaa 4860

cagatgccct ggtcttgctt tcatcactct aggatcatga agtgctatgc tatttcctgg 4920

ttatgaatat taaggttgga attacatttt tattgattgt ttggatcaga gctcagttcc 4980

tgtagaaaac gaactgtaaa agaccatgca agaggcaaaa taaaacttga agtgaatgct 5040

tgtaaaaaaa aaaaaaaaaa a 5061

<210> 61
<211> 3724
<212> ADN
<213> Homo sapiens

<400> 61

tctccctcgg cgccgccgcc gccgcccgcg gggctgggac ccgatgcggt tagagccgcg 60

gagcctggaa gagccccgag cgtttctgct ttgggacaac catacatcta attccttaaa 120

gtagttttat atgtaaaact tgcaaagaat cagaacaatg cctccacgac catcatcagg 180

tgaactgtgg ggcatccact tgatgccccc aagaatccta gtagaatgtt tactaccaaa 240

tggaatgata gtgactttag aatgcctccg tgaggctaca ttaataacca taaagcatga 300

actatttaaa gaagcaagaa aatacccccc ccatcaactt cttcaagatg aatcttctta 360

cattttcgta agtgttactc aagaagcaga aagggaagaa ttttttgatg aaacaagacg 420

actttgtgac cttcggcttt ttcaaccctt tttaaaagta attgaaccag taggcaaccg 480

tgaagaaaag atcctcaatc gagaaattgg ttttgctatc ggcatgccag tgtgtgaatt 540

tgatatggtt aaagatccag aagtacagga cttccgaaga aatattctga acgtttgtaa 600

agaagctgtg gatcttaggg acctcaattc acctcatagt agagcaatgt atgtctatcc 660

tccaaatgta gaatcttcac cagaattgcc aaagcacata tataataaat tagataaagg 720

gcaaataata gtggtgatct gggtaatagt ttctccaaat aatgacaagc agaagtatac 780

tctgaaaatc aaccatgact gtgtaccaga acaagtaatt gctgaagcaa tcaggaaaaa 840

aactcgaagt atgttgctat cctctgaaca actaaaactc tgtgttttag aatatcaggg 900

caagtatatt ttaaaagtgt gtggatgtga tgaatacttc ctagaaaaat atcctctgag 960

tcagtataag tatataagaa gctgtataat gcttgggagg atgcccaatt tgatgttgat 1020

ggctaaagaa agcctttatt ctcaactgcc aatggactgt tttacaatgc catcttattc 1080

cagacgcatt tccacagcta caccatatat gaatggagaa acatctacaa aatccctttg 1140

ggttataaat agtgcactca gaataaaaat tctttgtgca acctacgtga atgtaaatat 1200

tcgagacatt gataagatct atgttcgaac aggtatctac catggaggag aacccttatg 1260

tgacaatgtg aacactcaaa gagtaccttg ttccaatccc aggtggaatg aatggctgaa 1320

ttatgatata tacattcctg atcttcctcg tgctgctcga ctttgccttt ccatttgctc 1380

tgttaaaggc cgaaagggtg ctaaagagga acactgtcca ttggcatggg gaaatataaa 1440

cttgtttgat tacacagaca ctctagtatc tggaaaaatg gctttgaatc tttggccagt 1500

acctcatgga ttagaagatt tgctgaaccc tattggtgtt actggatcaa atccaaataa 1560

agaaactcca tgcttagagt tggagtttga ctggttcagc agtgtggtaa agttcccaga 1620

tatgtcagtg attgaagagc atgccaattg gtctgtatcc cgagaagcag gatttagcta 1680

ttcccacgca ggactgagta acagactagc tagagacaat gaattaaggg aaaatgacaa 1740

agaacagctc aaagcaattt ctacacgaga tcctctctct gaaatcactg agcaggagaa 1800

agattttcta tggagtcaca gacactattg tgtaactatc cccgaaattc tacccaaatt 1860

gcttctgtct gttaaatgga attctagaga tgaagtagcc cagatgtatt gcttggtaaa 1920

agattggcct ccaatcaaac ctgaacaggc tatggaactt ctggactgta attacccaga 1980

tcctatggtt cgaggttttg ctgttcggtg cttggaaaaa tatttaacag atgacaaact 2040

ttctcagtat ttaattcagc tagtacaggt cctaaaatat gaacaatatt tggataactt 2100

gcttgtgaga tttttactga agaaagcatt gactaatcaa aggattgggc acttttttctt 2160

ttggcattta aaatctgaga tgcacaataa aacagttagc cagaggtttg gcctgctttt 2220

