

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 986 046**

51 Int. Cl.:

C12N 15/113 (2010.01)

A61K 31/7088 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.03.2017 PCT/US2017/021178**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.09.2017 WO17156015**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2017 E 17712348 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2024 EP 3426781**

54 Título: **MicroARN y métodos de su uso**

30 Prioridad:

07.03.2016 US 201662304844 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
08.11.2024

73 Titular/es:

**THE UNITED STATES OF AMERICA, AS
REPRESENTED BY THE SECRETARY,
DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN
SERVICES (50.0%)
Office of Technology Transfer, National Institutes
of Health, 6701 Rockledge Drive, Suite 700, MSC
7788,
Bethesda, MD 20892-7788, US y
MIRECULE, INC. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**SALEH, ANTHONY, D.;
VAN WAES, CARTER;
CHEN, ZHONG y
CHENG, HUI**

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por la
Oficina Europea de Patentes

ES 2 986 046 T3

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

DESCRIPCIÓN

MicroARN y métodos de su uso

5 Referencia cruzada a solicitud relacionada

Esta reivindica el beneficio de la solicitud provisional de Estados Unidos n.º 62/304.844, presentada el 7 de marzo de 2016.

10 Campo

Esta invención se refiere a composiciones que utilizan microARN para su uso en métodos de tratamiento de un sujeto con cáncer, en donde el cáncer comprende carcinoma escamocelular de cabeza y cuello o carcinoma escamocelular de cuello uterino.

15 Antecedentes

La desregulación de la expresión de microARN (miR) ha surgido como un factor potencialmente importante que contribuye a la expresión aberrante de los ARNm que median los fenotipos malignos complejos de los cánceres (Stahlhut y Slack, *Genome Med.* 5:111, 2013). Está menos claro qué miR corregulan dianas cruciales de ARNm dentro de diversas vías y programas génicos que coordinan el fenotipo maligno. Dado que un solo miR puede abordar simultáneamente múltiples ARNm, las opciones terapéuticas basadas en miR pueden ayudar a mitigar la resistencia intrínseca o adquirida observada usando tratamientos micromoleculares o biológicos más selectivos dirigidas a un solo oncogén o vía en cáncer.

25 La solicitud de patente de Estados Unidos US2015313932 parece describir composiciones y métodos para tratar neoplasias malignas hemáticas en un sujeto aumentando los niveles o la actividad del ARN miR-30 en las células plasmáticas del sujeto.

30 JIAN-JUN ZHAO ET AL., "miR-30-5p Functions as a Tumor Suppressor and Novel Therapeutic Tool by Targeting the Oncogenic Wnt/[beta]-Catenin/BCL9 Pathway" *CANCER RESEARCH*, US, (2014), vol. 74, n.º 6, páginas 1801 - 1813 parece describir la administración de miR-30-5p como una estrategia terapéutica eficaz para erradicar células de mieloma múltiple *in vivo*.

35 N ZHANG ET AL., "MicroRNA-30a suppresses breast tumor growth and metastasis by targeting metadherin", *ONCOGENE*, (2013), vol. 33, n.º 24, páginas 3119 - 3128 parece describir que miR-30a inhibe la proliferación y metástasis de cáncer de mama abordando directamente MTDH, y que miR-30a puede servir como marcador pronóstico para cáncer de mama.

40 XIAO-HUI LING ET AL., "MicroRNA-30c serves as an independent biochemical recurrence predictor and potential tumor suppressor for prostate cancer", *MOLECULAR BIOLOGY REPORTS*, NL, (2014), vol. 41, n.º 5, páginas 2779 - 2788 parece describir miR-30c como supresor tumoral para células PCa inhibiendo la proliferación, migración e invasión de células tumorales.

45 C-J KAO ET AL., "miR-30 as a tumor suppressor connects EGF/Src signal to ERG and EMT", *ONCOGENE*, (2013), vol. 33, n.º 19, páginas 2495 - 2503 parece describir el mecanismo postranscripcional de la regulación de TMPRSS2-ERG por Src y las señales de crecimiento mediante miR-30 proporcionando un fundamento para abordar tumores resistentes a extirpación ERG-positivos con inhibidores de Src.

50 BARANISKIN ET AL., "MiR-30a-5p suppresses tumor growth in colon carcinoma by targeting DTL", *CARCINOGENESIS*, GB, (2012), vol. 33, n.º 4, páginas 732 - 739 parece describir que miR-30a-5p es un miARN supresor tumoral en células de cáncer de colon que ejerce su función mediante la modulación de la expresión de DTL, que está frecuentemente sobreexpresado en cáncer colorrectal.

55 QIAN ZHANG ET AL., "Role of MicroRNA 30a Targeting Insulin Receptor Substrate 2 in Colorectal Tumorigenesis", *MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY*, US, (2015), vol. 35, n.º 6, páginas 988 - 1000 parece describir que miR-30a suprime el crecimiento de células de cáncer de colon a través de la inhibición de IRS2.

60 MASAYUKI KANO ET AL., "miR-145, miR-133a and miR-133b: Tumor-suppressive miRNAs target FSCN1 in esophageal squamous cell carcinoma", *INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER*, (2010), vol. 127, n.º 12, páginas 2804 - 2814, parece describir que los miARN supresores tumorales; miR-145, miR-133a y miR-133b, controlan directamente el gen oncógeno FSCN1.

65 MAAROUF A SAAD ET AL., "Alcohol-dysregulated miR-30a and miR-934 in head and neck squamous cell carcinoma", *MOLECULAR CANCER, BIOMED CENTRAL*, LONDON, GB, (2015), vol. 14, n.º 1, página 181

parece describir miR-30a y miR-934 desregulados inducidos por alcohol en carcinoma escamocelular de cabeza y cuello.

Compendio

5

En esta memoria se describen miARN que tienen una expresión aumentada o disminuida en cánceres. Los miARN descritos o imitadores y/o miméticos de los mismos pueden utilizarse en métodos de tratamiento y/o diagnóstico de un sujeto con cáncer (tal como un tumor maligno).

- 10 La invención se define en las reivindicaciones. La invención proporciona una composición para su uso en un método de tratamiento de un sujeto con cáncer, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un ácido nucleico microARN (miARN) aislado que comprende un ácido nucleico miR-30-5p, o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p, en donde el ácido nucleico imitador o mimético comprende uno o más ácidos nucleicos modificados, una modificación del extremo 5' y/o una modificación del extremo 3', en donde el ácido
- 15 nucleico imitador o mimético comprende uno o más nucleótidos 2'-O-metil-, 2'-metoxietoxi-, 2'-dimetilaminooxietoxi-, 2'-aminopropoxi- y 2'-fluoro-modificados, y/o en donde el ácido nucleico imitador o mimético comprende una modificación 5'-amino C3, una modificación 5'-amino C6 o una modificación 5'-amino C12, o un vector de expresión que comprende el ácido nucleico miR-30-5p o el ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p, tratando de ese modo al sujeto con cáncer, en donde el cáncer comprende carcinoma escamocelular de cabeza y cuello o carcinoma escamocelular de cuello uterino.
- 20

Opcionalmente, el ácido nucleico miR-30-5p y/o imitador o mimético del mismo disminuye la expresión de uno o más ARNm enumerados en las tablas 6 a 9.

- 25 Opcionalmente, el ácido nucleico miR-30-5p es un ácido nucleico miR-30a-5p, un ácido nucleico miR-30b-5p, un ácido nucleico miR-30c-5p, un ácido nucleico miR-30d-5p, un ácido nucleico miR-30e-5p o un imitador o mimético de los mismos.

- 30 Opcionalmente, el ácido nucleico miR-30-5p y/o imitador o mimético del mismo comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 1-5, 37-53, 73-91, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 41 y 55, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 42 y 56, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 42 y 57, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 50 y 61, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 73 y 61, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 74 y 61 o una estructura bicatenaria de una hebra guía y una hebra pasajera seleccionada de SEQ ID NO: 37-61 y 73-92.
- 35

- Opcionalmente, el uso en el método comprende además administrar al sujeto una cantidad eficaz de un ácido nucleico microARN (miARN) aislado que comprende un ácido nucleico miR-26a-5p, un ácido nucleico miR-26b-5p, un ácido nucleico miR-145-5p, un ácido nucleico miR-338-3p, un ácido nucleico miR-205-5p, un ácido nucleico miR-375, un ácido nucleico miR-29, un ácido nucleico miR-27, un ácido nucleico miR-101, un imitador o mimético de cualquiera de los mismos, o una combinación de dos o más de los mismos.
- 40

- Opcionalmente, el ácido nucleico miR-26a-5p comprende SEQ ID NO: 12, el ácido nucleico miR-26b-5p comprende SEQ ID NO: 15, el ácido nucleico miR-145-5p comprende SEQ ID NO: 18, el ácido nucleico miR-338-3p comprende SEQ ID NO: 21, el ácido nucleico miR-375 comprende SEQ ID NO: 17, o un imitador y/o mimético de los mismos.
- 45

- Opcionalmente, el uso en el método comprende administrar una cantidad eficaz del ácido nucleico miR-30-5p, el ácido nucleico miR-26a-5p, el ácido nucleico miR-145-5p y el ácido nucleico miR-375 o un imitador o mimético de los mismos.
- 50

- Opcionalmente, el uno o más ácidos nucleicos miARN aislados se administran en una composición liposómica; preferiblemente, el liposoma comprende además una o más moléculas que dirigen el liposoma al cáncer. Opcionalmente, la molécula diana comprende un anticuerpo antirreceptor de transferrina o un fragmento del mismo. Opcionalmente, el uso en el método comprende además administrar uno o más tratamientos adicionales; preferiblemente en donde el uno o más tratamientos adicionales comprenden cirugía, radioterapia y quimioterapia.
- 55

Opcionalmente, la cantidad eficaz es de 100 µg/kg a 10 mg/kg en un sujeto con cáncer.

- 60 Los rasgos característicos anteriores y otros de la descripción se harán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, que se desarrolla con referencia a las figuras adjuntas.

Breve descripción de los dibujos

- 65 La figura 1 es un diagrama que muestra métodos ejemplares para la detección y validación de la expresión y función de miR-30 en HNSCC.

Las figuras 2A y 2B son un par de gráficos que muestran 33 miARN que se identificaron como expresados diferencialmente por SAMseq en cohortes de tumores HNSCC tanto TCGA (figura 2A) como USMC (figura 2B) en comparación con controles de mucosa. Para cada uno, izquierda: factor de cambio en mediana de la expresión entre tumor y mucosa, presentado mediante escala lineal. Derecha: diagrama de caja y bigotes de la distribución de medianas de la expresión de mucosa y tumor como log₁₀ RPM. Las medianas se representan por líneas negras gruesas en el centro, las barras representan los percentiles 25 y 75 y los valores atípicos se presentan como puntos individuales. FDR ≤ 0,05.

Las figuras 2C y 2D son un par de gráficos que muestran una expresión disminuida de nueve miARN en cohortes de HNSCC TCGA (figura 2C) y USMC (figura 2D). A la izquierda de cada gráfico se presenta el factor de cambio de la mediana de la expresión entre el tumor y los controles de mucosa. Los diagramas de caja y bigotes de la distribución de medianas de la expresión de mucosa y tumor se presentan a la derecha de cada gráfico como log₁₀RPM (lecturas por millón de pares de bases). Las medianas se representan por líneas negras gruesas en el centro, las barras representan los percentiles 25 y 75, los valores atípicos se presentan como puntos individuales.

Las figuras 3A-3D son una serie de gráficos que muestran el efecto de los miARN con expresión disminuida sobre la proliferación de HNSCC. Los microARN presentaron actividad antiproliferativa en un cribado de iARN de todo el genoma *in vitro* en la línea celular HNSCC UM-SCC-1. Los diagramas de dispersión presentan microARN expresados diferencialmente (log₂ de tumor frente a mucosa en el eje x) frente a la distribución estadística para la puntuación de proliferación (desviación absoluta de la mediana (MAD)) usando datos de expresión de TCGA (figura 3A) y USMC (figura 3B). El cuadro en la parte inferior izquierda del diagrama indica las proporciones de expresión de microARN (eje x) que se reprimen con actividad antiproliferativa en el cribado de iARN (eje y). Los miembros de la familia de miR-30-5p están marcados en rojo. La figura 3C es un gráfico que muestra la antiproliferación de imitadores de miARN 96 horas después de la transfección en UM-SCC-1, presentada como el porcentaje de control del imitador de miARN. La figura 3D muestra la expresión de miembros de la familia de hsa-miR-30-5p en muestras de mucosa y tumor de la cohorte TCGA. Las barras representan la SEM y * indica ($q < 0,2$ herramientas samseq). miR-30a-5p y miR-30e-5p son los miembros de la familia con mayor expresión en muestras de mucosa y presentan la mayor reducción en muestras de tumor.

La figura 4 es una serie de paneles que muestran la expresión de miR-30a-5p (RPM lógicas, eje y) frente a la expresión de ARNm (log₁₀ RSEM (RNA-Seq por maximización de expectativas), eje x) del conjunto de datos de HNSCC TCGA, y filtrados para ARNm que contienen sitios de unión de miR-30 previstos. Se presentan diagramas de dispersión de regresión lineal para los ARNm indicados con valores de p.

La figura 5 es un par de gráficos que muestran la medición por qRT-PCR de genes diana de miR-30 seleccionados en células UM-SCC-46 transfectadas con control negativo de miR (neg Con), miR-30a u oligonucleótido de control anti-miR-30a durante 72 h. Todos los datos representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error representan SEM. * valor de p < 0,05 según la prueba de la t de Student.

Las figuras 6A-6E son una serie de paneles que muestran la validación de dianas previstas de miR-30a en líneas celulares HNSCC. La figura 6A muestra el emparejamiento de bases de miR-30a (SEQ ID NO: 1) con la UTR 3' de los ARNm diana EGFR (SEQ ID NO: 68), IGFIR (SEQ ID NO: 69), MET (SEQ ID NO: 70) e IRS-1 (SEQ ID NO: 71), previsto por Mfold (disponible en la World Wide Web en unafold.rna.albany.edu/?q=mfold). Las bases en rojo representan la unión de la secuencia inicial. Las bases subrayadas en el ARNm se eliminaron en los indicadores de control UTR 3' mutantes. La figura 6B muestra la actividad luciferasa relativa medida 48 horas después de la cotransfección de células UM-SCC-46 con miR30a o anti-30a y un vector que contiene UTR 3' natural (izquierda) o UTR 3' mutante (derecha) clonada detrás de un gen de luciferasa de *Renilla*. También se presenta un vector de control positivo (Pos Con) que contiene 5x sitios de unión de miR-30 y un control negativo de UTR 3' de GAPDH. Todos los datos representan la media de tres experimentos independientes y las barras de error representan SEM. (*) Indica el valor de p < 0,05 según la prueba de la t de Student. Las figuras 6C y 6D son imágenes de inmunoelectrotransferencias que muestran la expresión de dianas de miR-30 (figura 6C) y la fosforilación de moléculas de señalización posteriores (figura 6D) usando lisados de células completas de queratinocitos bucales humanos (HOK) o células UM-SCC-46 72 horas después de la transfección con oligonucleótidos miR-30a, anti-30a o miR de control negativo (NC). La figura 6E es un gráfico que muestra los niveles de proteína de las dianas de miR-30-5p analizadas a partir de experimentos por triplicado.

Las figuras 7A-7I son una serie de paneles que muestran el efecto de un imitador de miR-30a sobre la proliferación celular de HNSCC, la formación de colonias, la sensibilidad a cisplatino y la viabilidad celular. La figura 7A es un gráfico que muestra la proliferación medida por ensayo XTT en 6 réplicas el día 5 después de la transfección con control (NC) o imitador de miR-30a en queratinocitos bucales humanos (HOK) primarios y diez líneas celulares HNSCC. La figura 7B es un gráfico que muestra el nivel basal de expresión de miR-30a medido mediante qRT-PCR en células HOK y diez líneas celulares HNSCC cuando se encuentran en fase de

crecimiento logarítmico. El nivel de expresión relativo de miR-30a se normalizó con respecto a la expresión media de las líneas celulares.

La figura 7C es un gráfico que muestra el ensayo de formación de colonias de células UM-SCC-46 después de 48 h de transfección con oligonucleótidos miR-30a o anti-miR30a. Se contaron las colonias en tres pocillos y se repitieron en tres experimentos independientes. La figura 7D es un gráfico que muestra células UM-SCC-46 transfectadas con imitador de miR-30a-5p durante 48 horas, y tratadas con cisplatino 2 μ M durante 3 h y luego lavadas. La densidad celular se midió mediante ensayo XTT 72 h después del tratamiento con cisplatino. La media de al menos tres experimentos \pm SEM, * indica $p < 0,05$ según la prueba de la t de Student.

La figura 7E es un gráfico de formación de colonias de células UM-SCC-46 después de 48 horas de transfección con oligonucleótidos miR30a y anti-miR-30a. Se contaron las colonias en tres pocillos y se repitieron en tres experimentos independientes. La figura 7F es un gráfico que muestra la densidad celular de células UM-SCC-46 transfectadas con imitador de miR-30a durante 48 horas y tratadas con cisplatino 2 μ M durante tres horas y luego enjuagadas. La densidad celular se midió mediante ensayo XTT 72 horas después del tratamiento con cisplatino. Todos los datos representan la media de al menos tres experimentos y las barras de error representan SEM. La figura 7G es un gráfico que muestra la viabilidad celular de células UM-SCC-46 transfectadas con control (Neg con), miR-30a o estructura bicatenaria anti-miR-30a. * valor de $p < 0,05$ según la prueba de la t de Student.

La figura 7H es una imagen digital que muestra imágenes representativas de ensayos de formación de colonias con transfecciones de control, de miR-30a-5p o de anti-30a. La figura 7I es un par de gráficos que muestran la proliferación en células UM-SCC-46 mediante un ensayo XTT en 6 réplicas en los días 0, 1, 3 y 5 después de la transfección con control, miR-30a-5p o su anti-miR, o en combinación con tratamiento con cisplatino a dosis de CI50.

Las figuras 8A-8D son una serie de paneles que muestran el efecto de miR-30a sobre la motilidad y capacidad de invasión de células HNSCC. Las células UM-SCC-1 (izquierda) y UM-SCC-6 (derecha) se transfectaron con oligonucleótidos miR-30a o anti-miR durante 48 horas antes de la creación de herida. Se siguió la migración celular hasta el cierre de la herida en los controles. Se presentan imágenes representativas de microscopia óptica (100x) para la cicatrización de heridas (figura 8A). UM-SCC-1, izquierda, tiempo 0; derecha, tiempo 20 h. UM-SCC-6, izquierda, tiempo 0; derecha, tiempo 60 h. Se cuantificó la migración celular a lo largo del tiempo (figura 8B). La figura 8C son imágenes de microscopia óptica representativas de membranas de invasión (100x) para UM-SCC-1. La figura 8D es un gráfico de cuantificación relativa de células invasoras para UM-SCC-1 (izquierda) y UM-SCC-46 (derecha). Todos los datos representan la media de al menos tres experimentos y las barras de error representan SEM. (*) Indica el valor de $p < 0,05$ según la prueba de la t de Student.

Las figuras 9A-9E son una serie de paneles que muestran el efecto del imitador de miR-30a-5p sobre tumores de xenoinjerto HNSCC *in vivo*. La figura 9A es una serie de imágenes de tumores y órganos de ratones hembra nu/nu atímicos a los que se les inyectó por vía intramuscular células UM-SCC-46. Los tumores se cultivaron hasta ~ 300 mm³, luego a los ratones se les inyectó por vía intravenosa (IV) 100 μ g (-5 mg/kg) de oligonucleótido de control marcado con FITC en complejo o vehículo de control. A las 24 horas después de la inyección, los ratones se sacrificaron para la extracción de tumores y órganos. La figura 9B es un gráfico del crecimiento tumoral en ratones portadores de tumores de xenoinjerto UM-SCC-46 de ~ 150 mm³ a los que se les inyectó IV nueve dosis de 60 μ g (-3 mg/kg) de imitador de miR-30a en complejo empaquetado en nanopartículas (miR-30a-scL) o control los lunes, miércoles y viernes (MWF) durante 3 semanas. El gráfico presenta el volumen tumoral medio para cada grupo y las barras de error representan SEM. En la figura 9C se muestran imágenes representativas del tamaño del tumor al final del tratamiento el día 24 para un ratón control y uno tratado con miR-30a-scL (parte superior) y el peso del ratón durante el tratamiento (parte inferior). La figura 9D muestra el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier entre ratones tratados con control o miR-30a-scL. La figura 9E muestra el volumen tumoral medio en ratones con tumores de xenoinjerto UM-SCC-47 HPV+ que crecieron hasta ~ 150 mm³ y a los que se les inyectó IV cuatro dosis de 60 μ g de miR-30a-scL o control en pauta MWF. A las 24 horas después del último tratamiento, los ratones se sacrificaron y se recogió tejido tumoral para análisis molecular. Las barras de error representan SEM y (*) indica el valor de $p < 0,05$ según la prueba de la t de Student.

