

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges
Eigentum

Internationales Büro

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum
29. Juni 2017 (29.06.2017)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2017/108491 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
C12Q 1/68 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2016/080723

(22) Internationales Anmeldedatum:
13. Dezember 2016 (13.12.2016)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
15201813.1 22. Dezember 2015 (22.12.2015) EP

(71) Anmelder: SIEMENS AKTIENGESELLSCHAFT
[DE/DE]; Wittelsbacherplatz 2, 80333 München (DE).

(72) Erfinder: KELLER, Andreas; Albert Schweitzer Str. 6,
66346 Püttlingen (DE). STÄHLER, Cord Friedrich;
Muldweg 8, 69493 Hirschberg an der Bergstraße (DE).
GEISEN, Stefanie; Scheidter Straße 32, 66125
Saarbrücken (DE). SICKERT, Daniel;
Kupferschmiedshof 18, 90403 Nürnberg (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW,
BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK,

DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,
MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA,
NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO,
RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV,
SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST,
SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG,
KZ, RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH,
CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE,
IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO,
RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz
3)

— mit dem Sequenzprotokollteil der Beschreibung (Regel 5
Absatz 2 Buchstabe a)



WO 2017/108491 A1

(54) Title: DIAGNOSTIC MIRNA SIGNATURES IN MS AND CIS PATIENTS

(54) Bezeichnung : DIAGNOSTISCHE MIRNA SIGNATUREN IN MS UND CIS PATIENTEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for the diagnosis of multiple sclerosis in a patient, wherein the expression profile of miRNAs is determined in a blood sample and a comparison of the expression levels of defined miRNAs with a reference sample is carried out. The invention also relates to the use of said defined miRNAs as diagnostic markers for multiple sclerosis and to a kit for the diagnosis of multiple sclerosis.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Diagnose von multipler Sklerose in einem Patienten, bei dem das Expressionsprofil von miRNAs in einer Blutprobe bestimmt wird und ein Vergleich der Expressionsniveaus definierter miRNAs zu einer Referenzprobe durchgeführt wird, sowie die Verwendung dieser definierten miRNAs als diagnostische Marker für multiple Sklerose, und ein Kit zur Diagnose von multipler Sklerose.

Beschreibung

Diagnostische miRNA Signaturen in MS und CIS Patienten

5 Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Diagnose von multip-
pler Sklerose (MS) in einem Patienten, bei dem das Expressi-
onsprofils von miRNAs in einer Blutprobe bestimmt wird und
ein Vergleich der Expressionsniveaus definierter miRNAs zu
einer Referenzprobe durchgeführt wird, sowie die Verwendung
10 dieser definierten miRNAs als diagnostische Marker für mul-
tiple Sklerose, und ein Kit zur Diagnose von multipler Skle-
rose.

Eine gesicherte Diagnose der Multiplen Sklerose kann - beson-
15 ders im Frühstadium der Erkrankung - mit hohem Aufwand ver-
bunden sein: Sind Symptome und klinischer Befund nicht ein-
deutig, werden neben der neurologischen Untersuchung in der
Regel MRI, Lumbalpunktion und Messung der Nervenreaktionszeit
mit visuell evozierten Potenzialen (VEP), akustisch evozier-
20 ten Potenzialen (AEP) und somatosensibel evozierten Potenzia-
len (SEP) notwendig (Compston, A. & Coles, A. (2008). Multiple
sclerosis. *The Lancet*, 372(9648), 1502-1517.
doi:10.1016/S0140-6736(08)61620-7).

25 Patienten, die eine CIS (clinically isolated syndrome, kli-
nisch isoliertes Syndrom) Diagnose erhalten, werden in vielen
Fällen (nach einem weiteren Schub / einer neuen Läsionen,
entsprechend den McDonald Kriterien (McDonald, W.I., Comp-
ton, A., Edan, G., Goodkin, D., Hartung, H.P., Lublin, F.D.,
30 Wolinsky, J.S. (2001). Recommended diagnostic criteria for
multiple sclerosis: Guidelines from the International Panel
on the Diagnosis of Multiple Sclerosis. *Annals of Neurology*,
50(1), 121-127. doi:10.1002/ana.1032)) im weiteren Verlauf
des Lebens als RRMS (relapsing-remitting multiple sclerosis,
35 schubförmig remittierende multiple Sklerose) Patienten einge-
stuft.

Für eine schnelle und effektive Behandlung von multipler Sklerose ist es vorteilhaft, wenn eine schnelle Diagnosemethode, insbesondere für CIS-Patienten, vorhanden ist. Es ist insbesondere vorteilhaft, wenn differentialdiagnostisch zwischen dem CIS-Stadium und einer bereits eingetretenen RRMS-
5 Erkrankung unterschieden werden kann, bevor sämtliche bisher bekannten Kriterien einer RRMS erfüllt sind.

In letzter Zeit wurden microRNAs (nachfolgend auch miRNAs)
10 als Marker für die Diagnose von verschiedenen Erkrankungen wie Lungenkrebs, etwa in der EP 2 438 190 B1, oder für das akute Koronarsyndrom, etwa in der EP 2 561 091, diskutiert. MicroRNAs sind hierbei eine Klasse von kurzen, nichtkodierenden RNAs, die beispielsweise eine Rolle bei der Genexpression
15 spielen.

Es ist eine Aufgabe der Erfindung, ein miRNA Profil aus dem Blut von Patienten herauszuarbeiten, welches eine Diagnose (CIS vs. RRMS) vereinfachen kann.
20

Die Erfinder haben herausgefunden, dass mithilfe einer Änderung im Expressionsprofil von bestimmten miRNAs im Vergleich zu CIS Patienten, also solchen, bei denen kein Übergang zu multipler Sklerose, insbesondere RRMS, stattgefunden hat, eine
25 Diagnose einer Erkrankung mit multipler Sklerose möglich ist, insbesondere bei CIS-Patienten.