ggagtcctat tgtcgtgcat gtgggatgta tttgaagcac ctgaataggc aagtcgaggc 2280

aatggaaaag ctcattaact taactgacat tctcaaacag gagaagaagg atgaaacaca 2340

aaaggtacag atgaagtttt tagttgagca aatgaggcga ccagatttca tggatgctct 2400

acagggcttt ctgtctcctc taaaccctgc tcatcaacta ggaaacctca ggcttgaaga 2460

gtgtcgaatt atgtcctctg caaaaaggcc actgtggttg aattgggaga acccagacat 2520

catgtcagag ttactgtttc agaacaatga gatcatcttt aaaaatgggg atgatttacg 2580

gcaagatatg ctaacacttc aaattattcg tattatggaa aatatctggc aaaatcaagg 2640

tcttgatctt cgaatgttac cttatggttg tctgtcaatc ggtgactgtg tgggacttat 2700

tgaggtggtg cgaaattctc acactattat gcaaattcag tgcaaaggcg gcttgaaagg 2760

tgcactgcag ttcaacagcc acacactaca tcagtggctc aaagacaaga acaaaggaga 2820

aatatatgat gcagccattg acctgtttac acgttcatgt gctggatact gtgtagctac 2880

cttcattttg ggaattggag atcgtcacaa tagtaacatc atggtgaaag acgatggaca 2940

actgtttcat atagattttg gacacttttt ggatcacaag aagaaaaaat ttggttataa 3000

acgagaacgt gtgccatttg ttttgacaca ggatttctta atagtgatta gtaaaggagc 3060

ccaagaatgc acaaagacaa gagaatttga gaggtttcag gagatgtgtt acaaggctta 3120

tctagctatt cgacagcatg ccaatctctt cataaatctt ttctcaatga tgcttggctc 3180

tggaatgcca gaactacaat cttttgatga cattgcatac attcgaaaga ccctagcctt 3240

agataaaact gagcaagagg ctttggagta tttcatgaaa caaatgaatg atgcacatca 3300

tggtggctgg acaacaaaaa tggattggat cttccacaca attaaacagc atgcattgaa 3360

ctgaaaagat aactgagaaa atgaaagctc actctggatt ccacactgca ctgttaataa 3420

ctctcagcag gcaaagaccg attgcatagg aattgcacaa tccatgaaca gcattagaat 3480

ttacagcaag aacagaaata aaatactata taatttaaat aatgtaaacg caaacagggt 3540

ttgatagcac ttaaactagt tcatttcaaa attaagcttt agaataatgc gcaatttcat 3600

gttatgcctt aagtccaaaa aggtaaactt tgaagattgt ttgtatcttt ttttaaaaaa 3660

caaaacaaaa caaaaatccc caaaatatat agaaatgatg gagaaggaaa aaaaaaaaaa 3720

aaaa 3724

<210> 62
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 62
catctatgcg atctcacctg ga 22

<210> 63
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 63
cacccaaact gagaaacctg g 21

<210> 64
<211> 28
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 64
tctaacccca aggaagtatc cacattga 28

<210> 65
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 65
gtcctctgca aaaaggccac tg 22

<210> 66
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 66
cttgccgtaa atcatcccca t 21

<210> 67
<211> 30
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 67
agaacccaga catcatgtca gagttactgt 30

<210> 68
<211> 24
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 68
tcgaatgaac tacatcaagg aact 24

<210> 69
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 69
gcagctctct cgcaatagg 19

<210> 70
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 70
tgctcaagac gcttctacca gct 23

<210> 71
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 71
cggactgaga ataatgatgc tga 23

<210> 72
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 72
gatcagttca tagcagccct g 21

<210> 73
<211> 27
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 73
tctcaacctg gaggcttgta aactagg 27