La figura 10A es un gráfico que muestra la PCR cuantitativa instantánea de ARNm diana de miR-30a-5p en ratones a los que se les implantaron tumores de xenoinjerto UM-SCC-46 y se les inyectó i.v. cuatro dosis de 60 μ g de miR-ScL de control o miR-30a-ScL en pauta MWF. Los datos representan la media de 3 animales, las barras de error representan SEM y (*) indica el valor $p < 0,05$ según la prueba de la t de Student.

La figura 10B es una serie de imágenes digitales que muestran tinción inmunofluorescente de EGFR y MET en secciones congeladas extraídas de tumores de xenoinjerto después de tratamiento con miR-scL de control o miR-30a-scL. Barras de escala, 20 μ m. La figura 10C es un par de gráficos que muestran la intensidad media de la fluorescencia cuantificada a partir de seis campos 40x independientes en células UM-SCC-46 (izquierda) y UM-SCC-47 (derecha). Las barras de error representan \pm SEM, (*) indica $p < 0,05$ según la prueba de la t de

Student.

La figura 10D es un diagrama de vía que conecta las moléculas diana de miR30 con las interacciones y funciones presentadas en relación con la proliferación y migración mediante Ingenuity Pathway Analysis. Las moléculas mostradas en rojo son genes diana de miR-30a-5p con relación inversa a la expresión de miR-30a. Las moléculas mostradas en azul son aquellas que presentan interacciones de unión o señalización que conectan con las moléculas en rojo.

La figura 10E son imágenes digitales representativas y la cuantificación de tumores de xenoinjerto UM-SCC-46 teñidos para Ki-67 mediante inmunohistoquímica. Los valores representan la intensidad media cuantificada a partir de seis campos 20x independientes y las barras de error representan \pm SEM, (*) indica $p < 0,05$ según la prueba de la t de Student. La figura 10F muestra imágenes representativas de tumores de xenoinjerto UM-SCC-47 teñidos mediante inmunofluorescencia para los genes diana de miR-30 EGFR o MET.

Las figuras 11A-11F son una serie de paneles que muestran la asociación de la variación del número de copias (CNV), la metilación y la expresión de miembros de la familia de miR-30 con características clínicas de HNSCC. Las figuras 11A y 11B son diagramas de Interactive Genome Viewer (IGV, Broad Institute) que presentan la frecuencia de eliminaciones homocigóticas y heterocigóticas en ubicaciones cromosómicas que solapan con los genes MIR30A/C2 (figura 11A) y MIR30E/C1 (figura 11B). El azul representa un número de copias reducido y el rojo representa un número de copias aumentado. Las muestras están ordenadas según los valores de CNV. Las figuras 11C y 11D muestran muestras de HNSCC de TCGA ($n = 260$) presentadas en columnas y clasificadas por metilación del ADN del promotor de miR30A (figura 11C) o CNV o miR30E (figura 11D). Los rasgos característicos clínicos (barras de colores, cuatro filas superiores) y las características genéticas (gráficos cromáticos, tres filas inferiores) se clasifican en consecuencia. Se observó una correlación significativa entre CNV y la expresión de miR-30e-5p (figura 11E) y la metilación y baja expresión de miR-30a-5p (figura 11F). La baja expresión de miR-30a-5p se correlacionó significativamente con tumores que se producen en la cavidad bucal, y la baja expresión de miR-30e-5p se correlacionó significativamente con tumores VPH negativos que se producen en la laringe.

Las figuras 11G y 11H son un par de gráficos que muestran el análisis de supervivencia para miR-30a-5p (figura 11G) y miR-30e-5p (figura 11H) segregados en alta y baja por la mediana de la expresión. Diagramas de Kaplan-Meier y valores de p de prueba del orden logarítmico que comparan la supervivencia específica de enfermedad.

Las figuras 12A y 12B son una serie de diagramas de supervivencia de Kaplan-Meier que muestran una menor expresión de miR-30e correlacionada con una menor supervivencia global (figura 12A, izquierda), pérdida de CNV de los locus MIR30E correlacionada con una menor supervivencia global (figura 12A, centro) y el análisis de supervivencia para tumores que expresan niveles bajos o altos de miR-30e-5p que se producen en la orofaringe reveló una diferencia de supervivencia, por lo que la alta expresión de miR-30e-5p predijo un mejor pronóstico (figura 12A, derecha) y una menor expresión de miR-26a-5p (figura 12B, parte superior) y miR-26b-5p (figura 12B, parte inferior) se correlacionaron con una supervivencia global más baja.

La figura 13 es un gráfico que muestra la viabilidad celular de líneas celulares cancerosas que no son HNSCC transfectadas con miR-30a, medida mediante ensayo XTT. Los datos representan la media de 6 réplicas y las barras de error representan SEM. *, $p < 0,05$.

Las figuras 14A-14B son una serie de paneles que muestran el efecto de un oligonucleótido miR-30a modificado en un modelo de xenoinjerto UMSCC-46. La figura 14A muestra el crecimiento tumoral en ratones control, ratones tratados con radioterapia (RT), ratones tratados con miR-30a-scl y ratones tratados con miR-30a-006-scl y radioterapia (M006-scl + RT). La figura 14B es un diagrama de supervivencia de Kaplan-Meier en ratones de control, tratados con radioterapia (RT), M-miR-006 (M-006), M-006 más radioterapia y tratados con cisplatino.

La figura 15 es un gráfico que muestra el efecto de una politerapia con miR sobre la densidad celular de las líneas celulares indicadas. Las células se transfectaron con una combinación de miR-30a-014 (hebras G11 + P12), miR-145, miR-26a y miR-375. Los datos representan la media de 6 réplicas y las barras de error representan SD.

Las figuras 16A-16D son gráficos que muestran el efecto de miARN individuales o pares de miARN sobre la densidad celular de células UM-SCC108 (figura 16A), células UM-SCC-22B (figura 16B), células UM-SCC-47 (figura 16C) y células UM-SCC-1G (figura 16D). NT, no transfectadas; NC, control negativo; 145, miR-145-5p; 375, miR-375; m16, M-miR30a-016; 26a, miR-26a-5p; 30a, miR-30a-5p.

Las figuras 17A y 17B son gráficos que muestran la viabilidad celular en células UM-SCC-1 (figura 17A) o UM-SCC-46 (figura 17B) transfectadas con estructuras bicatenarias de miR-27-5p o miR-26b-1-5p. Los datos representan la media de seis réplicas. Las barras de error representan SEM. * $p < 0,05$ mediante la prueba de

la t de Student.

La figura 18 es una serie de imágenes digitales que muestran la estabilidad de miR-30a e imitadores modificados (M-006, M-018 y M-019) en suero en el transcurso de 48 horas.

La figura 19 es un gráfico que muestra el efecto de los pares de miARN sobre la densidad celular de células UM-SCC-46. NT, no transfectadas; NC, control negativo; los pares de miARN son como se muestran en las tablas 19 y 22. Las barras de error representan SD.

Listado de secuencias

Cualquier secuencia de ácido nucleico y aminoácidos enumerada en esta memoria o en el listado de secuencias adjunto se muestran usando abreviaturas de letras convencionales para bases nucleotídicas y aminoácidos, como se define en 37 CFR § 1.822. En al menos algunos casos, se muestra solamente una hebra de cada secuencia de ácido nucleico, pero se entiende que la hebra complementaria está incluida por cualquier referencia a la hebra presentada.

SEQ ID NO: 1-36 son las secuencias de nucleótidos de miARN maduros ejemplares.

SEQ ID NO: 37-53 son secuencias de nucleótidos de la hebra guía de miR-30a modificadas.

SEQ ID NO: 54-61 son secuencias de nucleótidos de la hebra pasajera de miR-30a modificadas.

SEQ ID NO: 62 y 63 son hebras guía y pasajera de miR-375 modificadas, respectivamente.

SEQ ID NO: 64 y 65 son hebras guía y pasajera de miR-26a-5p modificadas, respectivamente.

SEQ ID NO: 66 y 67 son hembras guía y pasajera de miR-145-5p modificadas, respectivamente.

SEQ ID NO: 68 es una secuencia de nucleótidos de la región no traducida (UTR) 3' del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).

SEQ ID NO: 69 es una secuencia de nucleótidos de UTR 3' del receptor del factor crecimiento insulínico 1 (IGFR1).

SEQ ID NO: 70 es una secuencia de nucleótidos de UTR 3' de MET.

SEQ ID NO: 71 es una secuencia de nucleótidos de UTR 3' del sustrato 1 del receptor de insulina (IRS-1).

SEQ ID NO: 72 es una secuencia de nucleótidos de la hebra pasajera de miR-30a ejemplar.

SEQ ID NO: 73-92 son hebras guía y pasajeras adicionales de miR-30a modificadas ejemplares.

SEQ ID NO: 93-104 son hebras guía y pasajeras adicionales de miR-375 modificadas ejemplares.

SEQ ID NO: 105-115 son hebras guía y pasajeras adicionales de miR-26 modificadas ejemplares.

SEQ ID NO: 116-125 son hebras guía y pasajeras adicionales de miR-145-5p modificadas ejemplares.

SEQ ID NO: 126-135 son hebras guía y pasajeras adicionales de miR-101 modificadas ejemplares.

SEQ ID NO: 136-146 son hebras guía y pasajeras adicionales de miR-29 modificadas ejemplares.

SEQ ID NO: 147-158 son hebras guía y pasajeras adicionales de miR-27 modificadas ejemplares.

Descripción detallada

Los estudios de perfiles de expresión de todo el genoma han demostrado una amplia desregulación y heterogeneidad en la expresión de ARNm y miR en tumores primarios y líneas celulares. Esto subraya la complejidad y la dificultad de identificar miR y ARNm de importancia crucial en el fenotipo maligno y la resistencia terapéutica, entre cientos de candidatos. Sin embargo, hasta la reciente publicación de los análisis de cáncer de cabeza y cuello y general de The Cancer Genome Atlas (TCGA) (Cancer Genome Atlas Network Nature 517:576-582, 2015; Hoadley *et al.*, Cell 158:929-944, 2014), no han estado disponibles datos completos de múltiples plataformas a partir de un conjunto de datos tan grande para comparar e identificar los miR más significativamente alterados, los ARNm expresados inversamente y la contribución de las alteraciones genómicas que impulsan su expresión.

Como alternativa, los cribados funcionales que emplean colecciones de miR han identificado miR que contribuyen a diferentes rasgos característicos del fenotipo maligno en HNSCC (Lindenbergh-van der Plas *et al.*, Clin. Cancer Res. 19:5647-5657, 2013). Sin embargo, la priorización ha sido difícil y muchos miR candidatos identificados mediante perfiles de expresión de tumores o cribados *in vitro* a menudo no se traducen en actividad terapéutica *in vivo*. Hasta ahora, se han identificado pocos miR supresores tumorales impulsados por alteraciones genéticas y epigenéticas mediante análisis genómicos y funcionales integrados. Se ha demostrado que incluso menos miR regulan diversos programas de ARNm y están implicados en el fenotipo maligno, los rasgos característicos clínicos o la resistencia terapéutica de HNSCC.

En esta memoria se describen miR que se pueden utilizar para tratar o inhibir el cáncer (por ejemplo, cáncer donde la expresión de uno o más miARN está alterada) y/o para el diagnóstico de cáncer en un sujeto. Los miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada y su uso en el tratamiento de cánceres distintos de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello o carcinoma escamocelular de cuello uterino no forma parte de la invención reivindicada. Para identificar miR de posible importancia reguladora, biológica y/o terapéutica en cáncer, los autores de la invención emplearon una estrategia integrada que combinaba análisis genómicos estructurales y funcionales. Los autores de la invención compararon el análisis de la expresión de miR y ARNm inversamente correlacionados de TCGA y un conjunto de datos de validación de tumores HNSCC, con el cribado funcional de miR antiproliferativos *in vitro*. La integración de datos de TCGA de 279 muestras de tumores HNSCC y el cribado funcional de una colección de 781 miR descubrió nueve miR subexpresados e inhibidores, de los que cuatro eran miembros de la familia de miR-30-5p. En particular, los autores de la invención determinaron que la expresión disminuida de miR-30a está inversamente relacionada con la sobreexpresión de un programa de receptor del factor de crecimiento, señalización y ARNm metastásicos implicados en la biología y los rasgos característicos clínicos de HNSCC. Como se describe en esta memoria, la función de miR-30-5p en la supresión tumoral se confirmó en la regulación de varios oncogenes clásicos centrados en tirosina cinasas receptoras del factor de crecimiento, señalización y metástasis. Finalmente, en esta memoria se describen formulaciones de imitadores de miR-30a-5p sintéticos que pueden retardar el crecimiento tumoral cuando se administran en modelos de tumor de xenoinjerto de HNSCC.

I. Abreviaturas

CNV	variación del número de copias
HNSCC	carcinoma escamocelular de cabeza y cuello
miARN o miR	microARN
RPM	lecturas por millón de pares de bases
RSEM	RNA-Seq por maximización de expectativas
SCC	carcinoma escamocelular
TCGA	The Cancer Genome Atlas
XTT	Hidrato de ácido 3'-[1-(fenilaminocarbonil)-3,4-tetrazolio]-bis (4-metoxi-6-nitro)bencenosulfónico de sodio

II Términos

A menos que se indique lo contrario, los términos técnicos se usan según el uso convencional. Las definiciones de términos comunes en biología molecular se pueden encontrar en Benjamin Lewin, Genes VII, publicado por Oxford University Press, 2000 (ISBN 019879276X); Kendrew *et al.* (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, publicado por Blackwell Publishers, 1994 (ISBN 0632021829); y Robert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, publicado por Wiley, John & Sons, Inc., 1995 (ISBN 0471186341); y otras referencias similares.

Como se usan en esta memoria, los términos singulares "un/o", "una" y "el/la" incluyen referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. De manera similar, la palabra "o" pretende incluir "y" a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Además, como se usa en esta memoria, el término "comprende" significa "incluye". Por tanto, "que comprende A o B" significa que incluye A, B, o A y B. Además se entiende que todos los tamaños de bases o tamaños de aminoácidos, y todos los valores de peso molecular o masa molecular, dados para ácidos nucleicos o polipéptidos, son aproximados y se proporcionan para su descripción. Aunque se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en esta

memoria en la práctica o ensayo de la presente invención, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. En caso de contradicción, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las explicaciones de los términos. Los materiales, métodos y ejemplos son únicamente ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

5

Para facilitar la revisión de las diversas realizaciones de esta descripción, se proporcionan las siguientes explicaciones de términos específicos:

10

Expresión alterada: Una alteración en la expresión de un ácido nucleico miR se refiere a un cambio o diferencia, tal como un aumento o disminución, en el nivel del ácido nucleico miR que es detectable en una muestra biológica, por ejemplo, con respecto a un control. Una "alteración" en la expresión incluye un aumento de la expresión (regulación por aumento) o una disminución de la expresión (regulación por disminución). En algunos ejemplos, la diferencia es con respecto a un valor de control o de referencia, tal como una cantidad de expresión de microARN en una muestra de un sujeto de control sano o una población de sujetos de control sanos.

15

20

Cáncer: Una neoplasia maligna (por ejemplo, un tumor) que ha sufrido anaplasia característica con pérdida de diferenciación, tasa de crecimiento aumentada, invasión del tejido circundante y puede producir metástasis. El cáncer metastásico es un cáncer en uno o más sitios del cuerpo distintos del sitio de origen del cáncer original (primario) del que deriva el cáncer metastásico. En algunos ejemplos, el cáncer es una afección en la que la expresión de uno o más miARN está alterada (por ejemplo, aumentada o disminuida) en la neoplasia, en comparación con tejido normal o sano del mismo tipo de tejido. Cánceres ejemplares incluyen, pero no se limitan a, carcinomas escamocelulares (tales como HNSCC). El uso en el tratamiento de cánceres distintos de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello o carcinoma escamocelular de cuello uterino no forma parte de la invención reivindicada.

25

30

Control: Un "control" se refiere a una muestra o patrón usado para comparar con una muestra de prueba, tal como una muestra obtenida de un sujeto sano (o una población de sujetos sanos). En algunas realizaciones, el control es una muestra obtenida de un sujeto sano (o una población de sujetos sanos) o tejido no maligno del mismo sujeto y del mismo tipo histológico que el cáncer (también denominado en esta memoria control "normal"). En algunas realizaciones, el control es un valor histórico de control o convencionales (por ejemplo, una muestra de control previamente analizada o un grupo de muestras que representan valores iniciales o normales, tales como valores iniciales o normales en un sujeto sano). En algunos ejemplos, el control es un valor convencional que representa el valor promedio (o intervalo promedio de valores) obtenido de una pluralidad de muestras (tal como un valor promedio o intervalo de valores de expresión de uno o más ácidos nucleicos miR de sujetos normales).

35

40

Cantidad eficaz: Una cantidad de un agente (tal como uno o más miARN) que es suficiente para producir una respuesta deseada, tal como reducir o inhibir uno o más signos o síntomas asociados con una afección o enfermedad. En algunos ejemplos, una "cantidad eficaz" es una cantidad que trata o inhibe uno o más signos o síntomas de un tumor. En algunos ejemplos, una "cantidad eficaz" es una cantidad terapéuticamente eficaz en la que el agente solo o con uno o más tratamientos adicionales, induce la respuesta deseada, tal como una disminución en el tamaño de un tumor en un sujeto, del número de tumores en un sujeto, el tamaño o número de metástasis tumorales en un sujeto, y/o un aumento en la supervivencia de un sujeto (tal como supervivencia sin enfermedad, supervivencia sin metástasis o supervivencia general).

45

50

Aislado: Un componente biológico "aislado" (tal como una molécula de ácido nucleico, proteína o célula) se ha separado o purificado sustancialmente de otros componentes biológicos (por ejemplo, en la célula o tejido de un organismo, o en el propio organismo, en el que el componente se encuentra de forma natural, tal como otros ADN y ARN cromosómicos y extracromosómicos, proteínas y células). Las moléculas de ácido nucleico y las proteínas que se han "aislado" incluyen aquellas purificadas mediante métodos de purificación convencionales. El término también abarca moléculas de ácido nucleico (incluyendo microARN) y proteínas preparadas mediante expresión recombinante en una célula hospedadora, así como moléculas de ácido nucleico y proteínas sintetizadas químicamente.

55

60

microARN (miARN): Pequeñas moléculas de ARN no codificantes, monocatenarias, que regulan la expresión génica. Los miARN en general tienen aproximadamente 16-27 nucleótidos de longitud. Los miARN típicamente modulan la expresión génica (por ejemplo, aumentan o disminuyen la traducción) promoviendo la escisión de los ARNm diana o bloqueando la traducción del transcrito celular. Los miARN se procesan desde transcritos primarios conocidas como pri-miARN hasta estructuras cortas de bucle y tallo denominadas (pre)-miARN precursor y, finalmente, hasta miARN maduro funcional. Las moléculas de miARN maduras son parcialmente complementarias a una o más moléculas de ARN mensajero y su función principal es regular por disminución la expresión génica. Como se utiliza en esta memoria, "ácido nucleico miR" o "ácido nucleico miARN" se refiere a cualquiera de un pri-miARN, un pre-miARN, una estructura bicatenaria de miARN o un miARN maduro.

65

Las secuencias de miARN están disponibles al público. Por ejemplo, miRBase (mirbase.org) incluye una base

de datos con capacidad de búsqueda de secuencias de miARN anotadas. Las secuencias de miARN también están disponibles a través de otras bases de datos conocidas por un experto en la técnica, incluyendo el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (ncbi.nlm.nih.gov). Un experto en la técnica también puede identificar dianas para miARN específicos utilizando bases de datos y algoritmos públicos, por ejemplo, en

5 MicroCosm Targets (ebi.ac.uk/enright-srv/microcosm/htdocs/targets/), TargetScan (targetscan.org) y PicTar (pictar.mdc-berlin.de). En función de las secuencias de miARN de un organismo (tal como de ratón), un experto en la técnica puede utilizar las bases de datos disponibles para determinar un miARN correspondiente de otro organismo (tal como de ser humano). Los miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención

10 reivindicada.