Gemäß einem ersten Aspekt betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Diagnose von multipler Sklerose in einem Patienten,
30 umfassend:

Bereitstellen einer Blutprobe eines Patienten,
Erstellen eines Expressionsprofils von miRNAs aus der Blutprobe, und
Vergleich des Expressionsniveaus mindestens einer miRNA, die
35 eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-

4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, mit einem Referenzniveau, wobei der Vergleich die Diagnose einer Erkrankung mit multipler Sklerose ermöglicht.

Gemäß einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung eine Verwendung einer miRNA, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, als diagnostischer Marker für die Diagnose von multipler Sklerose, insbesondere RRMS.

Zudem betrifft die Erfindung ein Kit zur Diagnose von multipler Sklerose in einer Blutprobe eines Patienten, umfassend: Sonden und/oder Primer zur Detektion mindestens einer miRNA-Sequenz, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-

3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und
5 hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1
10 Base abweicht.

Weitere Aspekte der vorliegenden Erfindung sind den abhängigen Ansprüchen und der detaillierten Beschreibung zu entnehmen.
15

Sofern nicht anderweitig definiert haben hierin verwendete technische und wissenschaftliche Begriffe dieselbe Bedeutung, wie sie im Allgemeinen von einem Fachmann im Gebiet der Erfindung verstanden wird.
20

MicroRNAs bzw. miRNAs bzw. micro-Ribonukleinsäuren sind eine Klasse von kurzen, nichtkodierenden RNAs, die beispielsweise eine Rolle bei der Genexpression spielen. Eine miRNA ist hierbei ein Polynucleotid mit einer festen Anzahl von Basen, beispielsweise von weniger als 500, weniger als 200, weniger als 100, weniger als 50 oder weniger als 30, aber beispielsweise mehr als 5, 10 oder 14 Basen, und einer definierten Sequenz. Aus dieser kann beispielsweise auch cDNA gewonnen werden, so dass aus den miRNAs im erfindungsgemäßen Verfahren
25 auch cDNAs hergestellt werden können, welche dann ebenfalls mit cDNA-Niveaus verglichen werden können, die aus miRNAs von Patienten gewonnen werden, welche keine MS, insbesondere keine RRMS, aufweisen.
30

35 Im Folgenden wie auch zuvor beziehen sich die Verweise auf bestimmte miRNAs auf die Sequenzen, wie sie der Datenbank

Mirbase (<http://mirbase.org/>), insbesondere Mirbase20 - also der Version 20 von Mirbase, entnommen werden können.

Des Weiteren sind die Sequenzen, die im erfindungsgemäßen Verfahren sowie der erfindungsgemäßen Verwendung Anwendung finden, auch der folgenden Tabelle 1 zu entnehmen. In Tabelle 1 sind hierbei die miRNAs in der reifen Form (mature Form) angegeben, welche von der Haarnadelform (stem loop form) abweichen kann.

10

Tabelle 1: Sequenzen der miRNAs, die im erfindungsgemäßen Verfahren sowie der erfindungsgemäßen Verwendung Anwendung finden

Reife Form	SEQ ID NO:	Sequenz
hsa-miR-194-5p	1	uguaacagcaacuccaugugga
hsa-miR-627-5p	2	gugagucucuaagaaaagagga
hsa-miR-148a-5p	3	aaaguucugagacacuccgacu
hsa-miR-1181	4	ccgucgccgccacccgagccg
hsa-miR-1273g-3p	5	accacugcacuccagccugag
hsa-miR-181d-5p	6	aacaucauuguugucggugggu
hsa-miR-4465	7	cucaaguagucugaccagggga
hsa-miR-4699-3p	8	aauuuacucugcaauucucc
hsa-miR-4715-3p	9	gugccaccuuaacugcagccaau
hsa-miR-5011-3p	10	gugcauggcuguauauaaca
hsa-miR-6778-3p	11	ugccucccugacauuccacag
hsa-miR-6833-5p	12	guguggaagaugggaggagaaa
hsa-miR-6873-5p	13	cagagggauacagagggcaau

15 Die vorliegende Erfindung betrifft in einem ersten Aspekt ein Verfahren zur Diagnose von multipler Sklerose in einem Patienten, umfassend:

Bereitstellen einer Blutprobe eines Patienten,
Erstellen eines Expressionsprofils von miRNAs aus der Blutprobe, und

20

Vergleich des Expressionsniveaus mindestens einer miRNA, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, be-

stehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, bevorzugt
5 hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-
10 3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, mit einem Referenzniveau, wobei der Vergleich die Diagnose einer Erkrankung mit multipler Sklerose ermöglicht.

15

Das Expressionsprofil ist hierbei ein Profil der Expression von miRNAs, beispielsweise 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 oder mehr miRNAs, in der Probe, gemäß bestimmten Ausführungsformen in quantitativer Form, während das Expressionsniveau die jeweilige Menge einer exprimierten miRNA an-
20 gibt.

Das Bereitstellen der Blutprobe ist hierbei nicht besonders
25 beschränkt, ist insbesondere jedoch nichtinvasiv, sondern es wird eine bereits genommene Blutprobe verwendet. Gemäß bestimmten Ausführungsformen kann auch die Entnahme und/oder Aufbereitung einer Blutprobe umfasst sein. Eine Blutprobe umfasst hierbei eine Vollblutprobe wie auch Fraktionen von
30 Blutproben wie etwa das Plasma, Serum, etc., oder auch Zellen in der Blutprobe wie mononukleäre Zellen des peripheren Blutes.

Der Patient, von dem die Blutprobe bereitgestellt wird, ist
35 ebenfalls nicht besonders beschränkt, und kann beispielsweise Wirbeltiere, insbesondere Säugetiere umfassen, ist jedoch gemäß bestimmten Ausführungsformen ein Mensch. Insbesondere

wird das vorliegende Verfahren gemäß bestimmten Ausführungsformen bei Patienten angewendet, z.B. Menschen, bei denen ein klinisch isoliertes Syndrom bzw. CIS diagnostiziert wurde. Die Sequenzen, die im erfindungsgemäßen Verfahren zur Anwendung kommen, können hierbei insbesondere bei einer Veränderung des Expressionsniveaus einer oder mehrerer der miRNAs, die eine entsprechende Sequenz umfassen, zur Anwendung kommen.