<210> 74
<211> 22
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 74
caatgtccac actccctcga ag 22

<210> 75
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 75
aggaacatgg cgacagagag 20

<210> 76
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Sintético

<400> 76
tgggtatggc ccgcacagg 19

REIVINDICACIONES

1. Un método para detectar la presencia de cáncer de vejiga en un sujeto que comprende detectar el nivel de cada marcador de un conjunto de marcadores de cáncer de vejiga en una muestra de lavado de orina o vejiga del sujeto, en el que el conjunto de marcadores de cáncer de vejiga comprende uroplakina 1B (UPK1B), o receptor de andrógenos (AR), o ambos UPK1B y AR, y en donde la detección de un nivel elevado de al menos un marcador seleccionado de UPK1B y AR indica la presencia de cáncer de vejiga en el sujeto.

2. Un método para monitorear la terapia con anti-andrógenos en un sujeto con cáncer de vejiga que comprende detectar el nivel de cada marcador de un conjunto de marcadores de cáncer de vejiga en una muestra de lavado de orina o vejiga del sujeto en un primer momento, en donde el conjunto de marcadores de cáncer de vejiga comprende uroplakina 1B (UPK1B), o receptor de andrógenos (AR), o tanto UPK1B como AR, y en donde una disminución en el nivel de al menos un marcador en el primer punto de tiempo con relación a un segundo punto de tiempo indica que el sujeto está respondiendo a la terapia anti-andrógena.

3. El método de la reivindicación 2, en el que el sujeto está sometido a una terapia anti-andrógena en el primer punto de tiempo y en el que el segundo punto de tiempo es antes de que el sujeto comience la terapia anti-andrógena.

4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que:

a) el método comprende además la detección de un control endógeno, opcionalmente en el que el control endógeno se selecciona entre ABL, GUSB, GAPDH, TUBB y UPK1a; y/o
b) el método comprende además detectar un control exógeno, opcionalmente en el que el control exógeno es un ARN.

5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la detección comprende TA-PCR, opcionalmente en el que el método comprende TA-PCR cuantitativa, y opcionalmente en el que el método comprende la comparación de un valor de Ct o una Δ valor Ct a un valor Ct umbral o Δ Valor Ct.

6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el método comprende poner en contacto el ARN de la muestra con un conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga, en el que el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un primer par de cebadores para detectar AR, o un primer par de cebadores para detectar UPK1B, o un primer par de cebadores para detectar AR y un segundo par de cebadores para detectar UPK1B, y opcionalmente, en donde cada par de cebadores marcadores de cáncer de vejiga produce un amplicón de 50 a 500 nucleótidos, 50 a 400 nucleótidos, 50 a 300 nucleótidos de largo, 50 a 200 nucleótidos de largo, o 50 a 150 nucleótidos de largo.

7. El método de la reivindicación 6, en el que el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende:

a) un tercer par de cebadores para detectar un marcador seleccionado de CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10;
b) un tercer par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10, y un cuarto par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10, en donde el tercer par de cebadores y el cuarto cebador par detectar diferentes marcadores; o
c) un tercer par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10, y un cuarto par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10, y un quinto par de cebadores para detectar un marcador seleccionado de CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10, en donde el tercer par de cebadores, el cuarto par de cebadores y el quinto par de cebadores detectan diferentes marcadores.

8. El método de la reivindicación 6 o la reivindicación 7, en el que el método comprende además formar un conjunto de amplicones marcadores de cáncer de vejiga, en el que el conjunto de amplicones marcadores de cáncer de vejiga comprende un amplicón AR, o un amplicón UPK1B, o tanto un amplicón AR como un amplicón UPK1B, y poniendo en contacto los amplicones marcadores de cáncer de vejiga con un conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga, en donde el conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprende una primera sonda para detectar el amplicón AR, o una primera sonda para detectar el amplicón UPK1B, o una primera sonda para Detectar el amplicón AR y una segunda sonda para detectar el amplicón UPK1B.