Imitador o mimético de miARN: Un mimético de miARN incluye un miARN que tiene la misma secuencia que el miARN natural o de referencia, pero tiene una cadena principal modificada, una base modificada y/o una modificación en el extremo 5' o 3'. En algunos ejemplos, un mimético de miARN puede ser menos susceptible a la degradación o a la actividad nucleasa. Un imitador de miARN es un miARN con al menos una modificación de secuencia y que tiene una identidad de secuencia de un 75 % o mayor con un miARN natural o de referencia y que también se une a los mismos ARNm con afinidad similar al miARN de referencia o natural. Los miARN descritos también pueden ser tanto un mimético de miARN como un imitador de miARN, por ejemplo, un miARN con al menos una modificación de secuencia (por ejemplo, identidad de secuencia de un 75 % o mayor) con

15 respecto a un miARN de referencia, y que también tiene una cadena principal modificada, una base modificada y/o modificación en los extremos. Los miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada.

Muestra (o muestra biológica): Una muestra que contiene ADN, ARN (incluido ARNm), proteína o combinaciones de los mismos, en algunos ejemplos, obtenida de un sujeto. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, sangre periférica, orina, saliva, biopsia de tejido, aspiración con aguja fina, muestra quirúrgica y material de autopsia. En algunos ejemplos, una muestra incluye una muestra de tumor, tal como una muestra de tumor fresca, congelada o fijada.

25

Sujeto: Organismos vertebrados multicelulares vivos, una categoría que incluye mamíferos humanos y no humanos (tales como sujetos de laboratorio o veterinarios).

30

Vector: Una molécula de ácido nucleico que permite la inserción de ácido nucleico exógeno sin alterar la capacidad del vector de replicarse y/o integrarse en una célula hospedadora. Un vector puede incluir secuencias de ácido nucleico que le permitan replicarse en una célula hospedadora, tal como un origen de replicación. Un vector también puede incluir uno o más genes marcadores de selección y/u otros elementos genéticos. Un vector de expresión es un vector que contiene las secuencias reguladoras necesarias para permitir la transcripción y traducción del ácido nucleico insertado. En algunas realizaciones en esta memoria,

35 el vector es un vector plasmídico. En otras realizaciones, el vector es un vector vírico.

40

III. miARN Se describen en esta memoria miARN que están regulados diferencialmente en cánceres, incluyendo, pero sin limitarse a, tumores escamocelulares. Estos miARN pueden utilizarse en métodos para tratar tumores y también pueden usarse en métodos de diagnóstico. También se describen miARN modificados que también pueden utilizarse en composiciones y métodos de tratamiento.

45

Los miARN son moléculas pequeñas de ARN no codificante que regulan la expresión génica. Los miARN maduros en general tienen aproximadamente 17-25 nucleótidos de longitud. Los miARN típicamente modulan la expresión génica (por ejemplo, aumentan o disminuyen la traducción) promoviendo la escisión de los ARNm diana o bloqueando la traducción del transcrito celular. Los miARN se procesan a partir de transcritos primarios conocidos como "pri-miARN" hasta estructuras cortas de bucle y tallo denominadas "(pre)-miARN precursores". El pre-miARN se procesa en una estructura bicatenaria de miARN y finalmente a un miARN monocatenario maduro funcional. Durante el procesamiento de la estructura bicatenaria de miARN, una hebra (denominada hebra "pasajera") se degrada, mientras que la otra hebra (la hebra "guía") es la molécula de miARN madura.

50 Las moléculas de miARN maduras son parcialmente complementarias a una o más moléculas de ARN mensajero y su función principal es regular por disminución la expresión génica. Como se describe en esta memoria, un ácido nucleico miARN incluye miARN precursores, así como ácidos nucleicos miARN procesados o maduros. Por ejemplo, un ácido nucleico miARN puede ser un pri-miARN, un pre-miARN, una estructura bicatenaria de miARN o un ácido nucleico miARN maduro.

55

60

Las secuencias de miARN están disponibles al público. Un experto en la técnica puede identificar precursores de miARN, así como miARN procesados o maduros, por ejemplo, utilizando bases de datos disponibles al público. Por ejemplo, miRBase (mirbase.org) incluye una base de datos con capacidad de búsqueda de secuencias de miARN anotadas. Las secuencias de miARN también están disponibles a través de otras bases de datos conocidas por un experto en la técnica, incluyendo el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (ncbi.nlm.nih.gov). Un experto en la técnica también puede identificar dianas para miARN

65

específicos utilizando bases de datos y algoritmos públicos, por ejemplo, en MicroCosm Targets (ebi.ac.uk/enright-srv/microcosm/htdocs/targets/), TargetScan (targetscan.org) y PicTar (pictar.mdc-berlin.de). En función de las secuencias de miARN de un organismo (tal como de ratón), un experto en la técnica puede utilizar las bases de datos disponibles para determinar un miARN correspondiente de otro organismo (tal como de ser humano).

En algunos ejemplos, el microARN funciona activando la escisión o desestabilización de un ARNm diana o de un ARN no codificante, que puede detectarse mediante RT-PCR, hibridación in situ, FRET, transferencia Northern o secuenciación. También puede funcionar inhibiendo la traducción de un ARNm diana en una proteína, que puede detectarse mediante inmunoelectrotransferencia, inmunotransferencia, ensayo de polarización de fluorescencia, ensayo de actividad enzimática, FRET, inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, ELISA o espectrometría de masas. El cambio resultante en la expresión de ARNm específicos o ARN no codificante puede dar como resultado la represión de varios fenotipos relevantes para cáncer, incluyendo proliferación celular, resistencia a la muerte celular, procesos proinflamatorios, migración e invasión aumentadas, angiogénesis, evasión de la destrucción inmunológica, inmortalidad replicativa, estabilidad genómica disminuida, actividad celular desregulada y/o desregulación de los procesos epigenéticos que afectan al crecimiento y progresión del tumor.

El miARN de la invención se define en las reivindicaciones. En algunos ejemplos, los ácidos nucleicos miARN de uso en las composiciones y métodos descritos en esta memoria incluyen los miARN maduros enumerados en la tabla 1, donde los miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. En otros ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, los ácidos nucleicos miARN incluyen aquellos con al menos un 75 % de identidad de secuencia con los enumerados en la tabla 1 (por ejemplo, imitadores de miARN), siempre que dichos miARN modificados conserven una o más funciones del miARN no modificado. Por ejemplo, el ácido nucleico miARN incluye o consiste en una secuencia de ácido nucleico al menos un 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de ácido nucleico de uno de los miARN enumerados en la tabla 1, en donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. Ácidos nucleicos miARN adicionales de uso en las composiciones y métodos descritos incluyen los miARN modificados (incluyendo las cadenas guía y/o pasajeras) mostrados en las tablas 18, 20, 21 y 23, o miARN con al menos un 75 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos un 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad) con los mostrados en las tablas 18, 20, 21 y 23 (por ejemplo, miméticos y/o imitadores de miARN), siempre que dichos miARN modificados conserven una o más funciones del miARN no modificado en donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. En algunos ejemplos, los miARN con al menos un 75 % de identidad de secuencia con los mostrados en la tabla 1, tabla 18, tabla 20, tabla 21 o tabla 23 incluyen al menos uno (tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) nucleótidos de origen no natural, donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada.

Tabla 1. miARN humanos maduros ejemplares expresados diferencialmente en tumores

miARN humano	Secuencia	SEQ ID NO:
hsa-miR-30a-5p	UGUAAACAUCCUCGACUGGAAG	1
hsa-miR-30b-5p	UGUAAACAUCCUACACUCAGCU	2
hsa-miR-30c-5p	UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC	3
hsa-miR-30d-5p	UGUAAACAUCCCGACUGGAAG	4
hsa-miR-30e-5p	UGUAAACAUCCUUGACUGGAAG	5
hsa-miR-30a-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGC	6
hsa-miR-30b-3p	CUGGGAGGUGGAUGUUUACUUC	7
hsa-miR-30c-1-3p	CUGGGAGAGGGUUGUUUACUCC	8
hsa-miR-30c-2-3p	CUGGGAGAAGGCUGUUUACUCU	9
hsa-miR-30d-3p	CUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGC	10
hsa-miR-30e-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUACAGC	11
hsa-miR-26a-5p	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	12
hsa-miR-26a-1-3p	CCUAUUCUUGGUUACUUGCACG	13
hsa-miR-26a-2-3p	CCUAUUCUUGAUUACUUGUUUC	14
hsa-miR-26b-5p	UUCAAGUAAUUCAGGAUAGGU	15
hsa-miR-26b-3p	CCUGUUCUCCAUUACUUGGCUC	16
hsa-miR-375	UUUGUUCGUUCGGCUCGCGUGA	17
hsa-miR-145-5p	GUCCAGUUUUCCCAGGAUCCCU	18
hsa-miR-145-3p	GGAUUCCUGGAAAUACUGUUCU	19

hsa-miR-338-5p	AACAUAUCCUGGUGCUGAGUG	20
hsa-miR-338-3p	UCCAGCAUCAGUGAUUUUGUUG	21
hsa-miR-205-5p	UCCUUCAUCCACCGGAGUCUG	22
hsa-miR-205-3p	GAUUUCAGUGGAGUGAAGUUC	23
hsa-miR-29a-3p	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	24
hsa-miR-29b-3p	UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUU	25
hsa-miR-29c-3p	UAGCACCAUUUGAAAUCGGUUA	26
hsa-miR-29a-5p	ACUGAUUUCUUUUGGUGUUCAG	27
hsa-miR-29b-1-5p	GCUGGUUUCAUUUGGUGGUUAGA	28
hsa-miR-29b-2-5p	CUGGUUUCACAUUGGUGGCUUAG	29
hsa-miR-29c-5p	UGACCGAUUUCUCCUGGUGUUC	30
hsa-miR-27a-5p	AGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCA	31
hsa-miR-27a-3p	UUCACAGUGGCUAAGUCCGC	32
hsa-miR-27b-5p	AGAGCUUAGCUGAUUGGUGAAC	33
hsa-miR-27b-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	34
hsa-miR-101-5p	CAGUUAUCACAGUGCUGAUGCU	35
hsa-miR-101-3p	UACAGUACUGUGAUUACUGAA	36

En ejemplos adicionales, un ácido nucleico miARN incluye un ácido nucleico miARN que es ligeramente más largo o más corto que la secuencia de nucleótidos de uno cualquiera de los ácidos nucleicos miARN descritos en esta memoria (tales como SEQ ID NO: 1-67 o 72 o 73-158), siempre que el ácido nucleico miARN conserve una función del miARN particular, tal como hibridación con una secuencia diana de miARN o formación de una estructura bicatenaria de miARN, en donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. Por ejemplo, un ácido nucleico miARN puede incluir unas pocas eliminaciones o adiciones de nucleótidos en el extremo 5' o 3' de la secuencia de nucleótidos de un miARN descrito en esta memoria, tal como la adición o eliminación de 1, 2, 3, 4 o más nucleótidos del extremo 5' o 3', o combinaciones de las mismas (tal como una eliminación de un extremo y una adición al otro extremo), en donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. En ejemplos particulares, los miARN modificados descritos en esta memoria incluyen la adición de uno o más nucleótidos en el extremo 3', tal como la adición de uno o más nucleótidos (por ejemplo, 1, 2, 3 o más nucleótidos) en el extremo 3' de un hebra pasajera de miARN, en donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada.

La presente descripción también proporciona miARN que incluyen variaciones en la secuencia de miARN (tal como una variación de la secuencia mostrada en cualquiera de SEQ ID NO: 1-67 o 72 o 73-158), siempre que dichos miARN modificados conserven una o más funciones del miARN no modificado, en donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte del invención reivindicada. En algunos ejemplos, las modificaciones proporcionan estabilidad aumentada de una estructura bicatenaria de hebra guía-hebra pasajera. En algunos ejemplos, las modificaciones incluyen sustituciones en uno o más nucleótidos (tal como 1, 2, 3, 4, 5 o más nucleótidos) en un miARN, en donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. En ejemplos particulares, las modificaciones incluyen sustitución de una o más de las posiciones 1, 6 y 20 de una cadena pasajera de miR-30 (tal como miR-30a-5p) en donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada.

También se proporcionan miméticos de miARN, tales como ácidos nucleicos miARN que incluyen uno o más nucleótidos modificados o análogos de ácidos nucleicos. Los miméticos de miARN de la invención se definen en las reivindicaciones. En algunos ejemplos, el miARN aislado incluye al menos una modificación de base nitrogenada, por ejemplo, para aumentar la resistencia a las nucleasas, potenciar la semivida y/o mejorar la eficacia. Las modificaciones de base nitrogenada adecuadas para su aplicación a microARN son bien conocidas en la técnica (véanse, por ejemplo, las publicaciones de solicitudes de patente de Estados Unidos n.º 2010/0298407; 2007/0213292; 2006/0287260; 2006/0035254; 2006/0008822; y 2005/0288244).

El miARN de la invención se define en las reivindicaciones. En algunos ejemplos (por ejemplo, para aumentar la resistencia a las nucleasas y/o la afinidad de unión a una molécula de ácido nucleico diana) que no forman parte de la invención reivindicada, un miARN de la descripción incluye modificaciones glucídicas 2'-O-metilo, 2'-flúor, 2'-O-metoxietilo, 2'-O-aminopropilo, 2'-amino y/o enlaces fosforotioato. La inclusión de ácidos nucleicos bloqueados (ANB), ácidos nucleicos de etileno (ANE) (por ejemplo, ácidos nucleicos con puentes de 2'-4'-etileno) y determinadas modificaciones de bases nitrogenadas también pueden aumentar la afinidad de unión a la diana. La inclusión de glúcidos de piranosa en la cadena principal del oligonucleótido también puede disminuir la escisión endonucleolítica. Modificaciones adicionales incluyen morfolinos, ácidos peptidonucleicos

(APN), ácidos nucleicos desbloqueados (AND), α -L-ANB, 4'-C-hidroximetil-ADN, 2'-N-adamantilmetilcarbonil-2'-amino-ANB, 2'-N-piren-1-ilmetil-2'-amino-ANB, E2'-aminoetilo, 2'-guanidinoetilo, 2'-cianoetilo, 2'-aminopropilo, oxetano-ANB, ácido nucleico bloqueado ANB-2',4'-carbocíclico, ácido nucleico bloqueado ANE-2',4'-carbocíclico, 2'-desoxi-2'-N,4'-C-etileno-ANB, ácido nucleico de alritol, ácido nucleico de hexitol, 2'-aminoetoximetilo y 2'-aminoproximetilo.

Miméticos de miARN adicionales incluyen miARN con cadenas principales modificadas o enlaces internucleosídicos no naturales. Oligómeros que tienen cadenas principales modificadas incluyen aquellos que conservan un átomo de fósforo en la cadena principal y aquellos que no tienen un átomo de fósforo en la cadena principal. Se considera que los oligonucleótidos que no tienen un átomo de fósforo en su cadena principal internucleosídica se denominan en general en la técnica oligómeros de bases nitrogenadas. Oligómeros de bases nitrogenadas que tienen cadenas principales oligonucleotídicas modificadas incluyen, por ejemplo, fosforotioatos, fosforotioatos quirales, fosforoditioatos, fosfotriésteres, aminoalquil-fosfotriésteres, metilfosfonatos y otros alquifosfonatos incluyendo 3'-alquilenfosfonatos y fosfonatos quirales, fosfinatos, fosforamidatos, tionofosforamidatos, tionoalquifosfonatos, tionoalquifosfotriésteres y boranofosfatos. También se incluyen diversas sales, sales mixtas y formas de ácido libre.

Las cadenas principales oligonucleotídicas modificadas que no incluyen un átomo de fósforo en las mismas tienen cadenas principales que están formadas por enlaces internucleosídicos de alquilo o cicloalquilo de cadena corta, enlaces internucleosídicos mixtos de heteroátomo y de alquilo o cicloalquilo, o uno o más enlaces internucleosídicos heteroaromáticos o heterocíclicos de cadena corta. Estos incluyen aquellos que tienen enlaces morfolino (formados en parte a partir de la parte glucídica de un nucleósido); cadenas principales de siloxano; cadenas principales de sulfuro, sulfóxido y sulfona; cadenas principales de formacetilo y tioformacetilo; cadenas principales de metilenformacetilo y tioformacetilo; cadenas principales que contienen alqueno; cadenas principales de sulfamato; cadenas principales de metilenimino y metilenhidrazino; cadenas principales de sulfonato y sulfonamida; cadenas principales de amida; y otros que tienen partes de componentes mixtos de N, O, S y CH₂.

En otros ejemplos, los miARN modificados (por ejemplo, miméticos de miARN) incluyen uno o más restos glucídicos sustituidos, en donde miARN modificados distintos del ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. Dichas modificaciones incluyen modificaciones 2'-O-metilo, 2'-metoxietoxi, 2'-dimetilaminooxietoxi, 2'-aminopropoxi y 2'-fluoro. También pueden hacerse modificaciones en otras posiciones en un oligonucleótido u otros oligómero de bases nitrogenadas, particularmente la posición 3' del glúcido en el nucleótido terminal 3'. Los oligómeros de bases nitrogenadas también pueden tener miméticos glucídicos tales como restos ciclobutilo en lugar del glúcido pentofuranosilo.

En ejemplos adicionales, un miARN modificado (por ejemplo, un mimético de miARN) incluye una modificación en el extremo 5' o 3', en donde miARN modificados distintos del ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. Dichas modificaciones incluyen un grupo amino primario (por ejemplo, con un espaciador de carbono, como amino-C3, amino-C6 o amino-C12) en el extremo 5' del miARN. Modificaciones finales adicionales incluyen AND, metilfosfonato, fosfitorato, una base invertida o un capuchón N-metil-G.

En otros ejemplos, el miARN incluye dos o más modificaciones, tales como dos o más modificaciones seleccionadas de una sustitución de base, una modificación en un enlace internucleosídico, un glúcido modificado o una modificación en el extremo 5' y/o 3', en donde miARN modificados distintos del ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. Para moléculas de miARN bicatenarias, la modificación o modificaciones pueden estar presentes en la hebra guía, la hebra pasajera o ambas.

En algunos ejemplos, los ácidos nucleicos miARN modificados (por ejemplo, imitadores o miméticos) descritos en esta memoria incluyen una modificación amino del extremo 5', tal como una modificación 5'-amino C6 (tal como una hebra pasajera modificada 5'-amino C6), en donde miARN modificados distintos del ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. En otros ejemplos, el ácido nucleico miARN modificado (por ejemplo, imitador o mimético) incluye uno o más nucleótidos (tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más nucleótidos) con una modificación 2' (tal como 2'-O-Me), en donde miARN modificados distintos del ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. Los nucleótidos modificados en 2' pueden ser internos al miARN (ninguna de las modificaciones está en el nucleótido del extremo 5' o 3') o pueden incluir los nucleótidos del extremo 5' y/o 3'. En algunos ejemplos, una hebra guía de miARN incluye uno o más nucleótidos (tal como 3-10, 4-9 o 5-8 nucleótidos) que tienen una modificación 2', en donde miARN modificados distintos del ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. En ejemplos específicos, una hebra guía incluye modificaciones 2' en uno o más nucleótidos internos, y en algunos ejemplos, no en un nucleótido del extremo 5' o 3', en donde miARN modificados distintos del ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se

define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. En otros ejemplos, una hebra pasajera de miARN incluye uno o más nucleótidos (tal como 3-10, 4-8 o 5-7 nucleótidos) que tienen una modificación 2', en donde miARN modificados distintos del ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. En ejemplos específicos, una hebra pasajera incluye modificaciones 2' en un nucleótido del extremo 5' o 3', pero también puede incluir modificación 2' de uno o más nucleótidos internos, en donde miARN modificados distintos del ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. En ejemplos no limitantes particular, los miARN modificados incluyen los mostrados en las tablas 18, 20, 21 y 23, a continuación, donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada.