10 Auch ist das Verfahren zum Erstellen eines Expressionsprofils von miRNAs nicht besonders beschränkt und kann hierbei beispielsweise gängige mikrobiologische Verfahren zur Bestimmung von Nukleinsäuren umfassen, wobei hier zum Vergleich mit dem Referenzniveau gemäß bestimmten Ausführungsformen ein semi-quantitatives oder quantitatives, insbesondere quantitatives Verfahren zur Anwendung kommt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen umfasst das Erstellen des Expressionsprofils von miRNAs mindestens ein Verfahren, das ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend eine Nukleinsäurehybridisierung, eine Nukleinsäureamplifikation, eine Polymeraseextension, eine Sequenzierung, eine Massenspektrometrie, und jegliche Kombination davon.

Eine Nukleinsäurehybridisierung kann hierbei die Verwendung von Arrays, z.B. Mikroarrays, und/oder eine *in situ* Hybridisierung umfassen. Ein Array kann dazu beispielsweise die Verwendung komplementärer Sequenzen zu den bestimmten Sequenzen, also miRNAs, die eine Sequenz umfassen, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-

4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die eine Sequenz umfassen, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, umfassen, welche beispielsweise
5 geeignet auf einen Träger angebracht werden können. Für eine Quantifizierung kann dann beispielsweise eine Markierung der miRNAs der Probe mit Markern wie Fluoreszenzmarkern oder Radionukleotidmarkern erfolgen.

10 Alternativ oder zusätzlich kann auch eine Polymerase-Kettenreaktion (PCR, polymerase chain reaction), bevorzugt eine quantitative PCR (qPCR), insbesondere eine quantitative Echtzeit-PCR (qRT-PCR, quantitative real-time PCR) auf geeignete Weise durchgeführt werden.

15 Auch sind Sequenzierungsmethoden wie Next Generation Sequenzierung und/oder Massenspektrometrie, insbesondere quantitative Massenspektrometrie, denkbar.

20 Der Vergleich mit einem Referenzniveau im erfindungsgemäßen Verfahren ist nicht besonders beschränkt und kann hierbei insbesondere einen Vergleich mit der Probe eines gesunden Individuums und/oder eines Individuums mit einer CIS-Diagnose, bei dem im Anschluss jedoch keine MS mehr auftritt und/oder
25 eines Individuums, bei dem sich aus einer CIS-Diagnose eine MS, insbesondere RRMS entwickelt, umfassen. Durch solch einen Vergleich kann beispielsweise die Diagnose einer Erkrankung mit multipler Sklerose ermöglicht werden. Ein Vergleich kann hierbei beispielsweise anhand mathematischer Ansätze wie Korrelationen, anhand statistischer Verfahren, anhand Wahr-
30 scheinlichkeitstheorien, anhand informationstheoretischer Ansätze oder Kombinationen davon stattfinden.

Für eine verbesserte Aussage ist hierbei ein statistischer
35 Vergleich mit einer Vielzahl von Proben von gesunden und an MS, insbesondere RRMS, erkrankten Patienten vorteilhaft, wobei solche Daten auch beispielsweise einer geeigneten Daten-

bank entnommen werden können und/oder anhand einer daraus entwickelten mathematischen Funktion bzw. eines Algorithmus bestimmt werden können. Das statistische Verfahren ist hierbei nicht besonders beschränkt und kann beispielsweise auch
5 computergestützt durchgeführt werden. Beispielsweise können hierbei ein t-Test, ein Wilcoxon-Mann-Whitney-Test, die Bestimmung der Fläche unter der Kurve (AUC, area under curve), etc. zur Anwendung kommen.

10 Gemäß bestimmten Ausführungsformen wird das Referenzniveau aus einer Vielzahl von Proben von Patienten erhalten, von denen eine erste Gruppe in einer ersten und zweiten Diagnose mit CIS diagnostiziert wurde, eine zweite Gruppe nach einer ersten CIS-Diagnose in einer zweiten Diagnose mit RRMS diagnostiziert wurde, und eine dritte Gruppe in einer ersten und
15 zweiten Diagnose mit RRMS diagnostiziert wurde. Gemäß bestimmten Ausführungsformen wird hierbei ein Referenzniveau aus derselben Art von Probe bestimmt wie die zu bestimmende Probe.

20

Als Abweichung von der Sequenz ist hierbei eine Variation in der Sequenz, z.B. eine Addition,, eine Insertion, eine Deletion, oder ein Austausch einer Base in der Sequenz im Vergleich zur ursprünglichen Sequenz, welche beispielsweise in
25 Tabelle 1 angegeben ist, zu verstehen, insbesondere eine Deletion und/oder ein Einzelbasenaustausch. So kann beispielsweise eine Deletion von 1 oder 2 Basen an einem und/oder beiden Enden der Sequenz stattfinden, wobei maximal 3 Basen, bevorzugt maximal 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base deletiert
30 werden und insbesondere keine Base deletiert wird. Auch ist zusätzlich dazu oder alternativ eine Änderung von 1 oder mehr Basen innerhalb der Sequenz möglich, wobei wiederum maximal eine Änderung um 3 Basen, bevorzugt 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base und insbesondere bevorzugt keiner Base im Vergleich zu
35 den Sequenzen von hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p,

hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p stattfindet.

Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet also ein Vergleich des Expressionsniveaus mindestens einer miRNA, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, mit einem Referenzniveau statt.

Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-181d-5p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz, also der Sequenz der miRNA, um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-194-5p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz, um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-627-5p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz, um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet min-

destens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-148a-5p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz, um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-1181 und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz, um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-1273g-3p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-4465 und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-4699-3p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-4715-3p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-5011-3p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-6778-3p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-6833-5p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt

1 Base abweicht, statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-6873-5p und/oder eine Sequenz, die von dieser Sequenz um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, statt.

Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-181d-5p statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-194-5p statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-627-5p statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-148a-5p statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-1181 statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-1273g-3p statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-4465 statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-4699-3p statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-4715-3p statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-5011-3p statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-6778-3p statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-6833-5p statt. Gemäß bestimmten Ausführungsformen findet mindestens ein Vergleich mit einer Sequenz umfassend die miRNA hsa-miR-6873-5p statt.

Gemäß bestimmten Ausführungsformen wird RRMS in einem Patienten diagnostiziert, welche sich gewöhnlich in wiederkehrenden Schüben nach der CIS-Diagnose zeigen kann.

5 Gemäß bestimmten Ausführungsformen wird in mindestens 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 oder 13 miRNAs, die eine Sequenz umfassen, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-
10 miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p,
15 weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht,
20 eine Änderung im Expressionsniveau im Vergleich zu einem Referenzniveau beobachtet. Gemäß bestimmten Ausführungsformen wird in mindestens 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 oder 13 miRNAs, die eine Sequenz umfassen, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-
25 miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465,
30 hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, eine Änderung im Expressionsniveau im Vergleich zu einem Referenzniveau be-
35 obachtet. Bei einer Änderung im Expressionsniveau von mehr als einer miRNA kann hierbei das Signifikanzniveau für eine

Diagnose mit einer MS-Erkrankung, insbesondere RRMS, außerordentlich gesteigert werden.

Gemäß bestimmten Ausführungsformen ist die miRNA mindestens
5 eine, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-4715, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, hsa-mir-6833, und hsa-mir-6873, bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-
10 mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, und hsa-mir-6873, weiter bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, und hsa-mir-6873, und/oder
15 mit einer Sequenz, die von dieser Sequenz um bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht. Gemäß bestimmten Ausführungsformen ist die miRNA mindestens eine, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-
20 148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-4715, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, hsa-mir-6833, und hsa-mir-6873, bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, hsa-mir-
25 6778, und hsa-mir-6873, weiter bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, und hsa-mir-6873. Diese Ausführungsform der miRNA entspricht hierbei der Stem-Loop Form bzw. Haarnadelform, welche mit der detektierten reifen
30 Form wie in Tabelle 2 gezeigt korreliert, und welche beispielsweise in den Proben als solche enthalten sein kann. Entsprechend kann der Vergleich anstelle mit der jeweiligen reifen Form auch mit der entsprechenden Stem-Loop Form erfolgen.

35

Tabelle 2: Korrelation zwischen Stem-Loop Form und reifen Form

Stem-Loop Form (Haarnadelform)	SEQ ID NO:	Reife Form	Sequenz der reifen Form
hsa-mir-194-1	14	hsa-miR-194-5p	uguaacagcaacuccaugugga
hsa-mir-194-2	15	hsa-miR-194-5p	uguaacagcaacuccaugugga
hsa-mir-627	16	hsa-miR-627-5p	gugagucucuaagaaaagagga
hsa-mir-148a	17	hsa-miR-148a-5p	aaaguucugagacacuccgacu
hsa-mir-1181	18	hsa-miR-1181	ccgucgccgccacccgagccg
hsa-mir-1273g	19	hsa-miR-1273g-3p	accacugcacuccagccugag
hsa-mir-181d	20	hsa-miR-181d-5p	aacauucauguugucggugggu
hsa-mir-4465	21	hsa-miR-4465	cucaaguagucugaccagggga
hsa-mir-4699	22	hsa-miR-4699-3p	aauuuacucugcaaucuucc
hsa-mir-4715	23	hsa-miR-4715-3p	gugccaccuuaacugcagccaau
hsa-mir-5011	24	hsa-miR-5011-3p	gugcauggcuguauauuaaca
hsa-mir-6778	25	hsa-miR-6778-3p	ugccuccugacauuccacag
hsa-mir-6833	26	hsa-miR-6833-5p	guguggaagauggggaggagaaa
hsa-mir-6873	27	hsa-miR-6873-5p	cagagggaaucagagggcaau

Die Nukleinsäuresequenzen der Stem-Loop Formen gemäß Tabelle 2 sind wie folgt:

- 5 14
 augguguuau caaguguaac agcaacucca uguggacugu guaccaauuu
 ccaguggaga ugcuguuacu uuugaugguu accaa
- 15
- 10 ugguucccg cccuguaac agcaacucca uguggaagug cccacugguu
 ccaguggggc ugcuguuau uggggcgagg gccag
- 16
- 15 uacuuuuac ugguagugag ucucuaagaa aagaggaggu gguuguuuuc
 cuccucuuuu cuugagacu cacuaccaau auaagaaau acuacia
- 17
- 20 gaggcaaagu ucugagacac uccgacucug aquaugauag aagucagugc
 acuacagaac uuugucuc

18

uccacugcug ccgccgucgc cgccacccga gccggagcgg gcugggccgc
caaggcaaga ugguggacua cagcgugugg g

5 19

gaggugggag gauugcuuga gucagggugg uugaggcugc aguaaguugu
gaucauacca cugcacucca gccugaguga cagagcaaga ccuugucua

20

10 guccccucc cuaggccaca gccgagguca caaucaacau ucauuguugu
cgguggguug ugaggacuga ggccagacc accgggggau gaaugucacu
guggcugggc cagacacggc uuaaggggaa uggggac

21

15 caugugucc cuggcacgc auuugaggu uacuauggaa ccucaaguag
ucugaccagg ggacacauga

22

20 agcaauugga gaagauugca gaguaaguuc cugauuaaga aauggaauuu
acucugcaau cuucuccaau ugcu

23

ggggaaugaa aguuggcugc aguuaaggug gcuaaucagc ugauggugcc
accuuaacug cagccaauuc uaauucccc

25

24

agaugguauu gaguggaugc uguuauauau acagccaugc acucuguagu uugg-
guacac agugcauggc uguauauaua acacuaucca uucaucuuuc
agc

30

25

guucaagugg gaggacagga ggcaggugug guuggaggaa gcagccugaa
ccugccucc ugacauucca cag

35

26

aaacggugug gaagauugga ggagaaaaau ccuguuuac uuucucucuc
cacuuccua g

27

cccagcagag ggaauacaga gggcaaucag gacuggguca uucucucugu
cuuucucucu cag

5

Gemäß bestimmten Ausführungsformen wird in mindestens 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 oder 14 miRNAs, die eine Sequenz umfassen, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-4715, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, hsa-mir-6833, und hsa-mir-6873, bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, und hsa-mir-6873, weiter bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, und hsa-mir-6873, und/oder die eine Sequenz umfassen, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, eine Änderung im Expressionsniveau im Vergleich zu einem Referenzniveau beobachtet. Gemäß bestimmten Ausführungsformen wird in mindestens 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 oder 14 miRNAs, die eine Sequenz umfassen, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-4715, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, hsa-mir-6833, und hsa-mir-6873, bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, und hsa-mir-6873, weiter bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, und hsa-mir-6873, eine Änderung im Expressionsniveau im Vergleich zu einem Referenzniveau beobachtet.