9. El método de la reivindicación 8, en el que:

a) el conjunto de amplicones marcadores de cáncer de vejiga comprende un tercer amplicón seleccionado de un amplicón CRH, un amplicón IGF2, un amplicón KRT20 y un amplicón ANXA10, y en el que el conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprende una tercera sonda para detectar el tercer amplicón;
b) el conjunto de amplicones marcadores de cáncer de vejiga comprende un tercer amplicón seleccionado entre un amplicón CRH, un amplicón IGF2, un amplicón KRT20 y un amplicón ANXA10, y un cuarto amplicón

seleccionado entre un amplicón CRH, un amplicón IGF2, un amplicón KRT20, y un amplicón ANXA10, en el que el conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprende una tercera sonda para detectar el tercer amplicón y una cuarta sonda para detectar el cuarto amplicón, y en la que el tercer amplicón y el cuarto amplicón son diferentes; o

c) el conjunto de amplicones marcadores de cáncer de vejiga comprende un tercer amplicón seleccionado de entre un amplicón CRH, un amplicón IGF2, un amplicón KRT20 y un amplicón ANXA10, y un cuarto amplicón seleccionado entre un ampliçón CRH, un amplicón IGF2, un ampliçón KRT20 y un ampliçón ANXA10 y un quinto ampliçón seleccionados de un ampliçón CRH, un ampliçón IGF2, un ampliçón KRT20 y un ampliçón ANXA10, en donde el conjunto de sondas de marcadores de cáncer de vejiga comprende una tercera sonda para detectar el tercer amplicón y una cuarta sonda para detectar el cuarto amplicón y una quinta sonda para detectar el quinto amplicón, y en el que el tercer amplicón, el cuarto amplicón y el quinto amplicón son diferentes.

10. El método de la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en el que cada sonda de marcador de cáncer de vejiga comprende un tinte, y en el que cada tinte es notablemente diferente de los otros tintes; opcionalmente, en el que cada sonda comprende un tinte fluorescente y una molécula de extinción.

11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que:

a) el conjunto de marcadores de cáncer de vejiga se detecta en una única reacción múltiplex; y/o

b) el método comprende el uso del análisis discriminante lineal (ADL) para combinar dos o más de los niveles de marcadores de cáncer de vejiga en una puntuación combinada, opcionalmente en donde ADL se usa para combinar todos los niveles de marcadores de cáncer de vejiga en una puntuación combinada.

12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que:

a) el sujeto tiene al menos un síntoma de cáncer de vejiga, el síntoma opcionalmente seleccionado de dolor abdominal, sangre en la orina, micción dolorosa, micción frecuente, urgencia urinaria e incontinencia;

b) el sujeto tiene antecedentes de cáncer de vejiga y, opcionalmente, se está monitoreando la recurrencia del cáncer de vejiga y/o se ha tratado con Bacillus Calmette-Guerin (BCG) en los últimos tres meses; y/o

c) el cáncer de vejiga es un cáncer de vejiga de bajo grado.

13. El uso de una composición que comprende un conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga para detectar los niveles de cada marcador de un conjunto de marcadores de cáncer de vejiga en una muestra de lavado de orina o vejiga, en donde el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende un primer par de cebadores para detección de AR, o un primer par de cebadores para detectar UPK1B, o un primer par de cebadores para detectar AR y un segundo par de cebadores para detectar UPK1B.

14. El método o el uso de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el conjunto de marcadores de cáncer de vejiga comprende además al menos un marcador seleccionado de hormona liberadora de corticotropina (CRH), factor de crecimiento de tipo insulínico 2 (IGF2), queratina 20 (KRT20) y anexina 10 (ANXA10).

15. El método o uso de la reivindicación 14, en el que el conjunto de marcadores de cáncer de vejiga comprende

a) AR, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10;
b) AR, CRH, IGF2 y KRT20;
c) UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10;
d) UPK1B, CRH, IGF2 y KRT20;
e) AR, UPK1B, CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10;
f) AR, UPK1B, CRH, IGF2 y KRT20;
g) UPK1B, CRH, IGF2 y ANXA10; o
h) UPK1B, CRH, KRT20 y ANXA10.

16. Una composición que comprende un conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga, en donde el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende:

a) un primer par de cebadores para detectar AR o UPK1B, y un par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; o

b) un primer par de cebadores para detectar AR y un segundo par de cebadores para detectar UPK1B.