En algunos ejemplos, los ácidos nucleicos miARN descritos o los ácidos nucleicos miARN modificados (por ejemplo, miméticos o imitadores) como se definen en las reivindicaciones están asociados con un marcador detectable. En algunos ejemplos, el ácido nucleico miARN como se define en las reivindicaciones se conjuga con un marcador fluorescente (tal como isotiocianato de fluoresceína, cumarina, Cy3, Cy5, Cy7 o tintes Alexa Fluor®), un hapteno (tal como digoxigenina o Myc), o un marcador radiactivo. En otros ejemplos, el ácido nucleico miARN como se define en las reivindicaciones está asociado con un péptido o proteína (por ejemplo, para facilitar la administración dirigida), tal como tat, GP1 de MACV, receptor de folato o penetratina. Un experto en la técnica puede seleccionar marcadores o péptidos detectables adicionales dependiendo de las circunstancias particulares.

IV. Composiciones para su uso en el tratamiento o inhibición del cáncer

La invención es la composición para su uso en un método de tratamiento de un sujeto con cáncer con una cantidad eficaz de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p, como se define en las reivindicaciones, en donde el cáncer comprende carcinoma escamocelular de cabeza y cuello o carcinoma escamocelular de cuello uterino. Cualquier referencia a métodos de tratamiento se interpreta en el sentido de composiciones para su uso en el método de tratamiento. En esta memoria se describen miARN que se expresan de forma diferencial en tumores. Estos miARN pueden utilizarse en métodos para tratar o inhibir el cáncer en un sujeto. Por tanto, en esta memoria se describen métodos de tratamiento o inhibición del cáncer en un sujeto, que incluyen administrar al sujeto una cantidad eficaz de uno o más miARN, que forman parte de la descripción. En ejemplos particulares, los métodos de la descripción incluyen administrar a un sujeto con cáncer uno o más miARN que están regulados por disminución en un tumor a un sujeto con un tumor (tal como un carcinoma escamocelular), donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada y en donde cánceres distintos de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello o carcinoma escamocelular de cuello uterino no forman parte de la invención reivindicada.

Los métodos incluyen administrar a un sujeto con un tumor una cantidad eficaz de al menos un ácido nucleico miR-30-5p aislado (tal como un ácido nucleico miR-30a-5p, miR-30b-5p, miR-30c-5p, miR-30d-5p o miR-30e-5p) o un imitador o mimético del mismo como se define en las reivindicaciones. Ejemplos no limitantes específicos de ácidos nucleicos miR-30 incluyen SEQ ID NO: 1-11 y 66 descritas en esta memoria, donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. Los métodos incluyen administrar a un sujeto con un tumor una cantidad eficaz de un ácido nucleico variante o modificado (por ejemplo, un imitador o mimético) de miR-30 como se define en las reivindicaciones. El ácido nucleico miR-30 modificado puede administrarse como una estructura bicatenaria de miR-30 que incluye una hebra guía y una hebra pasajera, por ejemplo, seleccionadas de SEQ ID NO: 37-61 y 73-92. En ejemplos no limitantes particulares, un ácido nucleico miR-30 modificado incluye una estructura bicatenaria de miR-30 que incluye SEQ ID NO: 41 y 55, una estructura bicatenaria de miR-30 que incluye SEQ ID NO: 42 y 56, una estructura bicatenaria de miR-30 que incluye SEQ ID NO: 42 y 57, una estructura bicatenaria de miR-30 que incluye SEQ ID NO: 50 y 61, una estructura bicatenaria de miR-30 que incluye SEQ ID NO: 73 y 61, o una estructura bicatenaria de miARN que incluye SEQ ID NO: 74 y 61. Ejemplos adicionales de estructuras bicatenarias de miR-30 modificadas incluyen las de las tablas 19 y 22, a continuación, donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada.

Los métodos incluyen administrar a un sujeto con un tumor una cantidad eficaz de uno o más de un ácido nucleico aislado miR-30-5p (tal como un ácido nucleico miR-30a-5p, miR-30b-5p, miR-30c-5p, miR-30d-5p y/o miR-30e-5p), miR-26a-5p, miR-26b-5p, miR-375, miR-145-5p, miR-338-3p, miR-27, miR-29 o miR-101, un imitador o mimético de cualquiera de los mismos, o una combinación de dos cualesquiera o más de los mismos, incluyendo uno o más ácidos nucleicos miR de estructura bicatenaria o vectores que codifican el o los ácidos nucleicos miR, donde siempre está presente un ácido nucleico miR-30-5p aislado, imitador o mimético como se define en las reivindicaciones. El ácido nucleico miR modificado puede administrarse como una estructura bicatenaria miR que incluye una hebra guía y una hebra pasajera, por ejemplo, seleccionadas de SEQ ID NO:

62-67 y 93-158, donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada.

5 Los métodos incluyen administrar a un sujeto con un tumor una cantidad eficaz de una combinación de ácidos nucleicos miR-30-5p como se define en las reivindicaciones, ácidos nucleicos miR-145, miR-26a y miR-375. En un ejemplo específico no limitante, los métodos incluyen administrar al sujeto una combinación de miR-30a-014 (SEQ ID NO: 41 y 55), miR-145, miR-26a y miR-375. En ejemplos adicionales, los métodos incluyen administrar al menos 2 (por ejemplo, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10 o más) miARN de una cualquiera de las tablas 1, 3, 4, 5, 18, 20, 21 y 23
10 (tal como 2-10, 4-20, 6-30, 10-50 o más), donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. Los miARN pueden administrarse como ácidos nucleicos miR monocatenarios, ácidos nucleicos miR de estructura bicatenaria (tal como una estructura bicatenaria de una cadena guía y una cadena pasajera), o vectores que incluyen ácidos nucleicos miR.

15 En otros ejemplos, los métodos incluyen administrar a un sujeto con un tumor una cantidad eficaz de dos o más miR-30-5p como se define en las reivindicaciones, ácidos nucleicos miR-145, miR-375 y miR-26a, en donde miR-30-5p siempre está presente. En algunos ejemplos, los métodos incluyen administrar al sujeto un ácido nucleico miR-30-5p como se define en las reivindicaciones (tal como un ácido nucleico miR-30a-5p o un
20 ácido nucleico miR-30a modificado, tal como los de las tablas 18, 19 y 21) y un ácido nucleico miR-145. En otros ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, los métodos incluyen administrar al sujeto un ácido nucleico miR-145 y un ácido nucleico miR-375. En ejemplos adicionales, los métodos incluyen administrar al sujeto un ácido nucleico miR-30-5p como se define en las reivindicaciones (tal como un ácido nucleico miR-30a-5p o un ácido nucleico miR-30a modificado, tal como los de las tablas 18 y 19) y un ácido
25 nucleico miR-375. En algunos ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, los métodos incluyen administrar al sujeto un ácido nucleico miR-145 y un ácido nucleico miR-26a. En ejemplos adicionales que no forman parte de la invención reivindicada, los métodos incluyen administrar al sujeto un ácido nucleico miR-26a y un ácido nucleico miR-375. En otros ejemplos, los métodos incluyen administrar al sujeto un ácido nucleico miR-30-5p como se define en las reivindicaciones (tal como un ácido nucleico miR-30a-5p o un ácido
30 nucleico miR-30a modificado, tal como los de las tablas 18 y 19) y un ácido nucleico miR-26a.

Los métodos descritos pueden usarse para tratar o inhibir un cáncer en un sujeto, en donde cánceres distintos de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello o carcinoma escamocelular de cuello uterino no forman parte de la invención reivindicada. Cánceres ejemplares incluyen leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), cáncer en carcino corticosuprarrenal, cánceres relacionados con SIDA (por ejemplo, sarcoma de Kaposi, linfoma relacionado con SIDA, linfoma primario del SNC), cáncer anal, cáncer de apéndice, astrocitomas, tumor teratoide/rabdoide atípico, carcinoma basocelular, cáncer de las vías biliares, cáncer de vejiga, cáncer de hueso (por ejemplo, familia de tumores del sarcoma de Ewing, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno), tumor cerebral (por ejemplo, astrocitomas, del tronco encefálico, glioma, tumor teratoide/rabdoide atípico del sistema nervioso central, tumores embrionarios del sistema nervioso central, tumores de células germinales del sistema nervioso central, craneofaringioma, ependimoma), cáncer de mama, tumores bronquiales, linfoma de Burkitt, tumor carcinoide, tumores cardíacos (del corazón), del sistema nervioso central (por ejemplo, tumor teratoide/rabdoide atípico, tumores embrionarios, tumor de células germinales, linfoma, primario), cáncer de cuello uterino, colangiocarcinoma, cordoma, leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), neoplasias mieloproliferativas crónicas, cáncer de colon, cáncer colorrectal, linfoma cutáneo de linfocitos T, carcinoma ductal in situ (DCIS), cáncer endometrial, ependimoma, cáncer esofágico, estesonuroblastoma, sarcoma de Ewing, tumor extracraneal de células germinales, tumor extragonadal de células germinales, cáncer de ojo (por ejemplo, melanoma intraocular, retinoblastoma), cáncer de las trompas de Falopio, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, tumores estromales gastrointestinales (GIST), tumor de células germinales (por ejemplo, extracraneal, extragonadal, de ovario, testicular), enfermedad trofoblástica gestacional, glioma, tricoleucemia, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de corazón, cáncer hepatocelular, linfoma de Hodgkin, cáncer hipofaríngeo, insulinosomas, tumores neuroendocrinos pancreáticos, sarcoma de Kaposi, de riñón (por ejemplo, de células renales, tumor de Wilms), histiocitosis de células de Langerhans, cáncer laríngeo, tricoleucemia, cáncer de labio y cavidad bucal, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (por ejemplo, no microcítico, microcítico), linfoma (por ejemplo, relacionado con SIDA, de Burkitt, cutáneo de linfocitos T, de Hodgkin, no hodgkiniano, primario del sistema nervioso central), macroglobulinemia de Waldenstrom, carcinoma de células de Merkel, mesotelioma, cáncer escamoso metastásico de cuello con primario oculto, carcinoma del conducto mediano que implica el gen NUT, cáncer de boca, síndromes de neoplasia endocrina múltiple, mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas, micosis fungoide, síndromes mielodisplásicos, neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas, leucemia mielógena, mieloma múltiples, neoplasias mieloproliferativas, cáncer de la cavidad nasal y los senos paranasales, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, linfoma no hodgkiniano, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer bucal, cáncer orofaríngeo, cáncer de ovario (por ejemplo, epitelial, tumor de células germinales, tumor de bajo potencial maligno), cáncer pancreático, tumores neuroendocrinos pancreáticos (insulinosomas), papilomatosis, paraganglioma, cáncer de los senos paranasales y la cavidad nasal, cáncer paratiroideo, cáncer de pene, cáncer faríngeo, feocromocitoma, tumor de la pituitaria,

neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple, blastoma pleuropulmonar, linfoma primario del sistema nervioso central (SNC), cáncer peritoneal primario, cáncer de próstata, cáncer rectal, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma, cáncer de la glándula salival, sarcomas (por ejemplo, sarcoma de Ewing, Kaposi, osteosarcoma, rhabdomyosarcoma, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma uterino, tumores vasculares), síndrome de Sézary, cáncer de piel (por ejemplo, melanoma, carcinoma de células de Merkel, no melanomatoso), cáncer de intestino delgado, carcinoma escamocelular, cáncer de estómago, linfoma de linfocitos T, cutáneo, cáncer testicular, cáncer de garganta, timoma y carcinoma tímico, cáncer tiroideo, carcinoma primario desconocido, cánceres infantiles inusuales, cáncer uretral, cáncer uterino, sarcoma uterino, cáncer vaginal, tumores vasculares, cáncer vulvar, o tumor de Wilms.

En algunos ejemplos no limitantes, los métodos incluyen tratar o inhibir un carcinoma escamocelular (SCC), tal como carcinoma escamocelular de cabeza y cuello, carcinoma escamocelular de pulmón o carcinoma escamocelular de cuello uterino, en donde cánceres distintos de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello o carcinoma escamocelular de cuello uterino no forman parte de la invención reivindicada. El SCC es un cáncer de tipo carcinoma que puede producirse en muchos órganos diferentes, incluyendo la piel, los labios, la boca, el esófago, la vejiga urinaria, la próstata, los pulmones, la vagina y el cuello uterino. Es un tumor maligno de epitelio escamoso (epitelio que muestra diferenciación de células escamosas). En algunos ejemplos, el tumor es un HNSCC, por ejemplo, carcinoma escamoso bucal (tal como tumores del labio, lengua, bóveda del paladar, suelo de la boca o mucosa yugal), carcinoma escamoso orofaríngeo (tal como tumores de la bóveda del paladar, base de la lengua o región amigdalina), carcinoma escamoso hipofaríngeo (tal como tumores del seno piriforme, pared faríngea posterior o región poscricoide), carcinoma escamoso nasofaríngeo (tal como tumores del seno maxilar) o carcinoma escamoso laríngeo. En otros ejemplos, el tumor es un SCC de pulmón o SCC de cuello uterino, en donde cánceres distintos de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello o carcinoma escamocelular de cuello uterino no forman parte de la invención reivindicada. En ejemplos adicionales que no forman parte de la invención reivindicada, el tumor es un carcinoma escamocelular de tiroides, SCC esofágico, carcinoma escamocelular de piel, carcinoma escamocelular de mama o carcinoma escamocelular de vejiga urinaria.

En ejemplos no limitantes adicionales que no forman parte de la invención reivindicada, los métodos incluyen tratar o inhibir adenocarcinoma de cuello uterino, carcinoma colorrectal, carcinoma de próstata, adenocarcinoma de mama o carcinoma de páncreas.

En algunos ejemplos, a un sujeto se le administra una cantidad eficaz de una composición que incluye uno o más miARN o miARN modificados descritos en esta memoria, donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. Las composiciones farmacéuticas que incluyen uno o más de los miARN descritos en esta memoria (tal como 2, 3, 4, 5 o más miARN) pueden formularse con un vehículo sólido o líquido apropiado, dependiendo del modo de administración particular elegido. Los vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables útiles en esta descripción son convencionales. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, The University of the Sciences in Philadelphia, Editor, Lippincott, Williams, & Wilkins, Filadelfia, PA, 21.^a edición (2005). Por ejemplo, las formulaciones parenterales habitualmente incluyen líquidos inyectables que son vehículos líquidos farmacéutica y fisiológicamente aceptables tales como agua, solución salina fisiológica, otras soluciones salinas equilibradas, dextrosa acuosa, glicerol o similares. Para composiciones sólidas (por ejemplo, formas de polvo, píldora, comprimido o cápsula), los vehículos sólidos atóxicos convencionales pueden incluir, por ejemplo, calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón o estearato de magnesio. Además de los vehículos biológicamente neutros, las composiciones farmacéuticas a administrar pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares atóxicas, tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes, agentes tamponantes del pH o similares, por ejemplo, acetato de sodio o monolaurato de sorbitán. Excipientes que pueden incluirse son, por ejemplo, otras proteínas, tales como seroalbúmina humana o preparaciones de plasma.

Un experto en la técnica puede determinar fácilmente una cantidad eficaz de un ácido nucleico miR descrito (o combinación de ácidos nucleicos miR) que se administrará a un sujeto, por ejemplo, teniendo en cuenta factores tales como el tipo de tumor que se está tratando, el grado de progresión de la enfermedad, la edad, la salud y el sexo del sujeto, el tamaño (por ejemplo, peso y/o estatura) del sujeto y la vía de administración. Por ejemplo, la cantidad eficaz puede basarse en el peso corporal aproximado de un sujeto a tratar. Dichas cantidades eficaces pueden administrarse por cualquier vía adecuada. En algunos ejemplos, una cantidad eficaz de un ácido nucleico miR (o combinación de ácidos nucleicos miR) como se define en las reivindicaciones administrada a un sujeto varía de aproximadamente 5 µg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, tal como de aproximadamente 100 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, de aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 40 mg/kg, de aproximadamente 30 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg o de aproximadamente 40 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg. En un ejemplo no limitante, la cantidad administrada es aproximadamente 5 mg/kg de un ácido nucleico miR (o una combinación de ácidos nucleicos miR).

En algunas realizaciones, las composiciones se administran en forma farmacéutica unitaria, por ejemplo,

adecuada para la administración individual de dosis particulares. En algunos ejemplos, una forma farmacéutica unitaria contiene de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 g de una o más moléculas de ácido nucleico miR (tal como de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 2,5 g, de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 1 g o de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 5 g). En algunos ejemplos, una dosis unitaria contiene aproximadamente 1 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg, 250 mg, 500 mg, 750 mg, 1 g, 1,5 g, 2 g, 2,5 g, 3 g, 4 g o 5 g de uno o más ácidos nucleicos miR.

Un experto en la técnica también puede determinar fácilmente una pauta de dosificación apropiada para la administración de un ácido nucleico miR descrito (o combinación de ácidos nucleicos miR) a un sujeto. Por ejemplo, el o los ácidos nucleicos miR pueden administrarse al sujeto una vez (por ejemplo, como una sola inyección o depósito) o en dosis repetidas. En algunos ejemplos, el ácido nucleico de miR (o combinación de ácidos nucleicos de miR) se administra una o dos veces al día, dos veces a la semana, tres veces a la semana, semanalmente, quincenalmente o mensualmente durante un periodo de tiempo prolongado según sea necesario para conseguir el resultado terapéutico deseado (tal como una disminución en uno o más signos o síntomas de un tumor). En otros ejemplos, el o los ácidos nucleicos miR se administran de manera continua (por ejemplo, usando una bomba, implante o formulación de liberación continua).

Los agentes terapéuticos pueden administrarse a un sujeto que necesita tratamiento usando cualquier medio adecuado conocido en la técnica. Los métodos de administración incluyen, pero no se limitan a, intraductal, intradérmico, intramuscular, intraperitoneal, parenteral, intravenoso, subcutáneo, vaginal, rectal, intranasal, por inhalación, oral o mediante cañón de genes. La administración intranasal se refiere a la administración de las composiciones en la nariz y los conductos nasales a través de una o ambas fosas nasales y puede comprender la administración mediante un mecanismo de pulverización o mecanismo de gotitas, o mediante aerosolización del ácido nucleico. La administración de las composiciones mediante inhalante puede ser a través de la nariz o la boca mediante administración por mecanismos de pulverización o goteo. La administración puede ser directamente a cualquier zona del sistema respiratorio mediante intubación. La administración parenteral en general se consigue mediante inyección. Los inyectables pueden prepararse en formas convencionales, como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en líquido antes de la inyección, o como emulsiones. Las soluciones y suspensiones inyectables pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos. La administración puede ser sistémica o local. En ejemplos no limitantes particulares, la administración es intravenosa. En otros ejemplos, la administración es subcutánea, intramuscular o intraperitoneal. Un experto en la técnica puede seleccionar una vía de administración apropiada, dependiendo del agente o agentes terapéuticos, la afección que se esté tratando, la salud y los antecedentes de tratamiento del sujeto, y otros factores clínicos relevantes.

Los agentes terapéuticos pueden administrarse de cualquier manera adecuada, preferiblemente con vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos farmacéuticamente aceptables se determinan en parte por la composición particular que se esté administrando, así como por el método particular usado para administrar la composición. Por consiguiente, hay una amplia variedad de formulaciones adecuadas de composiciones farmacéuticas de la presente descripción.

Las preparaciones para administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones acuosas o no acuosas estériles. Ejemplos de disolventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Los vehículos acuosos incluyen agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo solución salina y medios tamponados. Los vehículos parenterales incluyen solución de cloruro de sodio, solución de Ringer con dextrosa, cloruro de sodio y dextrosa, solución de Ringer con lactato o aceites fijos. Los vehículos intravenosos incluyen reponedores de líquidos y nutrientes y reponedores de electrolitos (tales como los que se basan en solución de Ringer con dextrosa). También se pueden encontrar presentes conservantes y otros aditivos tales como, por ejemplo, agentes antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes y gases inertes y similares.

Las formulaciones para administración tópica pueden incluir pomadas, lociones, cremas, geles, gotas, supositorios, pulverizadores, líquidos y polvos. Pueden ser necesarios o deseables vehículos farmacéuticos convencionales, bases acuosas, en polvo u oleosas, espesantes y similares.

Las composiciones para administración oral incluyen polvos o gránulos, suspensiones o soluciones en agua o medios no acuosos, cápsulas, sobres o comprimidos. Pueden ser deseables espesantes, aromatizantes, diluyentes, emulsionantes, adyuvantes de dispersión o aglutinantes.