Gemäß einem weiteren Aspekt betrifft die Erfindung die Verwendung mindestens einer miRNA, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, als diagnostischer Marker für die Diagnose von multipler Sklerose. Gemäß bestimmten Ausführungsformen wird mindestens eine miRNA, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, verwendet.

Gemäß bestimmten Ausführungsformen ist hierbei die miRNA mindestens eine, die eine Sequenz aufweist, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, hsa-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-4715, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, hsa-mir-6833, und hsa-mir-6873, bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, hsa-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-

4699, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, und hsa-mir-6873, weiter bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, hsa-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, und hsa-mir-6873, und/oder die eine Sequenz aufweist, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht. Gemäß bestimmten Ausführungsformen ist hierbei die miRNA mindestens eine, die eine Sequenz aufweist, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, hsa-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-4715, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, hsa-mir-6833, und hsa-mir-6873, bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, hsa-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, und hsa-mir-6873, weiter bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, hsa-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, und hsa-mir-6873.

Gemäß bestimmten Ausführungsformen werden die miRNAs als Marker für RRMS verwendet.

In einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung ein Kit zur Diagnose von multipler Sklerose in einer Blutprobe eines Patienten, umfassend:

Sonden und/oder Primer zur Detektion mindestens einer miRNA-Sequenz, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die

eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht.

5 Gemäß bestimmten Ausführungsformen umfasst das Kit Sonden und/oder Primer zur Detektion mindestens einer miRNA-Sequenz, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-
10 4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5, bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, und hsa-miR-
15 6873-5p, weiter bevorzugt hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-5011-3p, und hsa-miR-6873-5p.

Gemäß bestimmten Ausführungsformen umfasst das Kit Sonden
20 und/oder Primer zur Detektion mindestens einer miRNA-Sequenz, die eine Sequenz aufweist, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, hsa-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-4715, hsa-mir-5011, hsa-mir-
25 6778, hsa-mir-6833, und hsa-mir-6873, bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, hsa-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, und hsa-mir-6873, weiter bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, hsa-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-
30 148a, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, und hsa-mir-6873, und/oder die eine Sequenz aufweist, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht.

35 Gemäß bestimmten Ausführungsformen umfasst das Kit Sonden und/oder Primer zur Detektion mindestens einer miRNA-Sequenz, die eine Sequenz aufweist, die ausgewählt ist aus der Gruppe,

bestehend aus hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-4715, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, hsa-mir-6833, und hsa-mir-6873, bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, und hsa-mir-6873, weiter bevorzugt hsa-mir-181d, hsa-mir-194-1, has-mir-194-2, hsa-mir-627, hsa-mir-148a, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-5011, und hsa-mir-6873, .

Gemäß bestimmten Ausführungsformen umfasst das Kit Sonden und/oder Primer zur Detektion von 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 oder 14 der obigen Sequenzen.

Die Sonden und/oder Primer sind hierbei nicht besonders beschränkt und können beispielsweise Oligomere umfassen, welche eine Nukleotidsequenz aufweisen, beispielsweise auch eine cDNA-Sequenz, welche komplementär zur Sequenz ist, die zu detektieren ist.

Daneben können auch weitere Sonden und/oder Primer als Kontrollen vorgesehen sein, beispielsweise von weiteren miRNAs, bei denen keine Änderung des Expressionsprofils im Vergleich zu Patienten ohne MS-Erkrankung, insbesondere RRMS-Erkrankung, auftritt. Auch können Kontrollen für nicht-spezifisches Binden und/oder Hybridisieren vorgesehen sein.

Die Primer und/oder Sonden sowie ggf. Kontrollen können gemäß bestimmten Ausführungsformen auf ein geeignetes Substrat aufgebracht sein.

Gemäß bestimmten Ausführungsformen umfasst das Kit weiter Enzyme und/oder Reagenzien zur Durchführung einer RT-PCR, insbesondere qRT-PCR, wobei diese nicht besonders beschränkt sind. Reagenzien können hierbei beispielsweise auch Marker, z.B. zur Fluoreszenzmarkierung und/oder Radionukleotid-

Markierung, umfassen. Auch kann das Kit Reagenzien zur cDNA-Synthese aus den miRNAs vor der PCR, bevorzugt qPCR und/oder RT-PCR, insbesondere qRT-PCR, umfassen.

- 5 Gemäß bestimmten Ausführungsformen wird mit dem erfindungsgemäßen Kit RRMS diagnostiziert.

Die obigen Ausführungsformen, Ausgestaltungen und Weiterbildungen lassen sich, sofern sinnvoll, beliebig miteinander
10 kombinieren. Weitere mögliche Ausgestaltungen, Weiterbildungen und Implementierungen der Erfindung umfassen auch nicht explizit genannte Kombinationen von zuvor oder im Folgenden bezüglich der Ausführungsbeispiele beschriebenen Merkmalen der Erfindung. Insbesondere wird der Fachmann auch Einzelaspekte als Verbesserungen oder Ergänzungen zu der jeweiligen
15 Grundform der vorliegenden Erfindung hinzufügen.

Die Erfindung wird im Anschluss anhand von beispielhaften Ausführungsformen weiter verdeutlicht, welche die Erfindung
20 jedoch nicht einschränken.