17. La composición de la reivindicación 16, en la que el conjunto de pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga comprende:

a) un tercer par de cebadores para detectar un marcador seleccionado de CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10;

b) un tercer par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10 y un cuarto par de cebadores para detectar un marcador seleccionado entre CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10, en donde

el tercer par de cebadores y el cuarto par de cebadores detectan diferentes marcadores;
c) un tercer par de cebadores para detectar un marcador seleccionado de CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; un cuarto par de cebadores para detectar un marcador seleccionado de CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10; y un quinto par de cebadores para detectar un marcador seleccionado de CRH, IGF2, KRT20 y ANXA10, en donde el tercer par de cebadores, el cuarto par de cebadores y el quinto par de cebadores detectan marcadores diferentes;
d) un primer par de cebadores para detectar AR, un segundo par de cebadores para detectar CRH, un tercer par de cebadores para detectar IGF2, un cuarto par de cebadores para detectar KRT20 y un quinto par de cebadores para detectar ANXA10;
e) un primer par de cebadores para detectar AR, un segundo par de cebadores para detectar CRH, un tercer par de cebadores para detectar IGF2 y un cuarto par de cebadores para detectar KRT20;
f) un primer par de cebadores para detectar UPK1B, un segundo par de cebadores para detectar CRH, un tercer par de cebadores para detectar IGF2, un cuarto par de cebadores para detectar KRT20 y un quinto par de cebadores para detectar ANXA10;
g) un primer par de cebadores para detectar UPK1B, un segundo par de cebadores para detectar CRH, un tercer par de cebadores para detectar IGF2 y un cuarto par de cebadores para detectar KRT20;
h) un primer par de cebadores para detectar AR, un segundo par de cebadores para detectar UPK1B, un tercer par de cebadores para detectar CRH, un cuarto par de cebadores para detectar IGF2, un quinto par de cebadores para detectar KRT20 y un sexto par de cebadores para la detección de ANXA10;
i) un primer par de cebadores para detectar AR, un segundo par de cebadores para detectar UPK1B, un tercer par de cebadores para detectar CRH, un cuarto par de cebadores para detectar IGF2 y un quinto par de cebadores para detectar KRT20;
j) un primer par de cebadores para detectar UPK1B, un segundo par de cebadores para detectar CRH, un tercer par de cebadores para detectar IGF2 y un cuarto par de cebadores para detectar ANXA10; o
k) un primer par de cebadores para detectar UPK1B, un segundo par de cebadores para detectar CRH, un tercer par de cebadores para detectar KRT20 y un cuarto par de cebadores para detectar ANXA10.

18. La composición de la reivindicación 16 o la reivindicación 17, en la que: la composición comprende además un conjunto de sondas marcadoras de cáncer de vejiga, en la que la serie de sondas marcadoras de cáncer de vejiga comprende:

a) una primera sonda para detectar un amplicón AR, o una primera sonda para detectar un amplicón UPK1B, o una primera sonda para detectar un amplicón AR y una segunda sonda para detectar un amplicón UPK1B, y opcionalmente:

A) una tercera sonda para detectar un tercer amplicón seleccionado de un amplicón CRH, un amplicón IGF2, un amplicón KRT20 y un amplicón ANXA10;
B) sondas tercera y cuarta para detectar amplicones tercero y cuarto seleccionados de un amplicón CRH, un amplicón IGF2, un amplicón KRT20 y un amplicón ANXA10, en donde el tercer amplicón y el cuarto amplicón son diferentes; o
C) sondas tercera, cuarta y quinta para detectar los amplicones tercero, cuarto y quinto seleccionados de un amplicón CRH, un ampliçón IGF2, un amplicón KRT20 y un ampliçón ANXA10, en donde el tercer amplicón, el cuarto amplicón y el quinto ampliçón son diferentes;