Algunas de las composiciones pueden administrarse potencialmente como una sal de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptable, formada por reacción con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido perclórico, ácido nítrico, ácido tiociánico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico, y ácidos orgánicos tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico y ácido fumárico, o por reacción con una base inorgánica tal como hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, hidróxido de potasio y bases orgánicas tales como

mono-, di-, trialquil y arilaminas y etanolaminas sustituidas.

En algunas realizaciones, se usan liposomas para administrar un ácido nucleico miR descrito o una combinación de ácidos nucleicos miR a un sujeto. Los liposomas también pueden aumentar la semivida en sangre de los productos génicos. Los liposomas adecuados para su uso en las composiciones y métodos descritos en esta memoria pueden formarse a partir de lípidos convencionales formadores de vesículas, que en general incluyen fosfolípidos neutros o cargados negativamente y un estero, tal como colesterol. La selección de lípidos en general está regida por la consideración de varios factores, tales como el tamaño deseado de los liposomas y la semivida de los liposomas en el torrente sanguíneo. En un ejemplo particular, los liposomas se forman con uno o más ácidos nucleicos miR descritos y lípidos catiónicos, tales como fosfato de dioleoiltrimetilamonio (DOTAP) y dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE).

Se conoce una diversidad de métodos en la técnica para preparar liposomas (véase, por ejemplo, Szoka *et al.*, Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9:467, 1980; y las patentes de Estados Unidos n.º 4.235.871; 4.501.728; 4.837.028; y 5.019.369). En algunas realizaciones, se pueden usar polímeros para administrar un ácido nucleico miR a un sujeto. Se han descrito lípidos y polímeros catiónicos que pueden usarse para administrar moléculas de ARN terapéuticas (ver, por ejemplo, Zhang *et al.*, J Control Release. 123(1):1-10, 2007; Vorhies *et al.*, Methods Mol. Biol. 480:11-29, 2009; y la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos n.º 2009/0306194). En algunos ejemplos, el liposoma incluye además una molécula que aumenta la capacidad de dirección del complejo a un tumor, por ejemplo, una molécula que se une al receptor de transferrina (tal como un anticuerpo antirreceptor de transferrina o un fragmento del mismo). En un ejemplo, el liposoma incluye un fragmento de anticuerpo monocatenario antirreceptor de transferrina (véase, por ejemplo, Pirollo *et al.*, Hum. Gene Ther. 17:117-124, 2006; Pirollo *et al.*, Cancer Res. 67:2938-2943, 2007). Moléculas de dirección adicionales incluyen el receptor de folato, EGFR, MET, ROR1, GLUT1, cadherina, CD44, PSMA y MAGE. También se pueden usar vehículos polipeptídicos para administrar un ácido nucleico miR a un sujeto (véase, por ejemplo, Rahbek *et al.*, J. Gene Med. 10:81-93, 2008). Un experto en la técnica puede identificar moléculas de dirección o vehículos polipeptídicos adicionales.

En algunas realizaciones, el método incluye administrar un vector que codifica uno o más de los ácidos nucleicos miARN descritos o un imitador o mimético de los mismos (tal como cualquiera de SEQ ID NO: 1-67 y 72, 73- 158, o un imitador y/o mimético de las misma), donde miARN distintos de un ácido nucleico miR-30-5p o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p como se define en las reivindicaciones no forman parte de la invención reivindicada. Los vectores para su uso en los métodos descritos pueden ser de origen no vírico (por ejemplo, plásmidos) o vírico (por ejemplo, adenovirus, virus adenoasociado, retrovirus, virus del herpes, virus de la variolovacuna). Los vectores adecuados, tales como los vectores de genoterapia, son bien conocidos en la técnica.

En algunos ejemplos, el ácido nucleico miARN se expresa a partir de plásmidos de ADN circular o lineal recombinantes usando cualquier promotor adecuado. Los promotores adecuados para expresar ARN a partir de un plásmido incluyen, por ejemplo, las secuencias promotoras de ARN pol III U6 o H1, un promotor de citomegalovirus, un promotor de SV40 o un promotor de metalotioneína. La selección de otros promotores adecuados está dentro de los conocimientos de la técnica. Los plásmidos recombinantes también pueden comprender promotores inducibles o regulables para la expresión de los productos génicos de miR.

En una realización no limitante, el ácido nucleico miARN se expresa como una molécula precursora de ARN a partir de un plásmido, y la molécula precursora se procesa en un miARN funcional o maduro dentro de la célula diana. La selección de plásmidos adecuados para expresar los miARN, los métodos para insertar secuencias de ácido nucleico en el plásmido para expresar los productos génicos y los métodos para administrar el plásmido recombinante a las células de interés están dentro de los conocimientos de la técnica (véase, por ejemplo, Zeng *et al.*, Mol. Cell 9:1327-1333, 2002; Tuschl, Nat Biotechnol., 20:446-448, 2002; Brummelkamp *et al.*, Science 296:550-; 553, 2002; Miyagishi *et al.*, Nat. Biotechnol. 20:497-500, 2002; Paddison *et al.*, Genes Dev. 16:948-958, 2002; Lee. *et al.*, Nat. Biotechnol. 20:500-505, 2002; y Paul *et al.*, Nat. Biotechnol. 20:505-508, 2002).

La presente descripción también incluye métodos de tratamiento de un sujeto con combinaciones de uno o más de los ácidos nucleicos miARN en combinación con otro u otros agentes útiles en el tratamiento de un cáncer. Por ejemplo, los compuestos de esta descripción pueden administrarse en combinación con dosis eficaces de uno o más tratamientos antineoplásicos, que incluyen, pero no se limitan a, cirugía, uno o más agentes quimioterápicos, radiación, genoterapia, hormonoterapia, inmunoterapia y tratamiento con oligonucleótidos de antisentido. Un médico experto puede seleccionar una combinación apropiada de tratamientos en función del tipo de tumor que se esté tratando, los antecedentes clínicos del sujeto, el estado general y otros factores. La expresión "administración en combinación" o "coadministración" se refiere a la administración tanto simultánea como secuencial de los agentes activos o tratamientos.

Los agentes quimioterápicos incluyen, pero no se limitan a, agentes alquilantes, tales como mostazas nitrogenadas (por ejemplo, clorambucilo, clormetina, ciclofosfamida, ifosfamida y melfalán), nitrosoureas (por

ejemplo, carmustina, fotemustina, lomustina y estreptozocina), compuestos de platino (por ejemplo, carboplatino, cisplatino, oxaliplatino y BBR3464), busulfán, dacarbazina, mecloretamina, procarbazona, temozolomida, tiotepa y uramustina; antimetabolitos, tales como ácido fólico (por ejemplo, metotrexato, pemetrexed y raltitrexed), purina (por ejemplo, cladribina, clofarabina, fludarabina, mercaptopurina y tioguanina), pirimidina (por ejemplo, capecitabina), citarabina, fluorouracilo y gemcitabina; alcaloides vegetales, tales como podófilo (por ejemplo, etopósido y tenipósido), taxano (por ejemplo, docetaxel y paclitaxel), vinca (por ejemplo, vinblastina, vincristina, vindesina y vinorelbina); antibióticos citotóxicos/antitumorales, tales como miembros de la familia de las antraciclinas (por ejemplo, daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina, idarrubicina, mitoxantrona y valrubicina), bleomicina, hidroxiurea y mitomicina; inhibidores de la topoisomerasa, tales como topotecán e irinotecán; anticuerpos monoclonales, tales como alemtuzumab, bevacizumab, cetuximab, gemtuzumab, rituximab, panitumumab y trastuzumab; fotosensibilizantes, tales como ácido aminolevulínico, aminolevulinato de metilo, porfímero sódico y verteporfina; y otros agentes, tales como alitretinoína, altretamina, amsacrina, anagrelida, trióxido de arsénico, asparaginasa, bexaroteno, bortezomib, celecoxib, denileucina difitox, erlotinib, estramustina, gefitinib, hidroxicarbamida, imatinib, pentostatina, masoprocól, mitotano, pegaspargasa y tretinoína.

En un ejemplo particular, si el sujeto tiene HNSCC, el agente quimioterápico incluye cisplatino, carboplatino, cetuximab, bevacizumab, erlotinib, bleomicina, paclitaxel/carboplatino o una combinación de dos o más de los mismos. En otro ejemplo que no forma parte de la invención reivindicada, si el sujeto tiene SCC de pulmón, el agente quimioterápico incluye cisplatino o carboplatino, solo o en combinación con etopósido, gemcitabina, paclitaxel, vinorelbina, topotecán o irinotecán. Un experto en la técnica puede seleccionar tratamientos adicionales apropiados (tales como quimioterapia) en función de factores tales como el tipo de cáncer, el estadio del cáncer, el perfil molecular del cáncer y los antecedentes de salud y tratamiento del sujeto.

V. Métodos de diagnóstico de tumores que no forman parte de la invención reivindicada

En esta memoria se describen métodos de diagnóstico de un tumor en un sujeto, que no forman parte de la invención reivindicada. En algunos ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, los métodos incluyen identificar un tumor en un sujeto detectando un cambio en la cantidad de uno o más miARN (tal como un aumento o disminución) en una muestra del sujeto, por ejemplo, en comparación con un control. En algunos ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, los métodos incluyen además administrar un tratamiento a un sujeto al que se ha diagnosticado un tumor. En un ejemplo que no forma parte de la invención reivindicada, al sujeto se le diagnostica un tumor que expresa una cantidad disminuida de uno o más miARN (por ejemplo, en comparación con un control) y se administra una composición que incluye una cantidad eficaz de uno o más miARN con expresión disminuida al sujeto.

Las muestras usadas en los métodos descritos en esta memoria, tal como un tejido u otra muestra biológica, pueden prepararse usando cualquier método conocido en la técnica. Las muestras incluyen cualquier muestra sólida o líquida obtenida de, excretada o secretada por un sujeto. Por ejemplo, una muestra puede ser un líquido biológico obtenido, por ejemplo, de sangre, plasma, suero, orina, bilis, líquido ascítico, saliva, líquido cefalorraquídeo, humor acuoso o vítreo, o cualquier secreción corporal, un trasudado, un exudado (por ejemplo, líquido obtenido de un absceso o cualquier otro sitio de infección o inflamación), o líquido obtenido de una articulación (por ejemplo, una articulación normal o una articulación afectada por una enfermedad). Una muestra también puede ser una muestra obtenida de cualquier órgano o tejido (incluyendo una biopsia o muestra de autopsia, tal como una biopsia de tumor) o puede incluir una célula (ya sea una célula primaria o una célula cultivada) o un medio acondicionado por cualquier célula, tejido u órgano. En ejemplos particulares, la muestra incluye una muestra de tumor o una muestra de sangre. Las muestras pueden obtenerse de sujetos para cribado de rutina o de sujetos que se sospecha que tienen un trastorno, tal como un tumor.

En algunos ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, los métodos incluyen detectar una cantidad de uno o más de miR-30 (tal como miR-30a-5p, miR-30b-5p, miR-30c-5p, miR-30d-5p o miR-30e-5p), miR-26a-5p, miR-26b-5p, miR-145-5p, miR-338-3p, miR-375, miR-27, miR-29 o miR-101 en una muestra de un sujeto (tal como una muestra de tumor del sujeto). En otros ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, los métodos incluyen detectar una cantidad de uno o más miARN enumerados en las tablas 1, 3, 4, 5, 18 y 20, a continuación. En ejemplos particulares que no forman parte de la invención reivindicada, los métodos incluyen detectar la expresión de una forma madura del miR o una forma precursora (por ejemplo, un pri-miARN o pre-miARN) del miR. Típicamente, los métodos de detección de miR implican la detección de secuencias específicas, tal como por RT-PCR o análisis de micromatrices. Los cebadores y sondas específicos de miR pueden diseñarse usando las secuencias de ácido nucleico miR precursor y maduro que se conocen en la técnica (por ejemplo, disponibles en la World Wide Web en mirbase.org).

En algunos ejemplos de los métodos que no forman parte de la invención reivindicada, el cambio en la expresión (por ejemplo, un aumento o disminución estadísticamente significativo en la expresión) de uno o más ácidos nucleicos miR es de al menos 2 veces, tal como de al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, incluyendo aproximadamente 3 veces, aproximadamente 4 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente 6 veces, aproximadamente 7 veces, aproximadamente 8 veces,

- aproximadamente 9 veces, aproximadamente 10 veces, aproximadamente 30 veces y aproximadamente 100 veces en una muestra del sujeto. En algunos ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, el cambio detectado es un aumento o disminución en la expresión en comparación con un control, tal como un valor de referencia o un sujeto de control sano. En algunos ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, el aumento o disminución detectado es un aumento o disminución de al menos el doble en comparación con el control o patrón. Los controles o patrones para la comparación con una muestra, para la determinación de la expresión diferencial, incluyen una muestra obtenida de un sujeto sano (o una población de sujetos sanos) o un control histórico o valor convencional (por ejemplo, una muestra de control previamente sometida a prueba o un grupo de muestras que representan valores basales o normales, tales como valores basales o normales en un sujeto sano). En algunos ejemplos, que no forman parte de la invención reivindicada, el control es un valor convencional que representa el valor promedio (o intervalo promedio de valores) obtenido de una pluralidad de muestras (tal como un valor promedio o intervalo de valores de expresión de uno o más ácidos nucleicos miR de sujetos normales).
- En algunos ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, los métodos incluyen además proporcionar un tratamiento apropiado para el sujeto diagnosticado con un tumor. En algunos ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, el tratamiento incluye administrar un agente que inhibe la expresión de uno o más ácidos nucleicos miARN, tal como un agente que inhibe un ácido nucleico miR identificado como regulado por aumento en una muestra de un sujeto con respecto a un control. En otros ejemplos que no forman parte de la invención reivindicada, el tratamiento incluye administrar un agente que incluye administrar uno o más ácidos nucleicos miR, uno o más ácidos nucleicos miR que se han identificado como regulados por disminución en una muestra de un sujeto con respecto a un control (por ejemplo, como se describe en la sección IV).
- Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar determinados rasgos característicos y/o realizaciones particulares. No se debe interpretar que estos ejemplos limiten la descripción a los rasgos característicos o realizaciones particulares descritas. Cualquier ejemplo que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona con propósitos comparativos.
- Ejemplo 1

Materiales y métodos

- Muestras de pacientes con HNSCC: Se recogieron muestras de tejido y mucosa de HNSCC frescas congeladas del Centro Médico de la Universidad de Michigan como parte de un protocolo aprobado por el IRB. La caracterización clínica de los pacientes con HNSCC se resume en la tabla 2. Los tejidos recogidos se congelaron instantáneamente y se montaron en medio de congelación OCT (Fisher), se cortaron en secciones de 7 micrómetros y se tiñeron con métodos convencionales de H&E. Los portaobjetos teñidos se exploraron usando un dispositivo de captura de imágenes SCANSOPE (Aperio) y se examinaron con el programa informático IMAGESCOPE (Aperio) para garantizar la presencia de tumor o epitelio escamoso de la mucosa. Los portaobjetos teñidos se usaron para macrodisecar bloques de tejido para alcanzar un mínimo de un 70 % de células escamosas de tumor o epitelio deseadas en cada muestra.

Tabla 2. Características del tumor, el tratamiento y el resultado de muestras humanas de HNSCC

Muestra	Sexo	Edad	Sitios prima-rios	Estadio/TNM	Diferenciación	Tabaco/cajetilla	Alcohol/abandono
2900	M	57	Lateral de la lengua	T2N0M0	Moderada	NA	NA
3100	M	75	Anterior de la lengua	T1N0M0	Escasa	MD	MD
3300	F	60	Lateral de la lengua	T3N1M0	Moderada	NA	NA
4300	F	47	Lateral de la lengua	T3N0M0	Buena	Y/14	NA
4500	F	25	Anterior de la lengua	T4N2cM0	Moderada	NA	NA
8200	M	72	Amígdala	T4N0M0	Buena	Y/150	Y
8400	M	44	Lateral de la lengua	T2N0M0	Buena	Y/20	Y/Y
8500	F	40	Lateral de la lengua	T2N0M0	Buena	NA	NA
8800	M	47	Suelo de la boca	T4N2bM0	Moderada	Y/45	Y
4400	F	41	Suelo de la boca	T1N0M0	Buena	Y/60	Y/Y
7300	M	55	Suelo de la boca	T4N2cM0	Buena	Y/30	Y
7500	F	71	Bóveda del paladar	T4N0M0	Moderada	NA	NA
7800	M	55	Lateral de la lengua	T4N2bM0	Escasa	Y/60	Y/Y
8300	F	50	Lateral de la lengua	T2N0M0	Buena	Y/28	NA

- Se obtuvieron muestras de tumores HNSCC de la cavidad bucal de la Universidad de Michigan y se denominaron UMSC. Sitios primarios, el origen del tumor primario; TNM: tumor-nódulo-metástasis (sistema de estadificación). Y: sí (Yes); NA: no disponible (not available).
- Aislamiento de microARN, preparación de colecciones y secuenciación de muestras de HNSCC: Se purificó

ARN grande y pequeño usando el kit de aislamiento de miARN mirVana™ (Life Technologies) siguiendo un protocolo modificado del fabricante. Se homogeneizaron quince-veinte mg de tejido congelado en 1 ml de TRIZOL (Invitrogen) usando un homogeneizador de tejidos TissueLyser II (Qiagen). Después de la homogeneización, la extracción se realizó usando un método convencional de fenol-cloroforno. A la fase acuosa extraída, se le añadió un 10 % (v/v) de aditivo y luego se realizó el protocolo convencional del fabricante para fraccionar ARN grande y pequeño. La concentración de ARN se determinó usando un espectrómetro NANODROP (Thermo Scientific) y la integridad del ARN total se verificó en un instrumento Bioanalyzer 2100 usando un kit RNA 6000 Nano (Agilent Technologies). Bioanalyzer verificó la presencia suficiente de microARN en muestras enriquecidas con ARN pequeño usando el kit de ARN pequeño (Agilent Technologies).

Se construyeron colecciones de secuenciación de ARN pequeño usando el kit SOLiD™ Total RNA-Seq (Life Technologies) según el protocolo del fabricante. En resumen, se usó 1 µg de ARN pequeño enriquecido (<200 bases) para el ligamiento en adaptadores de secuenciación. Las colecciones de ADNc se retrotranscribieron y luego se seleccionó el tamaño mediante separación en PAGE con urea desnaturizante al 10 %. Se escindieron bandas que corresponden a un tamaño de inserto de 18-38 nucleótidos. Luego se amplificó la colección y se le aplicaron códigos de barras mediante PCR en gel. El tamaño de la colección se verificó usando el kit DNA 1000 en el Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies). La concentración de la colección de ADNc se determinó por RT-PCR mediante el kit de cuantificación TAQMAN de colecciones SOLiD™. Se combinaron conjuntamente partes iguales de ocho colecciones de ADNc y se usaron 0,6 pmol del conjunto combinado para la PCR en emulsión usando el sistema SOLiD™ EZ Bead™ con reactivos E20. La emulsión, amplificación y enriquecimiento de microesferas se llevaron a cabo según los protocolos del fabricante. Las microesferas enriquecidas para cada combinación se marcaron en 3' usando el kit SOLiD™ pre-deposition plus según el protocolo del fabricante. Se depositaron 4×10^8 microesferas por carril de un chip de flujo de 6 carriles y luego se realizó la secuenciación del chip de flujo en el secuenciador de nueva generación SOLiD™ 5500 system con el kit SOLiD™ Small RNA SP (Life Technologies).

Cartografiado de microARN, cuantificación de perfiles de expresión y análisis de abundancia diferencial: Las lecturas de secuenciación se cartografiaron en el genoma de referencia humano Hg19 usando un módulo de miARN en LifeScope™ 2 (Life Technologies). Las etapas posteriores se realizaron principalmente usando el paquete de programa informático miRDeep2 (Friedländer *et al.*, Nature Biotechnology 26:407-415, 2008). En resumen, los resultados del cartografiado en formato sam se convirtieron al formato ilustrado usando en miRDeep2 y, a su vez, se usó la secuencia de órdenes miRDeep2.pl para identificar todos los miARN conocidos y novedosos en los resultados de la secuenciación usando los ajustes predeterminados. Finalmente, todos los miARN identificados se cuantificaron en función de los números de lectura que se les asignaron y se normalizaron usando los recuentos totales por millón en esa muestra.