Beispiel 1

Es wurden in 2 Studien Blutproben von verschiedenen Patienten mit einer CIS-Diagnose bzw. RRMS-Diagnose bereitgestellt. In
25 Studie 1 hatten 11 Patienten eine CIS- und 4 Patienten eine RRMS-Diagnose. In Studie 2 hatten 63 Patienten eine CIS- und 34 Patienten eine RRMS-Diagnose.

Aus diesen Blutproben wurden die Daten von miRNAs durch qRT-PCR, Mikroarray-Analyse und Next Generation Sequencing, wie
30 in Keller, A., Leidinger, P., Steinmeyer, F., Stähler, C., Franke, A., Hemmrich-Stanisak, G., Ruprecht, K. (2014). Comprehensive analysis of microRNA profiles in multiple sclerosis including next-generation sequencing. Multiple Sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England), 20(3), 295-303.
35 doi:10.1177/1352458513496343, angegeben, bestimmt.

Aus diesen Daten wurden differentiell exprimierte miRNA zwischen CIS und RRMS Patienten berechnet. Die Daten wurden quantil normalisiert (R package „preprocessCore“).

- 5 Die CIS- und RRMS-Gruppen beider Studien wurden mit den folgenden drei Kriterien verglichen:
1. p-Wert im ungepaarten t-test CIS -> RRMS < 0.05
Logik: dys-reguliert zwischen CIS Patienten und RRMS Patienten beider Studien
 - 10 2. p-Wert im ungepaarten t-test CIS1 -> CIS2 > 0.05
Logik: ähnlich in CIS Patienten der ersten und zweiten Studie
 3. p-Wert im ungepaarten t-test RRMS1 -> RRMS2 > 0.05
Logik: ähnlich in RRMS Patienten der ersten und zweiten Studie

15

Mit diesen Patientengruppen wurde ein ungepaarter t-test vorgenommen. Hierbei wurden 61 miRNAs gefunden, welche entsprechend der genannten Logik unterschiedlich exprimiert sind.

- 20 Die am stärksten unterschiedlich exprimierten miRNAs sind in Tabelle 3 gezeigt.

Tabelle 3: miRNAs mit signifikant unterschiedlichem Expressionsniveau in RRMS-Patienten im Vergleich zu CIS-Patienten

Reife Form	CIS -> RRMS	CIS1 -> CIS2	RRMS1 -> RRMS2
hsa-miR-148a-5p	0.00512	0.11160	0.34071
hsa-miR-181d-5p	0.00178	0.24502	0.18053
hsa-miR-194-5p	0.00033	0.08340	0.36785
hsa-miR-627-5p	0.00448	0.15735	0.51109
hsa-miR-15a-5p	0.00411	0.43468	0.06072
hsa-miR-17-5p	0.00555	0.14318	0.24316
hsa-miR-126-5p	0.00664	0.55909	0.22976
hsa-miR-181a-5p	0.00717	0.31625	0.22896
hsa-miR-454-3p	0.00725	0.07724	0.43820

- 25 Wie aus der Tabelle ersichtlich können die erfindungsgemäß verwendeten Marker eine Diagnose des Auftretens von RRMS in

bisher als CIS-Patienten diagnostizierten Patienten ermöglichen.

Beispiel 2

- 5 Es wurden in Studie 2 jeweils zwei zu unterschiedlichen Zeiten t1 und t2 genommene Blutproben von verschiedenen Patienten mit einer CIS-Diagnose bzw. RRMS-Diagnose, bei denen sich danach die Diagnose über die Zeit änderte oder nicht, bereitgestellt, wobei die folgenden Szenarien auftraten:
- 10 CIS --> CIS (5 Patienten)
RRMS --> RRMS (4 Patienten)
CIS --> RRMS (6 Patienten).

Aus diesen Blutproben wurden die Daten von miRNAs durch qRT-PCR, Mikroarray-Analyse und Next Generation Sequencing, wie
15 in Keller, A., Leidinger, P., Steinmeyer, F., Stähler, C., Franke, A., Hemmrich-Stanisak, G., Ruprecht, K. (2014). Comprehensive analysis of microRNA profiles in multiple sclerosis including next-generation sequencing. *Multiple Sclerosis* (Houndmills, Basingstoke, England), 20(3), 295-303.
20 doi:10.1177/1352458513496343, angegeben, bestimmt.

Aus diesen Daten wurden differentiell exprimierte miRNA zwischen CIS und RRMS Patienten berechnet. Die Daten wurden
25 quantil normalisiert (R package „preprocessCore“).

Die CIS und RRMS Gruppen sowie die CIS -> RRMS-Gruppe wurden mit den folgenden drei Kriterien verglichen:

1. p-Wert im gepaarten t-test CIS-t1 -> RRMS-t2 < 0.05
30 Logik: unterschiedlich exprimiert in den beiden Blutproben von Patienten die bei t1 eine CIS- und bei t2 eine RRMS-Diagnose hatten
2. p- Wert im gepaarten t-test CIS-t1 -> CIS-t2 > 0.05
Logik: ähnlich in den beiden Blutproben von Patienten die zu
35 t1 und t2 eine CIS-Diagnose hatten
3. p- Wert im gepaarten t-test RRMS-t1 vs. RRMS-t2 > 0.05

Logik: ähnlich in den beiden Blutproben von Patienten die zu t1 und t2 eine RRMS-Diagnose hatten

5 Mit diesen Patientengruppen wurde ein gepaarter t-test vorgenommen. Hierbei wurden 125 miRNAs gefunden, die in der Gruppe CIS-t1 --> RRMS-t2 signifikant unterschiedlich (p- Wert <0.05) exprimiert und in den anderen beiden Gruppen ähnlich exprimiert sind.