b) una primera sonda para detectar el amplicón AR, una segunda sonda para detectar el amplicón CRH, una tercera sonda para detectar el amplicón IGF2, una cuarta sonda para detectar el amplicón KRT20 y una quinta sonda para detectar el amplicón ANXA10;
c) una primera sonda para detectar el amplicón AR, una segunda sonda para detectar el amplicón CRH, una tercera sonda para detectar el amplicón IGF2 y una cuarta sonda para detectar el amplicón KRT20;
d) una primera sonda para detectar el amplicón UPK1B, una segunda sonda para detectar el amplicón CRH, una tercera sonda para detectar el amplicón IGF2, una cuarta sonda para detectar el amplicón KRT20 y una quinta sonda para detectar el amplicón ANXA10;
e) una primera sonda para detectar el amplicón UPK1B, una segunda sonda para detectar el amplicón CRH, una tercera sonda para detectar el amplicón IGF2 y una cuarta sonda para detectar el amplicón KRT20;
f) una primera sonda para detectar el amplicón AR, una segunda sonda para detectar el amplicón UPK1B, una tercera sonda para detectar el amplicón CRH, una cuarta sonda para detectar el amplicón IGF2 y una quinta sonda para detectar el amplicón KRT20, y sexta sonda para detectar el amplicón ANXA10;
g) una primera sonda para detectar el amplicón AR, una segunda sonda para detectar el amplicón UPK1B, una tercera sonda para detectar el amplicón CRH, una cuarta sonda para detectar el amplicón IGF2 y una quinta sonda para detectar el amplicón KRT20;
h) una primera sonda para detectar el amplicón UPK1B, una segunda sonda para detectar el amplicón CRH, una tercera sonda para detectar el amplicón IGF2 y una cuarta sonda para detectar el amplicón ANXA10; o
i) una primera sonda para detectar el amplicón UPK1B, una segunda sonda para detectar el amplicón CRH, una tercera sonda para detectar el amplicón KRT20 y una cuarta sonda para detectar el amplicón ANXA10.

19. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, comprende además un par de control endógeno, y

además comprende opcionalmente una sonda de control endógena para detectar un amplicón de control endógeno, opcionalmente en donde el control endógeno es ABL.

20. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 19, en la que la composición es una composición liofilizada o en la que la composición es una solución.

21. La composición de la reivindicación 16, en la que el primer par de cánceres primarios presenta un primer par de cebadores para detectar UPK1B, un segundo par de cebadores para detectar CRH, un tercer par de cebadores para detectar IGF2 y un cuarto par de cebadores para detectar ANXA10; y en el que la composición comprende además una primera sonda para detectar el amplicón UPK1B, una segunda sonda para detectar el amplicón CRH, una tercera sonda para detectar el amplicón IGF2 y una cuarta sonda para detectar el amplicón ANXA10; y en el que la composición comprende opcionalmente un par de cebadores de control endógeno y una sonda de control endógena.

22. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, o la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 20, en donde:

a) cada par de cebadores marcadores de cáncer de vejiga produce un amplicón que tiene una longitud de 50 a 500 nucleótidos, 50 a 400 nucleótidos, 50 a 300 nucleótidos, 50 a 200 nucleótidos, o 50 a 150 nucleótidos;
b) al menos uno, al menos dos, o al menos tres pares de cebadores marcadores de cáncer de vejiga abarcan un intrón en la secuencia genómica; y/o
c) cada par de cebadores de cáncer de vejiga abarca un intrón en la secuencia genómica.

23. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, o la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 16 a 21, o la composición o método de la reivindicación 22, en donde:

a) el par de cebadores para detectar AR comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de SEQ ID NO: 54 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 55, en donde cada cebador tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35, o menos de 30 nucleótidos de longitud; y/o
b) el par de cebadores para detectar UPK1B comprende un primer cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de SEQ ID NO: 51 y un segundo cebador que comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 52, en donde cada cebador tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud.

24. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, o la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 19 a 21, o la composición o método de la reivindicación 22, en donde:

a) la sonda para detectar AR comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14 o al menos 15, al menos 16, al menos 17 o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 56, en donde la sonda tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud; y/o
b) la sonda para detectar UPK1B comprende al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, o al menos 15, al menos 16, al menos 17, o al menos 18 nucleótidos de la SEQ ID NO: 53, en donde la sonda tiene menos de 50, menos de 45, menos de 40, menos de 35 o menos de 30 nucleótidos de longitud.