Se usaron análisis no emparejados de dos clases de SAMseq (samr v2.0, R 3.0.2) con una matriz de entrada de recuento de lecturas y un umbral de FDR de 0,05 para identificar los miARN que se expresaban de forma diferencial. Cada ejecución generó un par de archivos: genes "up" y "down", luego clasificó los resultados filtrados mediante un factor de cambio basado en la mediana.

Análisis de grupos jerárquicos de miARN: El análisis de grupos jerárquicos de la expresión de microARN se realizó usando Partek Genomics Suite 6.6 desde el ordenador. La expresión de microARN normalizada por RPM (lecturas por millón) se clasificó mediante la varianza entre muestras normales y de tumor y se seleccionó el 50 % superior de microARN más variantes para eliminar los expresadores bajos. Se compararon microARN expresados diferencialmente entre muestras de tumor y mucosa y se filtraron mediante un valor de $p < 0,05$ después de una prueba de la t de Student bilateral. Los datos de expresión se cambiaron de escala a la expresión media y luego se realizó una agrupación jerárquica usando el algoritmo de disimilitud de Pearson con vinculación completa.

Análisis integrador para identificar pares de miARN-ARNm en datos TCGA de HNSCC: La abundancia de miARN y ARNm para 279 muestras de tumores se extrajo de los datos de nivel 3 (disponibles en la World Wide Web en tcga-data.nci.nih.gov/docs/publications/hnsc_2014). Los recuentos de lecturas de miARN para las hebras 5p y 3p se normalizaron a RPM alineados con los miARN anotados con miRBase. Los miARN se clasificaron mediante la variación de RPM entre las muestras, y el 50 % más variable con una expresión mínima de al menos 50 RPM se usó para el análisis integrado. La expresión génica se calculó a partir de datos de RNA-Seq con RSEM v1.1.132 y los ceros se remplazaron con los valores mínimos de RSEM distintos de cero (0,0033). El 50 % de los genes más variantes se usó para el análisis integrado. Tanto los datos de expresión de miARN como los de ARNm se transformaron en \log_2 .

Se aplicó una estrategia de múltiples etapas para identificar la relación diana de miARN-ARNm. Se usó regresión lineal para identificar la correlación negativa por pares de la expresión de miARN y ARNm, junto con las herramientas de predicción disponibles en las bases de datos de dianas de miARN. Se generó un conjunto de datos de alta confianza de las interacciones globales de miARN-ARNm.

Análisis de datos de variación del número de copias (CNV): Los datos del número de copias para 279 muestras

de tumores se extrajeron de los datos del nivel 3. El número CNV asociado con cada gen se definió como el valor GISTIC5 segmentado en la ubicación genómica correspondiente. Se utilizó el Integrative Genomics Viewer (IGV) para visualizar los datos del número de copias. Se aplicó regresión lineal para evaluar la correlación entre la expresión de miARN y el CNV.

5

Análisis de datos de metilación de ADN de TCGA: Para el análisis de datos de metilación de ADN, usamos datos de metilación de ADN de nivel 3 para 279 muestras de tumores de TCGA (The Cancer Genome Atlas, Nature 517:576-582, 2015). Los datos se representaron como valores beta (β) de la matriz Illumina Human Methylatation 450k. Se encontraron sondas CpG en regiones promotoras de miARN de la familia de miR-30 usando las coordenadas de los sitios de inicio de la transcripción (TSS) de PROMiRNA (disponible en la World Wide Web en promirna.molgen.mpg.de; Marsico *et al.*, Genome Biol 14:R84, 2013). La región promotora se especificó como ± 1500 pb de TSS. Para cada sonda CpG, estimamos la diferencia en la abundancia de miARN entre muestras no metiladas ($\beta < 0,1$) y metiladas ($\beta > 0,3$) mediante la prueba de la t. Se usaron valores de P corregidos por BH (FDR) de la prueba de la t para encontrar sondas CpG que se expresaran de manera significativamente diferencial entre los grupos metilados y no metilados usando 0,05 como umbral. Luego, los valores de metilación beta se promediaron entre sondas significativas según miR y se correlacionaron con la expresión de miR correspondiente mediante la prueba de correlación de Spearman.

10

15

20

Análisis de supervivencia: El paquete estadístico de supervivencia R, versión 2.37-2 (disponible en la World Wide Web en CRAN.R-project.org/package=survival) se usó para analizar los tiempos de supervivencia globales, producir diagramas de Kaplan-Meier y calcular valores de p de la prueba del orden logarítmico. Los sujetos se dicotomizaron como expresión baja de miARN ($<$ mediana) y expresión alta de miARN (\geq mediana), usando la mediana de la expresión de cada miARN como valor de corte. Para comparar el tiempo de supervivencia global mediante CNV, se clasificó a los sujetos como con eliminación de MIR30E/A si su valor de número de copias GISTIC era menor de -0,1, de lo contrario, se consideró que no tenían eliminación.

25

Asociaciones de alteraciones genéticas y expresión de miR-30 con el estadio, el sitio, el tabaquismo y estado de VPH de HNSCC de conjuntos de datos TCGA: Se usaron pruebas exactas de Fisher para evaluar asociaciones entre la expresión/metilación de miR-30a y las características clínicas, o entre la pérdida de expresión/número de copias de miR-30e y las características clínicas. Los análisis estadísticos se realizaron usando R versión 3.2.2. La significación se definió como $p < 0,05$. El sitio del tumor se clasificó como cavidad bucal si las muestras de tumor provenían de cualquiera de las siguientes subdivisiones anatómicas: mucosa yugal, suelo de la boca, bóveda del paladar, labio, cavidad bucal, parte dental de la lengua y borde alveolar; el sitio del tumor se clasificó como orofaringe si las muestras de tumor procedían de la amígdala, la base de la lengua o la orofaringe.

30

35

Correlación inversa de la expresión de miR-30a con supuestos genes diana: Se realizó análisis de regresión lineal como se describe previamente (Cancer Genome Atlas, Nature 517:576-582, 2015) para evaluar la relación inversa entre las expresiones de miR-30a-5p y sus supuestos genes diana usando conjuntos de datos TCGA de HNSCC. Los valores de p de la regresión lineal miden la significación estadística de la relación inversa.

40

Líneas celulares de HNSCC: Se obtuvo un panel de 10 líneas celulares de HNSCC de la serie de carcinoma escamocelular de la Universidad de Michigan (UM-SCC) (Brenner *et al.*, Head Neck 32:417-426, 2010). El origen de estas líneas celulares UM-SCC se autenticó mediante genotipado con 9 marcadores como se describe en Brenner *et al.* Se usaron reservas congeladas conservadas de las líneas en los tres meses posteriores al cultivo. Las líneas celulares UM-SCC se cultivaron en medio esencial mínimo complementado con suero fetal de ternera al 10 %, penicilina y estreptomycin (100 μ g/ml), MEM con aminoácidos no esenciales y piruvato de sodio (1 mM). Se adquirieron queratinocitos bucales primarios humanos (HOK) de la mucosa gingival bucal de Lonza y se usaron como línea celular de control. Las células se cultivaron en medio de queratinocitos bucales sin suero con complementos (Science Cell) durante menos de cinco pases.

45

50

Examen de viabilidad de imitadores de microARN *in vitro*: Las células se mantuvieron en MEM que contenía suero fetal bovino (FBS) termoinactivado al 10 % complementado con aminoácidos no esenciales y piruvato de sodio. Las transfecciones se realizaron en placas de 384 pocillos (Corning 3570). La viabilidad celular se evaluó usando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CELLTITER-GLO. Para las transfecciones, se añadieron 20 μ l de medio sin suero que contenía reactivo LIPOFECTAMINE RNAiMax (0,1 μ l) a los pocillos que contenían imitador de miARN (0,8 pmol). Se permitió que los lípidos y los imitadores de miARN formaran complejos durante 45 min a temperatura ambiente antes de la adición de 1500 células en MEM, FBS al 20 % para producir mezclas de transfección finales que contenían imitadores de miARN 20 nM en MEM, FBS al 10 %.

55

60

La campaña de cribado se llevó a cabo en una colección de imitadores de miARN (Qiagen) basada en Sanger miRBase 13.0 y que consiste en ~800 imitadores. La viabilidad (CellTiter Glo, Promega) se analizó 72 h después de la transfección en un lector de placas PerkinElmer Envision 2104 Multilabel. Se incorporó Ambion SILENCER Select Negative Control n.º 2 en todas las placas de cribado para la normalización (16 pocillos por

65

placa; la mediana del valor del control negativo en cada placa se usó para normalizar los pocillos de muestra). Se incorporó el control AllStars Cell Death de Qiagen como control positivo de transfección (16 pocillos por placa). Todas las placas de cribado presentaron factores z' de ensayo mayores de 0,6. Los datos de viabilidad normalizados al control negativo se convirtieron en puntuaciones z robustas usando la desviación absoluta de la mediana (MAD) (Chung *et al.*, J. Biomol. Screen 13:149-158, 2008).

Validación por RT-PCR de dianas de ARNm: Se sembraron 2×10^5 células UM-SCC-46 en cada pocillo de una placa de 6 pocillos. Se transfectaron de forma inversa 15 nM de imitador o inhibidor de microARN mirVana (Life Technologies) usando 3,75 μ l de LIPOFECTAMINE RNAiMAX (Life Technologies) mediante el protocolo convencional del fabricante durante 48-72 h. Luego, las células se lavaron con medio normal y PBS y se recogieron en 0,5 ml de reactivo TRIZOL. El ARN total se purificó usando el kit de aislamiento de miARN mirVana (Ambion). Se retrotranscribieron dos μ g de ARN total usando un kit de retrotranscripción de ADNc de alta capacidad (Applied Biosystems) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los niveles de expresión de ARNm se evaluaron mediante PCR instantánea usando ensayos de expresión génica TAQMAN (Applied Biosystems) y se usó 40 ng de ADNc en cada reacción. Las reacciones se procesaron en una máquina de PCR instantánea ABI 7900HT. Los niveles de expresión se normalizaron al ARN 18S como control de carga endógeno.

Inmunoelctrotransferencia: Se transfectaron células UM-SCC-46 como se describe anteriormente y luego se lisaron en 100 μ l de tampón de lisis SDS (SDS al 1 %, Tris 50 mM, pH 8,0, EDTA 10 mM, inhibidor de proteasa (Roche) e inhibidor de fosfatasa Halt (Thermo Scientific)). Las muestras se sonicaron usando un sonicador de sonda cuatro veces durante 5 segundos cada una en hielo. Los lisados se aclararon mediante centrifugación a $14\,000 \times g$ durante 10 minutos a 4 °C. La concentración de proteína se determinó usando el ensayo de proteína BCA (Thermo Scientific). Se sometieron 25 μ g de proteína total a SDS-PAGE en un gel de Bis-Tris con gradiente de un 4-12 % (Invitrogen). La proteína se transfirió a una membrana de PVDF IMMOBILON-FL de 0,45 μ m (Millipore) usando el sistema de transferencia XCELL (Invitrogen). Los anticuerpos primarios usados para el sondeo se enumeran a continuación. Se usaron anticuerpos secundarios marcados con fluorescencia IRDye apropiados para la detección a una dilución de 1:5000 en un generador de imágenes fluorescentes cuantitativas ODYSSEY® usando el protocolo convencional del fabricante (LI-COR). Las bandas se cuantificaron usando el programa informático de imágenes Odyssey versión 3.0.30.

Anticuerpos primarios: EGFR dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 4405), FRZD2 dilución 1:500 (Abcam, n.º 52565), IRS1 dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 3407), ITGA6 dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 3750), IGF1R dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 3018), MET dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 8198), Pan-AKT dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 2920), pi-AKT Ser473 dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 4060) Src dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 2110), pi-Src Tyr416 dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 2101), Stat3 dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 9139), pi-Stat3 Ser727 dilución 1:1000 (Cell Signaling Technology, n.º 9134).

Ensayos de indicador de luciferasa: Los vectores que codifican la UTR 3' natural o mutante de EGFR, IGF1R, MET e IRS1 clonada detrás de la luciferasa de *Renilla* se adquirieron de Switchgear Genomics. Las células se sembraron a 1×10^4 por pocillo en placas de 96 pocillos de fondo blanco. Al día siguiente, se cotransfectaron 100 ng de vector y 15 nM de imitadores de microARN usando 0,2 μ l de reactivo de transfección DharmaFECT™ Duo (Thermo Scientific). Las células se incubaron durante 48 h. Para la normalización del número de células, se añadieron a cada pocillo 100 μ l de reactivo de ensayo de viabilidad celular CELLTITER-FLUOR (Promega) y las células se incubaron durante 30 min a 37 °C. La fluorescencia se leyó a 505 nm para evaluar la viabilidad celular. La actividad luciferasa se detectó usando el sistema de ensayo de luciferasa Renilla-Glo® (Promega) siguiendo las instrucciones del fabricante. La actividad luciferasa relativa se normalizó a las lecturas de viabilidad de fluorescencia para cada pocillo. Todas las mediciones representan la media de 6 réplicas en cada condición experimental.

Ensayo de proliferación XTT: Las células se sembraron a 2×10^3 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se transfectaron de forma inversa con oligonucleótido 15 nM durante 48 horas con 0,15 μ l de RNAiMAX como se describe anteriormente. Después de la transfección, se colocaron 200 μ l de control o medio que contenía cisplatino 2 μ M sobre las células durante 3 h. Las células se lavaron con medio tibio y luego se añadió medio nuevo. La proliferación celular se analizó en los días indicados con el kit de proliferación celular de hidrato de ácido 3'-[1-(fenilaminocarbonil)-3,4-tetrazolio]-bis (4-metoxi-6-nitro)bencenosulfónico de sodio (XTT) (Roche Diagnostics), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se añadió reactivo de ensayo XTT durante 4 horas antes del ensayo. En cada momento, se leyó la absorbancia a 450 nm y 655 nm, y se calculó la Δ de la absorbancia. Todos los momentos representan la media de 6 réplicas en cada condición experimental.

Ensayo de migración: Las células se sembraron a 4×10^5 células/pocillo en placas de 6 pocillos y se transfectaron de forma inversa con oligonucleótido 15 μ M durante 48 horas como se describe anteriormente. Después de la transfección, se reemplazó el medio y se creó una rayadura sin células en cada pocillo lateral y longitudinalmente con una punta de pipeta p 1000. Se tomaron imágenes de cuatro ubicaciones marcadas en

cada rayadura en varios momentos con un aumento 100x. El área de la rayadura se determinó usando el programa informático ImageJ (Schneider *et al.*, Nat. Methods 9:971-675, 2012), y se calculó el porcentaje de migración hacia el área vacía a lo largo del tiempo.

- 5 Ensayo de invasión MATRIGEL: Las células se sembraron en placas de 6 pocillos y se transfectaron de forma inversa con oligonucleótido 15 nM durante 48 horas con RNAiMAX como se describe anteriormente. Después de la transfección, las células se trataron con tripsina y se suspendieron en DMEM sin aditivos. Se prepararon cámaras de invasión reducida del factor de crecimiento BioCoat™ según las instrucciones del fabricante (BD Biosciences). Se colocaron 5×10^4 células en la parte superior de cada cámara. Los lados inferiores de las
- 10 cámaras se colocaron en pocillos que contenían 100 ng/ml de rEGF (Millipore) como quimioatrayente en DMEM. Las cámaras se incubaron durante 24 horas a 37 °C. Las células no invasoras se eliminaron frotando la parte superior de las membranas de invasión y las células invasoras se tiñeron con una solución de violeta de genciana al 0,05 % en metanol durante 1 min (Sigma). Las membranas de invasión se montaron en portaobjetos de vidrio y las células invasoras se contaron con un aumento 100x.

- 15 Ensayo de formación de colonias: Las células se sembraron en placas de 6 pocillos y se transfectaron de forma inversa con oligonucleótido 15 nM durante 48 horas con RNAiMAX como se describe anteriormente. Después de la transfección, las células se trataron con tripsina y se volvieron a sembrar en placas de 6 pocillos a densidades variables. Las células se incubaron durante 11 días y luego se tiñeron con una solución de violeta de genciana al 0,1 %/metanol. Se contaron las colonias con >50 células en tres pocillos replicados y se calculó la fracción de células supervivientes.
- 20

- Desarrollo de nanopartículas de miR30a que contienen fragmento de anticuerpo monocatenario antirreceptor de transferrina: Trilink Biotechnologies sintetizó ARNip fluorescente para someter a prueba la administración
- 25 *in vivo* de nanopartículas, y la formulación de los oligonucleótidos en liposomas se realizó como se describe previamente (Pirolo *et al.*, Hum. Gene Ther. 17:117-124, 2006; Pirolo *et al.*, Cancer Res. 67:2938-2943, 2007; Yu *et al.*, Nucleic Acids Res. 32:e48, 2004). En resumen, se hibridaron relaciones molares 1:1 de cada oligonucleótido de antisentido monocatenario y de sentido análogo. Se preparó liposoma catiónico (fosfato de dioleoiltrimetilamonio (DOTAP) y dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE), Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL) en una relación molar 1:1 mediante inyección de etanol (Xu *et al.*, Nul. Med. 7:723-734, 2001). El fragmento de anticuerpo monocatenario antirreceptor de transferrina (TfRscFv) se mezcló con el liposoma en la relación
- 30 previamente establecida de 1:30 (p/p) (Yu *et al.*, Nucleic Acids Res. 32:e48, 2004). Posteriormente, las moléculas de miARN se añadieron a la mezcla en una relación de 1 µg de ARNip a 7 nmol de liposoma, seguido del dimensionamiento y confirmación de las distribuciones de partículas de tamaño nanométrico de las formulaciones finales de inmunoliposomas mediante dispersión dinámica de luz con un Malvern Zetasizer 3000 HS (Malvern, Worcestershire, Reino Unido). Trilink Biotechnologies sintetizó el oligonucleótido imitador de miR-30a con una secuencia de hebra guía 5'-UGUAAACAUCUCGACUGGAAGCU-3' (SEQ ID NO: 1) y una secuencia de hebra pasajera 5'-AGCUUCCAGUCGGAUGUUUACACG-3' (SEQ ID NO: 72). Después de la hibridación, el imitador se formuló como se describe anteriormente. El imitador de miR30a en complejo se
- 35 denomina miR-30a-scL.
- 40

- Ensayos de dirección a y crecimiento de tumores *in vivo*: Todos los experimentos con animales se llevaron a cabo según protocolos aprobados por el Comité de uso y cuidado de animales del NIDCD, y cumplieron con la Guía para el cuidado y uso de recursos de animales de laboratorio, (1996) Consejo nacional de investigación.
- 45 A ratones hembra nu/nu atímicos de seis a ocho semanas de edad (obtenidos del Centro de Investigación y Desarrollo del Cáncer Frederick, NCI) se les inyectaron por vía subcutánea (sc) 2×10^6 células UM-SCC-46 en 100 µl de BME Cultrex de tipo 3 al 30 % (Trevigen)/medio MEM en la pata posterior derecha. Una vez que los tumores alcanzaron $\sim 100 \text{ mm}^3$ (aproximadamente 1 semana después de la inyección), los ratones se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos para el tratamiento (n = 4-5 ratones cada uno); Control y miR-30a-scL. Se administraron nueve dosis de 3 mg/kg de miR-30a-scL mediante inyección en la vena de la cola los lunes, miércoles y viernes (MWF) durante tres semanas para un total de nueve dosis. El tamaño del tumor se midió en MWF con calibradores externos y el volumen se calculó con la fórmula $V = \frac{1}{2} L \cdot W^2$. El crecimiento del tumor se presenta como el volumen medio con error típico de la media. Se realizó análisis de supervivencia de Kaplan-Meier en el programa informático GraphPad PRISM (v6.05). Las estadísticas de supervivencia se
- 50 realizaron mediante la prueba de orden logarítmico (Mantel-Cox) y el cociente de riesgos instantáneos se calculó mediante la prueba de orden logarítmico.
- 55

- Inmunofluorescencia: Los tumores frescos se incluyeron en OCT y luego se congelaron inmediatamente en hielo seco. Los tejidos tumorales se seccionaron en secciones de 5 µm. Las secciones se fijaron durante 7 minutos a -20 °C con metanol helado (EMD Millipore Corporation, Billerica, MA). Luego las muestras se lavaron tres veces con PBS. Las secciones se bloquearon mediante incubación en una cámara humidificadora a TA durante una hora con solución de bloqueo 1 (3 % de BSA + 0,05 % de Tween 20 en PBS 1X) seguida de una incubación de una hora con la solución de bloqueo 2 (10 % de NGS en PBS 1X). Luego, las secciones se incubaron con anticuerpo primario diluido en solución de dilución (1 % de BSA + 0,1 % de Tween 20 en PBS 1X) durante la noche a 4 °C en una cámara de humidificación. Después de lavar las células cinco veces con PBS 1X, los portaobjetos se montaron con medio de montaje Vectashield con DAPI (Vector Laboratories Inc,
- 60
- 65

Burlingame, CA) en la oscuridad. Las muestras se analizaron en un microscopio confocal LSM 780 (Carl Zeiss Microimaging, Thornwood, NY). Los datos confocales se analizaron usando el programa informático Zen 2012 SP1 (edición negra) y el grado de intensidad del color se determinó utilizando el programa informático Zen 2012 (edición azul).