10 Von diesen wurden die folgenden am stärksten signifikant unterschiedlich exprimierten miRNAs in Tabelle 4 gefunden.

Tabelle 4: miRNAs mit signifikant unterschiedlichem Expressionsniveau in RRMS-Patienten im Vergleich zu CIS-Patienten

Reife Form	CIS-t1 -> RRMS-t2	CIS-t1 -> CIS-t2	RRMS-t1 -> RRMS-t2
hsa-miR-1181	0,00139	0,23726	0,36030
hsa-miR-1273g-3p	0,00181	0,24681	0,63762
hsa-miR-21d-5p	0,00092	0,15330	0,97948
hsa-miR-4465	0,00099	0,39900	0,60652
hsa-miR-4699-3p	0,00099	0,39900	0,60652
hsa-miR-4715-3p	0,00127	0,02286	0,73953
hsa-miR-5011-3p	0,00059	0,13118	0,68909
hsa-miR-6778-3p	0,00136	0,12056	0,78499
hsa-miR-6833-5p	0,00093	0,15330	0,97948
hsa-miR-6873-5p	0,00036	0,06181	0,93094

15

Wie aus der Tabelle 4 ersichtlich können die erfindungsgemäß verwendeten Marker eine Diagnose des Auftretens von RRMS in CIS-Patienten ermöglichen.

20

Patentansprüche

1. Verfahren zur Diagnose von multipler Sklerose in einem Patienten, umfassend:
 - 5 Bereitstellen einer Blutprobe eines Patienten, Erstellen eines Expressionsprofils von miRNAs aus der Blutprobe, und Vergleich des Expressionsniveaus mindestens einer miRNA, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p,
10 hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils
15 bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, mit einem Referenzniveau, wobei der Vergleich die Diagnose einer Erkrankung mit multipler Sklerose ermöglicht.
 - 20 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der Patient ein Mensch ist.
 3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Patient ein Mensch ist, bei dem CIS diagnostiziert wurde.
 - 25 4. Verfahren nach einem der vorigen Ansprüche, wobei die Erkrankung RRMS ist.
 5. Verfahren nach einem der vorigen Ansprüche, wobei in mindestens 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 oder 13 miRNAs,
30 die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder
35 die eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1

Base abweicht, eine Änderung im Expressionsniveau im Vergleich zu einem Referenzniveau beobachtet wird.

5 6. Verfahren nach einem der vorigen Ansprüche, wobei die miRNA mindestens eine ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d, hsa-miR-194-1, has-miR-194-2, hsa-miR-627, hsa-miR-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-4715, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, hsa-mir-6833, und hsa-mir-6873.

10

7. Verfahren nach einem der vorigen Ansprüche, wobei die Erstellung des Expressionsprofils eine Nukleinsäurehybridisierung, eine Nukleinsäureamplifikation, eine Polymeraseextension, eine Sequenzierung, eine Massenspektrometrie, oder jegliche
15 Kombination davon umfasst.

8. Verfahren nach einem der vorigen Ansprüche, wobei das Referenzniveau aus einer Vielzahl von Proben von Patienten erhalten wird, von denen eine erste Gruppe in einer ersten und
20 zweite Diagnose mit CIS diagnostiziert wurde, eine zweite Gruppe nach einer ersten CIS-Diagnose in einer zweiten Diagnose mit RRMS diagnostiziert wurde, und eine dritte Gruppe in einer ersten und zweiten Diagnose mit RRMS diagnostiziert wurde.

25

9. Verwendung einer miRNA, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-
30 miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht, als diagnostischer Marker für die Diagnose von multipler Sklerose.

35

10. Verwendung nach Anspruch 9, wobei die miRNA mindestens eine ist, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus

hsa-miR-181d, hsa-miR-194-1, hsa-miR-194-2, hsa-miR-627, hsa-miR-148a, hsa-mir-1181, hsa-mir-1273g, hsa-mir-4465, hsa-mir-4699, hsa-mir-4715, hsa-mir-5011, hsa-mir-6778, hsa-mir-6833, und hsa-mir-6873.

5

11. Verwendung nach Anspruch 9 oder 10, wobei die miRNA als diagnostischer Marker für RRMS verwendet wird.

12. Kit zur Diagnose von multipler Sklerose in einer Blutprobe eines Patienten, umfassend:

10 Sonden und/oder Primer zur Detektion mindestens einer miRNA-Sequenz, die eine Sequenz umfasst, die ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus hsa-miR-181d-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-627-5p, hsa-miR-148a-5p, hsa-miR-1181, hsa-miR-1273g-3p, hsa-miR-4465, hsa-miR-4699-3p, hsa-miR-4715-3p, hsa-miR-5011-3p, hsa-miR-6778-3p, hsa-miR-6833-5p, und hsa-miR-6873-5p, und/oder die eine Sequenz umfasst, die von diesen Sequenzen um jeweils bis zu 3 Basen, bevorzugt bis zu 2 Basen, weiter bevorzugt 1 Base abweicht.

20

13. Kit nach Anspruch 12, weiter umfassend Enzyme und/oder Reagenzien zur Durchführung einer RT-PCR.

14. Kit nach Anspruch 12 oder 13, wobei RRMS diagnostiziert wird.

25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/080723

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12Q1/68
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 2 290 102 A1 (ADMINISTRACION GENERAL DE LA COMUNIDAD AUTONOMA DE EUSKADI [ES]) 2 March 2011 (2011-03-02) abstract	1-14
X	JUNKER ANDREAS ET AL: "MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47", BRAIN, OXFORD UNIVERSITY PRESS, OXFORD, GB, vol. 132, no. 12, 1 December 2009 (2009-12-01), pages 3342-3352, XP008125500, ISSN: 0006-8950, DOI: 10.1093/BRAIN/AWP300 [retrieved on 2009-12-01] abstract; figure 2; table 1	1,2,6,7, 9-14

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 27 February 2017	Date of mailing of the international search report 10/03/2017
---	--

Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Barz, Wolfgang
--	--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/080723