5

Ejemplo 2

Expresión disminuida de miembros de la familia de miR-30 en tejido HNSCC

- 10 Para examinar miARN (miR) expresados diferencialmente en tejidos HNSCC, se analizaron datos de secuenciación de miR de 279 HNSCC con 16 muestras de control de mucosa escamosa publicados por TCGA (Cancer Genome Atlas 2015). A través de análisis de expresión diferencial entre muestras de tumor y mucosa, se identificaron 129 miR, incluyendo 77 miR aumentados y 53 disminuidos (FDR <0,2; tabla 3, figura 1; figura 2A y 2B). Estas observaciones se validaron mediante secuenciación de miR y análisis de expresión de un panel
- 15 independiente de 13 muestras de HNSCC de la cavidad bucal y 9 muestras de mucosa coincidentes de la Universidad de Michigan (tabla 4). La comparación por pares de miR significativamente alterados y validados en ambos conjuntos de datos descubrió una expresión disminuida de varios miembros de la familia de miR-30 y varios miR identificados en estudios anteriores (figura 2C y 2D; tablas 3 y 4). En particular, los miembros de la familia de miR-30-5p presentaron una expresión disminuida al menos 2 veces que abarca >70 % de las
- 20 muestras en ambas cohortes.

Tabla 3. miARN expresados diferencialmente en HNSCC (conjunto TCGA)

miARN	ID MIMAT	Geneind	Puntuación	Factor de cambio	val. q
Expresión aumentada					
hsa-miR-21-5p	MIMAT0000076	12	1799,9	2,848	0
hsa-miR-196b-5p	MIMAT0001080	101	1719,9	6,054	0
hsa-miR-455-3p	MIMAT0004784	126	1714,45	5,598	0
hsa-miR-106b-3p	MIMAT0004672	150	1699,15	2,131	0
hsa-let-7d-3p	MIMAT0004484	142	1658,35	1,833	0
hsa-miR-151a-5p	MIMAT0004697	123	1634,75	2,301	0
hsa-miR-423-5p	MIMAT0004748	124	1620,05	2,205	0
hsa-miR-424-5p	MIMAT0001341	103	1554,25	2,837	0
hsa-miR-181b-5p	MIMAT0000257	43	1513,55	1,724	0
hsa-miR-1307-3p	MIMAT0005951	132	1488,5	1,985	0
hsa-miR-320a	MIMAT0000510	83	1418,85	1,965	0
hsa-miR-185-5p	MIMAT0000455	79	1402,75	1,853	0
hsa-let-7d-5p	MIMAT0000065	4	1402,05	1,483	0
hsa-miR-2355-5p	MIMAT0016895	133	1388,9	2,368	0
hsa-miR-193b-3p	MIMAT0002819	110	1374,6	3,458	0
hsa-miR-183-5p	MIMAT0000261	45	1361,35	2,469	0
hsa-miR-25-3p	MIMAT0000081	16	1347,85	1,547	0
hsa-miR-99b-3p	MIMAT0004678	151	1333,4	1,798	0
hsa-miR-181a-5p	MIMAT0000256	42	1325,4	1,582	0
hsa-miR-182-5p	MIMAT0000259	44	1308,85	2,178	0
hsa-miR-93-5p	MIMAT0000093	24	1282,15	2,317	0
hsa-miR-589-5p	MIMAT0004799	128	1276,8	1,686	0
hsa-miR-28-3p	MIMAT0004502	117	1236,75	1,574	0
hsa-miR-103a-3p	MIMAT0000101	30	1230,4	1,437	0
hsa-miR-92b-3p	MIMAT0003218	112	1223,3	2,018	0
hsa-miR-146b-5p	MIMAT0002809	109	1221,2	1,906	0
hsa-miR-944	MIMAT0004987	131	1211,9	1,928	0
hsa-miR-197-3p	MIMAT0000227	33	1171,35	1,551	0
hsa-miR-542-3p	MIMAT0003389	115	1155,65	1,97	0
hsa-miR-92a-3p	MIMAT0000092	23	1132,25	1,612	0
hsa-miR-423-3p	MIMAT0001340	102	1129,25	1,848	0
hsa-miR-708-5p	MIMAT0004926	130	1119,8	1,866	0
hsa-miR-15b-5p	MIMAT0000417	57	1097,6	1,473	0
hsa-miR-148b-3p	MIMAT0000759	99	1097,4	1,442	0
hsa-miR-484	MIMAT0002174	107	1084,6	1,556	0
hsa-miR-342-3p	MIMAT0000753	97	1063,8	1,875	0
hsa-let-7i-5p	MIMAT0000415	56	1049,75	1,504	0
hsa-miR-224-5p	MIMAT0000281	53	1038	2,3	0
hsa-miR-16-5p	MIMAT0000069	8	1025,6	1,404	0
hsa-miR-210-3p	MIMAT0000267	49	1022,25	2,406	0

ES 2 986 046 T3

hsa-miR-222-3p	MIMAT0000279	51	1021,1	1,716	0
hsa-miR-151a-3p	MIMAT0000757	98	1020,25	1,43	0
hsa-miR-181a-2-3p	MIMAT0004558	145	1015,45	1,452	0
hsa-miR-106b-5p	MIMAT0000680	86	993	1,334	0
hsa-miR-17-5p	MIMAT0000070	9	991,5	1,816	0
hsa-let-7e-5p	MIMAT0000066	5	983,4	1,6	0
hsa-miR-193a-5p	MIMAT0004614	121	929,5	1,591	0
hsa-miR-15a-5p	MIMAT0000068	7	929	1,501	0
hsa-miR-708-3p	MIMAT0004927	154	915,35	1,55	0
hsa-miR-132-3p	MIMAT0000426	63	898,15	1,336	0
hsa-miR-181a-3p	MIMAT0000270	136	878,8	1,372	0
hsa-miR-191-5p	MIMAT0000440	70	859,15	1,539	0
hsa-miR-9-5p	MIMAT0000441	71	810,95	2,349	0
hsa-miR-99b-5p	MIMAT0000689	89	778,8	1,323	0
hsa-miR-574-3p	MIMAT0003239	113	738,3	1,38	0
hsa-miR-205-5p	MIMAT0000266	48	721,95	1,562	0
hsa-let-7i-3p	MIMAT0004585	146	708,95	1,506	0,113
hsa-miR-365a-3p	MIMAT0000710	92	695,85	1,406	0,212
hsa-miR-223-3p	MIMAT0000280	52	690	1,721	0,212
hsa-miR-20a-5p	MIMAT0000075	11	687,7	1,623	0,212
hsa-miR-425-5p	MIMAT0003393	116	678,25	1,683	0,212
hsa-miR-200c-3p	MIMAT0000617	84	667,55	1,401	0,212
hsa-miR-625-3p	MIMAT0004808	153	655,6	1,371	0,212
hsa-miR-155-5p	MIMAT0000646	85	631,85	1,358	0,311
hsa-miR-192-5p	MIMAT0000222	32	629,6	1,233	0,311
hsa-miR-21-3p	MIMAT0004494	143	615,1	1,748	0,406
hsa-miR-186-5p	MIMAT0000456	80	613,95	1,177	0,406
hsa-miR-23a-3p	MIMAT0000078	14	578,15	1,224	0,602
hsa-miR-200c-5p	MIMAT0004657	149	536,1	1,448	0,787
hsa-miR-98-5p	MIMAT0000096	25	525,65	1,1	0,787
hsa-miR-629-5p	MIMAT0004810	129	505,75	1,178	0,974
hsa-miR-24-3p	MIMAT0000080	15	482,85	1,075	1,311
hsa-miR-146a-5p	MIMAT0000449	76	477,95	1,237	1,311
hsa-miR-221-3p	MIMAT0000278	50	477	1,227	1,311
hsa-miR-142-3p	MIMAT0000434	66	430,8	1,419	1,838
hsa-miR-28-5p	MIMAT0000085	20	402,7	1,09	2,323
hsa-miR-22-3p	MIMAT0000077	13	391,85	1,163	2,479
Expresión disminuida					
hsa-miR-101-3p	MIMAT0000099	28	-1893,1	0,269	0
hsa-miR-100-5p	MIMAT0000098	27	-1867,35	0,259	0
hsa-miR-126-5p	MIMAT0000444	137	-1849,95	0,417	0
hsa-miR-375	MIMAT0000728	93	-1819,6	0,029	0
hsa-miR-99a-5p	MIMAT0000097	26	-1811,3	0,207	0
hsa-let-7c-5p	MIMAT0000064	3	-1629,3	0,286	0
hsa-miR-30a-5p	MIMAT0000087	22	-1600,15	0,391	0
hsa-miR-30e-5p	MIMAT0000692	90	-1598	0,522	0
hsa-miR-27b-3p	MIMAT0000419	59	-1545,15	0,414	0
hsa-miR-199b-5p	MIMAT0000263	46	-1544,4	0,398	0
hsa-miR-378a-5p	MIMAT0000731	139	-1537,6	0,396	0
hsa-miR-125b-5p	MIMAT0000423	61	-1530,95	0,467	0
hsa-miR-338-3p	MIMAT0000763	100	-1482,1	0,397	0
hsa-miR-29a-3p	MIMAT0000086	21	-1469,7	0,474	0
hsa-miR-29c-3p	MIMAT0000681	87	-1439,25	0,286	0
hsa-miR-30a-3p	MIMAT0000088	135	-1417,6	0,332	0
hsa-miR-26a-5p	MIMAT0000082	17	-1361,5	0,595	0
hsa-miR-140-3p	MIMAT0004597	119	-1347,05	0,579	0
hsa-miR-378a-3p	MIMAT0000732	94	-1330,5	0,489	0
hsa-miR-10b-5p	MIMAT0000254	40	-1282	0,485	0
hsa-miR-23b-3p	MIMAT0000418	58	-1268,4	0,656	0
hsa-miR-203a-3p	MIMAT0000264	47	-1176,7	0,409	0
hsa-miR-381-3p	MIMAT0000736	96	-1054,75	0,376	0
hsa-miR-486-5p	MIMAT0002177	108	-983,9	0,474	0
hsa-miR-379-5p	MIMAT0000733	95	-980,65	0,527	0

hsa-miR-30e-3p	MIMAT0000693	138	-881,8	0,687	0
miARN	ID MIMAT	Geneind	Puntuación	Factor de cambio	val. q
hsa-miR-26b-5p	MIMAT0000083	18	-879,55	0,691	0
hsa-miR-199a-3p	MIMAT0000232	35	-874,45	0,712	0
hsa-miR-199b-3p	MIMAT0004563	118	-869,1	0,71	0
hsa-miR-582-3p	MIMAT0004797	127	-720,2	0,693	0,964
hsa-miR-451a	MIMAT0001631	105	-692,2	0,458	1,299
hsa-miR-126-3p	MIMAT0000445	73	-639,75	0,709	2,003
hsa-miR-143-3p	MIMAT0000435	67	-633,15	0,651	2,003
hsa-miR-199a-5p	MIMAT0000231	34	-611,7	0,695	2,633
hsa-miR-29b-3p	MIMAT0000100	29	-580,2	0,837	2,633
hsa-miR-10a-5p	MIMAT0000253	39	-569,5	0,596	2,758
hsa-miR-206	MIMAT0000462	82	-535,9	0,05	2,88
hsa-miR-145-5p	MIMAT0000437	68	-535,8	0,793	2,88
hsa-miR-34a-5p	MIMAT0000255	41	-508,05	0,787	3,023
hsa-miR-127-5p	MIMAT0004604	120	-497,3	0,875	3,023
hsa-miR-127-3p	MIMAT0000446	74	-483,45	0,779	3,137
hsa-miR-30d-5p	MIMAT0000245	38	-475,45	0,846	3,274
hsa-miR-148a-3p	MIMAT0000243	36	-466,6	0,899	3,274
hsa-miR-144-5p	MIMAT0004600	148	-412,75	0,565	3,864
hsa-miR-30b-5p	MIMAT0000420	60	-404,5	0,895	3,992
hsa-miR-200b-3p	MIMAT0000318	54	-390,75	0,933	4,118
hsa-miR-17-3p	MIMAT0000071	134	-349,75	0,852	4,713
hsa-miR-374a-3p	MIMAT0004688	152	-314,95	0,808	5,143
hsa-miR-532-5p	MIMAT0002888	111	-276,15	0,894	5,982
hsa-miR-149-5p	MIMAT0000450	77	-271,75	0,823	5,982
hsa-miR-150-5p	MIMAT0000451	78	-195	0,779	7,762
hsa-let-7b-5p	MIMAT0000063	2	-184,35	0,97	8,004
hsa-let-7a-5p	MIMAT0000062	1	-174,75	0,898	8,242

Tabla 4. Validación de miARN expresados diferencialmente en HNSCC (conjunto UMSC)

miARN	ID MIMAT	Geneind	Puntuación	Factor de cambio	val. q
Expresión aumentada					
hsa-miR-517a-3p	MIMAT0002852	1414	54,65	3,3E+09	0
hsa-miR-517c-3p	MIMAT0002866	1416	54,55	1,5E+09	0
hsa-miR-517b-3p	MIMAT0002857	1415	52,95	3,3E+09	0
hsa-miR-132-5p	MIMAT0004594	167	49,8	3,551	0
hsa-miR-542-5p	MIMAT0003340	1467	46,5	4,807	0
hsa-miR-223-5p	MIMAT0004570	365	45,5	10,963	0
hsa-miR-29b-1-5p	MIMAT0004514	415	45,35	4,115	0
hsa-miR-2355-5p	MIMAT0016895	373	42,1	2,314	4,332
hsa-miR-196a-5p	MIMAT0000226	292	41,3	11,348	4,332
hsa-miR-196b-5p	MIMAT0001080	294	41,15	14,732	4,332
hsa-miR-181a-3p	MIMAT0000270	241	40,4	4,319	5,56
hsa-miR-181a-2-3p	MIMAT0004558	242	39,3	4,229	5,56
hsa-miR-941	MIMAT0004984	1722	39,15	4,512	5,56
hsa-miR-503-5p	MIMAT0002874	1382	39,05	18,902	5,56
hsa-miR-132-3p	MIMAT0000426	166	38,4	1,889	6,749
hsa-miR-520f-3p	MIMAT0002830	1445	36,75	2,5E+08	6,749
hsa-miR-9-5p	MIMAT0000441	1701	36,5	11,27	6,749
hsa-miR-519d-3p	MIMAT0002853	1434	35,95	3,7E+08	7,95
hsa-miR-515-3p	MIMAT0002827	1407	35,8	2,6E+08	7,95
hsa-miR-519e-3p	MIMAT0002829	1435	35,15	1,5E+08	7,95
hsa-miR-520g-3p	MIMAT0002858	1446	35,1	3,1E+08	7,95
hsa-miR-520h	MIMAT0002867	1447	35	4,2E+08	7,95
hsa-miR-301b-3p	MIMAT0004958	421	34,95	2,786	7,95
hsa-miR-424-5p	MIMAT0001341	825	34,75	3,119	7,95
hsa-miR-21-5p	MIMAT0000076	332	34,55	8,413	7,95
hsa-miR-455-5p	MIMAT0003150	1068	34,5	2,6	7,95
hsa-miR-542-3p	MIMAT0003389	1466	34,15	2,303	8,87
hsa-miR-185-5p	MIMAT0000455	254	33,75	2,669	9,747
hsa-miR-187-3p	MIMAT0000262	258	33,05	4,158	11,136
hsa-miR-28-3p	MIMAT0004502	400	32,15	2,285	11,764

hsa-miR-450b-5p	MIMAT0004909	1024	32,05	2E+08	11,764
hsa-let-7i-5p	MIMAT0000415	16	32	3,185	11,764
hsa-miR-455-3p	MIMAT0004784	1067	31,45	3,077	13,442
hsa-miR-1256	MIMAT0005907	92	31,1	2,352	15,247
hsa-miR-518d-5p	MIMAT0005456	1423	29,65	1,3E+08	20,059
hsa-miR-34c-5p	MIMAT0000686	614	29,6	2,194	20,059
hsa-miR-146a-3p	MIMAT0004608	203	29,3	3,4E+08	20,059
hsa-miR-214-5p	MIMAT0004564	347	29,15	2,011	20,059
hsa-miR-29a-5p	MIMAT0004503	413	29,15	1,772	20,059
Expresión disminuida					
hsa-miR-100-5p	MIMAT0000098	19	-53,5	0,548	0
hsa-miR-99a-5p	MIMAT0000097	1730	-52,65	0,408	0
hsa-miR-375	MIMAT0000728	741	-51,5	0,036	0
hsa-miR-204-5p	MIMAT0000265	319	-50,5	0,103	0
hsa-miR-92b-3p	MIMAT0003218	1710	-48,4	0,352	0
hsa-miR-423-5p	MIMAT0004748	824	-47,25	0,553	0
hsa-miR-1247-5p	MIMAT0005899	82	-46,75	0,092	0
hsa-miR-139-5p	MIMAT0000250	187	-46,15	0,344	0
hsa-miR-99a-3p	MIMAT0004511	1731	-45,75	0,267	0
hsa-miR-125b-2-3p	MIMAT0004603	99	-45,65	0,302	0
hsa-miR-30d-5p	MIMAT0000245	445	-44,15	0,318	0
hsa-miR-193a-3p	MIMAT0000459	284	-42,75	0,321	0
hsa-miR-365a-3p	MIMAT0000710	657	-42,4	0,393	0
hsa-miR-378b	MIMAT0014999	750	-40,9	0,307	0
hsa-miR-328-3p	MIMAT0000752	585	-40,35	0,42	0
hsa-miR-338-3p	MIMAT0000763	595	-40,1	0,276	0
hsa-miR-497-5p	MIMAT0002820	1368	-39,95	0,319	0
miARN	ID MIMAT	Geneind	Puntuación	Factor de cambio	val. q
hsa-miR-92a-3p	MIMAT0000092	1707	-39,8	0,639	0
hsa-miR-378e	MIMAT0018927	753	-39,65	0,347	0
hsa-miR-30a-5p	MIMAT0000087	438	-39,4	0,452	0
hsa-miR-26a-5p	MIMAT0000082	391	-38,85	0,435	0
hsa-miR-195-5p	MIMAT0000461	290	-38,7	0,429	0
hsa-miR-30c-5p	MIMAT0000244	442	-37,9	0,386	0
hsa-miR-210-3p	MIMAT0000267	334	-37,3	0,477	2,822
hsa-miR-30e-5p	MIMAT0000692	447	-37,15	0,434	2,822
hsa-miR-423-3p	MIMAT0001340	823	-37,05	0,513	2,822
hsa-miR-30b-5p	MIMAT0000420	440	-36,8	0,488	2,822
hsa-miR-136-3p	MIMAT0004606	181	-35,4	0,319	2,822
hsa-miR-200b-5p	MIMAT0004571	313	-35,4	0,548	2,822
hsa-miR-24-1-5p	MIMAT0000079	381	-35,4	0,641	2,822
hsa-miR-378d	MIMAT0018926	752	-35,1	0,365	2,822
hsa-miR-378g	MIMAT0018937	755	-34,95	0,364	2,822
hsa-miR-887-3p	MIMAT0004951	1692	-34,85	0,249	2,822
hsa-miR-205-5p	MIMAT0000266	320	-34,5	0,405	2,822
hsa-miR-885-5p	MIMAT0004947	1691	-34,4	0	2,822
hsa-miR-211-5p	MIMAT0000268	335	-34	0,074	2,822
hsa-miR-378f	MIMAT0018932	754	-33,95	0,361	2,822
hsa-miR-222-3p	MIMAT0000279	362	-33,8	0,596	2,822
hsa-miR-23c	MIMAT0018000	379	-33,65	0,598	2,822
hsa-miR-378c	MIMAT0016847	751	-33,45	0,516	2,822
hsa-miR-376a-3p	MIMAT0000729	742	-32,85	0,483	4,58
hsa-miR-335-5p	MIMAT0000765	591	-32,75	0,218	4,58
hsa-miR-378i	MIMAT0019074	757	-32,5	0,558	4,58
hsa-miR-378a-3p	MIMAT0000732	748	-32,45	0,477	4,58
hsa-miR-378h	MIMAT0018984	756	-32,45	0,296	4,58
hsa-miR-125b-5p	MIMAT0000423	97	-32,4	0,624	4,58
hsa-miR-381-3p	MIMAT0000736	762	-32,35	0,129	4,58
hsa-miR-24-3p	MIMAT0000080	380	-32,3	0,856	4,58
hsa-miR-486-3p	MIMAT0004762	1351	-32,1	0,172	4,58
hsa-miR-664a-3p	MIMAT0005949	1647	-32,1	0,34	4,58
hsa-miR-532-3p	MIMAT0004780	1461	-32	0,37	4,58
hsa-miR-30a-3p	MIMAT0000088	439	-31,65	0,429	4,58