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>OTAEGUI D ET AL: "Differential Micro RNA Expression in PBMC from Multiple Sclerosis Patients", PLOS ONE, PUBLIC LIBRARY OF SCIENCE, US, vol. 4, no. 7, 1 July 2009 (2009-07-01), pages e6309-1, XP002558932, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0006309 [retrieved on 2009-07-20] abstract; figures 1, 3-4; table 1</p> <p>-----</p>	1,2,6,7, 9-14
A	<p>WO 2008/153692 A2 (BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL [US]; KRICHEVSKY ANNA [US]; MOLLENHAUER BRIT) 18 December 2008 (2008-12-18) abstract; claims 4, 19 page 4, line 17 - line 22</p> <p>-----</p>	1-14
A	<p>NELSON P T ET AL: "MicroRNAs (miRNAs) in neurodegenerative diseases", BRAIN PATHOLOGY, ZUERICH, CH, vol. 18, no. 1, 1 January 2008 (2008-01-01), pages 130-138, XP002558931, ISSN: 1015-6305, DOI: 10.1111/J.1750-3639.2007.00120.X [retrieved on 2008-01-22] abstract</p> <p>-----</p>	1-14
A	<p>BARTEL DAVID P: "MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function", CELL, CELL PRESS, US, vol. 116, no. 2, 23 January 2004 (2004-01-23), pages 281-297, XP002358495, ISSN: 0092-8674, DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5 abstract</p> <p>-----</p>	1-14
A	<p>JEYASEELAN KANDIAH ET AL: "MicroRNAs as therapeutic targets in human diseases", EXPERT OPINION ON THERAPEUTIC TARGETS, INFORMA HEALTHCARE, UK, vol. 11, no. 8, 1 August 2007 (2007-08-01) , pages 1119-1129, XP009095263, ISSN: 1472-8222, DOI: 10.1517/14728222.11.8.1119 abstract</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2016/080723

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>ANDREAS JUNKER: "Pathophysiology of translational regulation by microRNAs in multiple sclerosis", FEBS LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 585, no. 23, 24 March 2011 (2011-03-24), pages 3738-3746, XP028118463, ISSN: 0014-5793, DOI: 10.1016/J.FEBSLET.2011.03.052 [retrieved on 2011-03-29] abstract; table 1 -----</p>	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2016/080723

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 2290102	A1	02-03-2011	EP 2290102 A1	02-03-2011
			EP 2451970 A1	16-05-2012
			US 2012164653 A1	28-06-2012
			WO 2011003989 A1	13-01-2011

WO 2008153692	A2	18-12-2008	US 2010167948 A1	01-07-2010
			WO 2008153692 A2	18-12-2008

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES INV. C12Q1/68 ADD.		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) C12Q		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 2 290 102 A1 (ADMINISTRACION GENERAL DE LA COMUNIDAD AUTONOMA DE EUSKADI [ES]) 2. März 2011 (2011-03-02) Zusammenfassung -----	1-14
X	JUNKER ANDREAS ET AL: "MicroRNA profiling of multiple sclerosis lesions identifies modulators of the regulatory protein CD47", BRAIN, OXFORD UNIVERSITY PRESS, OXFORD, GB, Bd. 132, Nr. 12, 1. Dezember 2009 (2009-12-01), Seiten 3342-3352, XP008125500, ISSN: 0006-8950, DOI: 10.1093/BRAIN/AWP300 [gefunden am 2009-12-01] Zusammenfassung; Abbildung 2; Tabelle 1 ----- -/--	1,2,6,7, 9-14
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts	
27. Februar 2017	10/03/2017	
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Barz, Wolfgang	

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>OTAEGUI D ET AL: "Differential Micro RNA Expression in PBMC from Multiple Sclerosis Patients", PLOS ONE, PUBLIC LIBRARY OF SCIENCE, US, Bd. 4, Nr. 7, 1. Juli 2009 (2009-07-01), Seiten e6309-1, XP002558932, ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0006309 [gefunden am 2009-07-20] Zusammenfassung; Abbildungen 1, 3-4; Tabelle 1</p>	1,2,6,7, 9-14
A	<p>-----</p> <p>WO 2008/153692 A2 (BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL [US]; KRICHEVSKY ANNA [US]; MOLLENHAUER BRIT) 18. Dezember 2008 (2008-12-18) Zusammenfassung; Ansprüche 4, 19 Seite 4, Zeile 17 - Zeile 22</p>	1-14
A	<p>-----</p> <p>NELSON P T ET AL: "MicroRNAs (miRNAs) in neurodegenerative diseases", BRAIN PATHOLOGY, ZUERICH, CH, Bd. 18, Nr. 1, 1. Januar 2008 (2008-01-01) , Seiten 130-138, XP002558931, ISSN: 1015-6305, DOI: 10.1111/J.1750-3639.2007.00120.X [gefunden am 2008-01-22] Zusammenfassung</p>	1-14
A	<p>-----</p> <p>BARTEL DAVID P: "MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function", CELL, CELL PRESS, US, Bd. 116, Nr. 2, 23. Januar 2004 (2004-01-23), Seiten 281-297, XP002358495, ISSN: 0092-8674, DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5 Zusammenfassung</p>	1-14
A	<p>-----</p> <p>JEYASEELAN KANDIAH ET AL: "MicroRNAs as therapeutic targets in human diseases", EXPERT OPINION ON THERAPEUTIC TARGETS, INFORMA HEALTHCARE, UK, Bd. 11, Nr. 8, 1. August 2007 (2007-08-01) , Seiten 1119-1129, XP009095263, ISSN: 1472-8222, DOI: 10.1517/14728222.11.8.1119 Zusammenfassung</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-14

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>ANDREAS JUNKER: "Pathophysiology of translational regulation by microRNAs in multiple sclerosis", FEBS LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, Bd. 585, Nr. 23, 24. März 2011 (2011-03-24), Seiten 3738-3746, XP028118463, ISSN: 0014-5793, DOI: 10.1016/J.FEBSLET.2011.03.052 [gefunden am 2011-03-29] Zusammenfassung; Tabelle 1 -----</p>	1-14

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2016/080723

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 2290102	A1	EP 2290102 A1	02-03-2011
		EP 2451970 A1	16-05-2012
		US 2012164653 A1	28-06-2012
		WO 2011003989 A1	13-01-2011

WO 2008153692	A2	US 2010167948 A1	01-07-2010
		WO 2008153692 A2	18-12-2008