hsa-miR-95-3p	MIMAT0000094	1726	-31,5	0,444	5,174
hsa-miR-337-5p	MIMAT0004695	594	-30,9	0,251	5,478
hsa-miR-361-5p	MIMAT0000703	627	-29,85	0,601	7,87
hsa-miR-874-3p	MIMAT0004911	1683	-29,85	0,397	7,87
hsa-miR-200a-3p	MIMAT0000682	310	-29,55	0,326	8,977
hsa-miR-145-5p	MIMAT0000437	198	-29,25	0,65	9,861
hsa-miR-4284	MIMAT0016915	862	-28,7	0,281	10,464
hsa-miR-377-5p	MIMAT0004689	747	-28,65	0,133	10,464
hsa-miR-30e-3p	MIMAT0000693	448	-28,55	0,585	10,464
hsa-miR-33b-5p	MIMAT0003301	601	-28,2	0,313	10,746
hsa-miR-744-5p	MIMAT0004945	1666	-28,2	0,396	10,746
hsa-miR-186-5p	MIMAT0000456	256	-27,35	0,516	13,582
hsa-miR-499a-5p	MIMAT0002870	1372	-27	0	14,255
hsa-miR-141-3p	MIMAT0000432	190	-26,75	0,471	14,255
hsa-miR-26b-5p	MIMAT0000083	394	-26,7	0,667	14,255
hsa-miR-181c-5p	MIMAT0000258	244	-26,45	0,399	14,255
hsa-miR-133b	MIMAT0000770	173	-26,35	0,106	14,255
hsa-miR-203a-3p	MIMAT0000264	318	-26,3	0,51	14,255
hsa-miR-136-5p	MIMAT0000448	180	-26,25	0,628	14,968
hsa-miR-376c-3p	MIMAT0000720	745	-25,95	0,294	14,968
hsa-miR-3 622a-5p	MIMAT0018003	647	-25,9	0	14,968
hsa-miR-154-5p	MIMAT0000452	226	-25,85	0,397	14,968
hsa-miR-133a-3p	MIMAT0000427	172	-25,75	0,099	14,968
hsa-miR-574-3p	MIMAT0003239	1543	-25,7	0,434	14,968
hsa-miR-1280	MIMAT0005946	132	-25,65	0,425	14,968
hsa-miR-149-5p	MIMAT0000450	214	-25,65	0,473	14,968
hsa-miR-214-3p	MIMAT0000271	346	-25,6	0,492	14,968
hsa-miR-1291	MIMAT0005881	146	-25,3	0	16,057
hsa-miR-126-5p	MIMAT0000444	101	-25,2	0,627	16,057
hsa-miR-484	MIMAT0002174	1348	-25,15	0,525	16,057
hsa-miR-23a-3p	MIMAT0000078	375	-24,9	0,79	16,057
hsa-miR-99b-5p	MIMAT0000689	1732	-24,9	0,676	16,057
hsa-miR-199b-5p	MIMAT0000263	304	-24,7	0,562	16,435
hsa-miR-1271-5p	MIMAT0005796	118	-24,45	0,624	16,686
hsa-miR-1268a	MIMAT0005922	111	-24,3	0	16,933
hsa-miR-186-3p	MIMAT0004612	257	-24,1	0,396	17,415
hsa-miR-3615	MIMAT0017994	635	-24,1	0,37	17,415
hsa-miR-422a	MIMAT0001339	822	-23,7	0	18,026
hsa-miR-1249-3p	MIMAT0005901	84	-23,4	0,287	18,627

Ejemplo 3

Los miembros de la familia de miR-30 inhiben la proliferación de HNSCC

5

Se realizó un cribado de genómica funcional independiente después de transfectar una colección de 781 miR en la línea de HNSCC humana UM-SCC-1 para identificar miR candidatos que inhibían la proliferación (tabla 5). Para enriquecer los resultados del cribado de miR con relevancia para la biología de la enfermedad, los miR que presentaron una alta actividad antiproliferativa (puntuación MAD <-1) se filtraron frente a los miR que también presentaban expresión reducida mediante perfiles de secuencia en conjuntos de datos de validación tanto de TCGA como de UMSC (figura 3A y 3B). Se identificaron nueve miR con expresión disminuida en muestras de tumor que presentaban actividad inhibidora significativa cuando se reexpresaron durante el cribado genómico funcional (figura 3C). Sorprendentemente, varios miembros de la familia de miR-30-5p estuvieron nuevamente presentes entre esta clase altamente seleccionada de miR, lo que respalda la importancia biológica y funcional de los miembros de la familia de miR-30-5p en HNSCC. Entre estos, miR-30a-5p y miR-30e-5p fueron los más altamente expresados en muestras de mucosa y estaban disminuidos entre las muestras de tumor (figura 3D).

15

Tabla 5. miARN candidatos que inhiben la proliferación de HNSCC

Gen	Señal	Puntuación MAD	ID MIMAT
hsa-miR-29b-1-5p	4,187766	-2,2489101	MIMAT0004514
hsa-miR-593-5p	8,12201	-2,0705311	MIMAT0003261
hsa-miR-603	9,64568	-2,0014477	MIMAT0003271
hsa-miR-137	10,4889	-1,9632159	MIMAT0000429

ES 2 986 046 T3

Gen	Señal	Puntuación MAD	ID MIMAT
hsa-miR-217	10,51062	-1,9622312	MIMAT0000274
hsa-miR-570-3p	10,55155	-1,9603754	MIMAT0003235
hsa-miR-27b-5p	13,10053	-1,8448044	MIMAT0004588
hsa-miR-216b-5p	13,18732	-1,8408692	MIMAT0004959
hsa-miR-589-5p	14,47781	-1,7823586	MIMAT0004799
hsa-miR-9-5p	14,53328	-1,7798433	MIMAT0000441
hsa-miR-145-5p	15,30917	-1,7446645	MIMAT0000437
hsa-miR-96-5p	15,68504	-1,7276227	MIMAT0000095
hsa-miR-657	15,87208	-1,7191421	MIMAT0003335
hsa-miR-608	17,80167	-1,6316544	MIMAT0003276
hsa-miR-619-3p	18,3711	-1,6058364	MIMAT0003288
hsa-miR-548o-3p	18,76871	-1,5878087	MIMAT0005919
hsa-miR-26a-5p	18,84667	-1,584274	MIMAT0000082
hsa-miR-633	19,39796	-1,5592783	MIMAT0003303
hsa-miR-542-5p	19,68481	-1,5462724	MIMAT0003340
hsa-miR-330-3p	20,29708	-1,5185119	MIMAT0000751
hsa-miR-1272	20,4797	-1,5102322	MIMAT0005925
hsa-miR-136-5p	20,69347	-1,5005399	MIMAT0000448
hsa-miR-1236-3p	20,87731	-1,4922045	MIMAT0005591
hsa-miR-375	21,15436	-1,4796432	MIMAT0000728
hsa-miR-875-5p	21,1604	-1,4793693	MIMAT0004922
hsa-miR-802	21,51106	-1,4634702	MIMAT0004185
hsa-miR-1270	21,73955	-1,4531104	MIMAT0005924
hsa-miR-491-5p	21,80712	-1,4500466	MIMAT0002807
hsa-miR-548d-3p	21,98693	-1,441894	MIMAT0003323
hsa-miR-1201	22,4862	-1,4192573	muerto
hsa-miR-1826	22,56671	-1,4156069	muerto
hsa-miR-888-5p	22,91194	-1,3999539	MIMAT0004916
hsa-miR-513a-3p	23,13434	-1,3898705	MIMAT0004777
hsa-miR-612	23,63225	-1,367295	MIMAT0003280
hsa-miR-30c-5p	23,73198	-1,3627735	MIMAT0000244
hsa-miR-1299	23,87786	-1,356159	MIMAT0005887
hsa-miR-1975	24,18666	-1,3421584	muerto
hsa-miR-24-1-5p	24,37669	-1,3335424	MIMAT0000079
hsa-miR-340-5p	24,59735	-1,3235374	MIMAT0004692
hsa-miR-138-2-3p	24,66306	-1,320558	MIMAT0004596
hsa-miR-541-5p	24,8673	-1,3112979	MIMAT0004919
hsa-miR-142-3p	25,09606	-1,300926	MIMAT0000434
hsa-miR-544a	25,14354	-1,2987732	MIMAT0003164
hsa-miR-567	25,30231	-1,2915744	MIMAT0003231
hsa-miR-146a-5p	25,30952	-1,2912476	MIMAT0000449
hsa-miR-630	25,58343	-1,2788285	MIMAT0003299
hsa-miR-18a-5p	25,87251	-1,2657217	MIMAT0000072
hsa-miR-616-3p	25,9572	-1,2618816	MIMAT0004805
hsa-miR-215-5p	26,08764	-1,2559675	MIMAT0000272
hsa-miR-578	26,42948	-1,2404685	MIMAT0003243
hsa-miR-30b-5p	26,86759	-1,2206044	MIMAT0000420
hsa-miR-186-5p	27,10501	-1,2098401	MIMAT0000456
hsa-miR-590-5p	27,12312	-1,2090186	MIMAT0003258
hsa-miR-518c-5p	27,12724	-1,2088321	MIMAT0002847
hsa-miR-7-5p	27,31268	-1,200424	MIMAT0000252
hsa-miR-342-3p	27,32802	-1,1997288	MIMAT0000753
hsa-miR-30a-5p	27,47793	-1,1929316	MIMAT0000087
hsa-miR-30e-5p	27,52222	-1,1909236	MIMAT0000692
hsa-miR-153-3p	27,61561	-1,1866895	MIMAT0000439
hsa-miR-139-5p	27,66021	-1,1846672	MIMAT0000250
hsa-miR-421	27,67275	-1,1840984	MIMAT0003339
hsa-miR-522-3p	27,88499	-1,1744755	MIMAT0002868
hsa-miR-580-3p	27,89437	-1,1740503	MIMAT0003245
hsa-miR-642a-5p	28,16026	-1,1619948	MIMAT0003312
hsa-miR-200c-3p	28,36733	-1,152606	MIMAT0000617
hsa-miR-503-5p	28,56057	-1,1438447	MIMAT0002874

Gen	Señal	Puntuación MAD	ID MIMAT
hsa-miR-17-5p	28,65503	-1,139562	MIMAT0000070
hsa-miR-125b-2-3p	28,79045	-1,1334221	MIMAT0004603
hsa-miR-20a-5p	28,9898	-1,1243834	MIMAT0000075
hsa-miR-205-5p	29,07725	-1,1204183	MIMAT0000266
hsa-miR-618	29,10751	-1,1190463	MIMAT0003287
hsa-miR-30e-3p	29,33285	-1,1088292	MIMAT0000692
hsa-miR-124-5p	29,93332	-1,0816041	MIMAT0004591
hsa-miR-29a-5p	30,21309	-1,0689194	MIMAT0004503
hsa-miR-129-2-3p	30,31542	-1,0642796	MIMAT0004605
hsa-miR-599	30,36961	-1,0618225	MIMAT0003267
hsa-miR-191-5p	30,40741	-1,0601087	MIMAT0000440
hsa-miR-548b-5p	30,48026	-1,0568057	MIMAT0004798
hsa-miR-1244	30,49915	-1,0559492	MIMAT0005896
hsa-miR-452-5p	30,56421	-1,0529995	MIMAT0001635
hsa-miR-664a-3p	30,57374	-1,0525673	MIMAT0005949
hsa-miR-1184	30,70965	-1,0464051	MIMAT0005 829
hsa-miR-586	30,75168	-1,0444994	MIMAT0003252
hsa-miR-573	30,87112	-1,0390839	MIMAT0003238
hsa-miR-885-5p	30,99188	-1,0336087	MIMAT0004947
hsa-miR-548h-5p	31,03215	-1,031783	MIMAT0005928
hsa-miR-542-3p	31,06854	-1,0301329	MIMAT0003389
hsa-miR-338-3p	31,07923	-1,0296484	MIMAT0000763
hsa-miR-200b-3p	31,15171	-1,0263622	MIMAT0000318
hsa-miR-651-5p	31,20514	-1,0239397	MIMAT0003321
hsa-miR-155-5p	31,22419	-1,0230761	MIMAT0000646
hsa-miR-526b-5p	31,3515	-1,0173037	MIMAT0002835
hsa-miR-1178-3p	31,37379	-1,0162931	MIMAT0005823
hsa-miR-449b-5p	31,38433	-1,015815	MIMAT0003327
hsa-miR-216a-5p	31,44441	-1,0130911	MIMAT0000273
hsa-miR-224-5p	31,57519	-1,0071617	MIMAT0000281
hsa-miR-19b-3p	31,59959	-1,0060554	MIMAT0000074
hsa-miR-506-3p	31,61057	-1,0055571	MIMAT0002878
hsa-miR-30d-5p	31,62978	-1,0046861	MIMAT0000245
hsa-miR-26b-5p	31,69762	-1,0016106	MIMAT0000083

Ejemplo 4

- 5 Correlación de dianas de miARN expresadas inversamente y ARNm de señalización procrecimiento y metástasis

10 Para identificar la red de ARNm diana regulados por varios miARN en HNSCC y subyacentes a su función potencial, la expresión reducida de miR-30a-5p, miR-30b-5p, miR-30d-5p, miR-30e-5p, miR-26a-5p, miR-26b-5p, miR-145-5p, miR-205-5p y miR-375 se analizaron cada una para determinar su correlación inversa con ARNm de importancia potencialmente biológica en cáncer. Se realizó análisis de regresión lineal entre cada

15 Como ejemplo, se detectaron 91 ARNm expresados inversamente a miR-30a usando un FDR $\leq 0,05$, y también contenían sitios de unión previstos o verificados para miR-30a-5p en la UTR 3' en función del filtro de diana de microARN del Ingenuity Pathway Analysis (IPA) (tabla 6). La anticorrelación significativa de miR-30a-5p con varios genes diana representativos se presenta en la figura 4. La expresión de miR-30a-5p presentó una relación inversa con varios oncogenes que previamente mostraron sobreexpresarse en HNSCC, incluyendo

20 *EGFR*, *MET*, *ITGA6* y *SERPINE1* (figura 4) (Van Waes *et al.*, Cancer Res. 55: 5434-5444, 1995; Van Waes *et al.*, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 77:447-454, 2010; Freudlsperger *et al.*, Expert Opin. Ther. Targets 15:63-74, 2011).

Tabla 6. ARNm expresados inversamente y que contienen sitios de unión previstos o validados a miR-30a-5p

Fuente	Confianza	Símbolo	est. t	valor de p	valor de q
TarBase, TargetScan Human	Observado experimentalmente, alto (previsto)	NT5E	-2,67544	0,00785943	0,042443335
TarBase, TargetScan	Observado experimentalmente, alto	SLC7A11	-7,34317	1,8519E-12	2,47526E-10

ES 2 986 046 T3

Fuente	Confianza	Símbolo	est. t	valor de p	valor de q
Human	(previsto)				
TarBase	Observado experimentalmente	WNT5A	-3,21244	0,00145446	0,011477956
TarBase	Observado experimentalmente	MET	-4,49672	9,7643E-06	0,000186635
miRecords	Observado experimentalmente	STX1A	-5,73134	2,3616E-08	1,04475E-06
TargetScan Human	Alto (previsto)	ADAM12	-5,8907	1,0009E-08	4,93575E-07
TargetScan Human	Alto (previsto)	ADAMTS1 4	-4,448	1,2095E-05	0,000223621
TargetScan Human	Alto (previsto)	ADAMTS6	-3,11958	0,00198133	0,014647111
TargetScan Human	Alto (previsto)	AFAP1L2	-3,57478	0,00040639	0,004129055
TargetScan Human	Alto (previsto)	BCL11B	-7,45518	9,0434E-13	1,30665E-10
TargetScan Human	Alto (previsto)	BNC1	-10,1613	3,9863E-21	3,3215E-18
TargetScan Human	Alto (previsto)	CALB2	-2,60695	0,00957701	0,049262735
TargetScan Human	Alto (previsto)	CAMK2N2	-4,33529	1,9703E-05	0,000337565
TargetScan Human	Alto (previsto)	CBX2	-7,41229	1,1909E-12	1,66992E-10
TargetScan Human	Moderado (previsto)	CCNA1	-3,39196	0,00078393	0,007013279
TargetScan Human	Alto (previsto)	CCNE2	-3,58521	0,00039112	0,004002625
TargetScan Human	Moderado (previsto)	CD80	-3,23442	0,00135044	0,010822133
TargetScan Human	Alto (previsto)	CDCA7	-2,94594	0,00346369	0,022650361
TargetScan Human	Moderado (previsto)	CDHR1	-3,55523	0,00043656	0,004375406
TargetScan Human	Alto (previsto)	CELSR3	-4,19807	3,5211E-05	0,000549357
TargetScan Human	Moderado (previsto)	CERS3	-6,93548	2,3632E-11	2,38628E-09
TargetScan Human	Alto (previsto)	CHST1	-3,42212	0,00070477	0,006439431
TargetScan Human	Alto (previsto)	CHST2	-6,88903	3,1387E-11	3,07078E-09
TargetScan Human	Alto (previsto)	CNGB3	-4,62375	5,5397E-06	0,000115408
TargetScan Human	Alto (previsto)	COL13A1	-6,52577	2,7564E-10	2,0983E-08
TargetScan Human	Alto (previsto)	CTHRC1	-3,81302	0,00016563	0,001984823
TargetScan Human	Alto (previsto)	DDIT4	-3,52927	0,00047985	0,004724036
TargetScan Human	Moderado (previsto)	DSP	-5,75525	2,0785E-08	9,34316E-07
TargetScan Human	Alto (previsto)	E2F7	-5,78932	1,7316E-08	7,96717E-07
TargetScan Human	Alto (previsto)	EFNA3	-4,17635	3,8546E-05	0,000592557
TargetScan Human	Moderado (previsto)	EGFR	-2,69295	0,00746753	0,040839291
TargetScan Human	Alto (previsto)	EPB41L4B	-3,15221	0,00177887	0,013456245
TargetScan Human	Alto (previsto)	FAM43A	-4,71164	3,7153E-06	8,21663E-05

ES 2 986 046 T3

Fuente	Confianza	Símbolo	est. t	valor de p	valor de q
TargetScan Human	Alto (previsto)	FAP	-4,57488	6,8998E-06	0,000139116
TargetScan Human	Alto (previsto)	FOXD1	-5,39201	1,3836E-07	4,85439E-06
TargetScan Human	Alto (previsto)	FZD2	-5,21242	3,41E-07	1,05844E-05
TargetScan Human	Alto (previsto)	GJA1	-6,45364	4,2012E-10	3,04202E-08
TargetScan Human	Alto (previsto)	GLDC	-2,71789	0,00693956	0,038631316
TargetScan Human	Moderado (previsto)	GNRHR	-4,11924	4,8817E-05	0,000721673
TargetScan Human	Alto (previsto)	GRHL1	-2,67624	0,00784124	0,042369061
TargetScan Human	Alto (previsto)	HEPHL1	-5,0097	9,1733E-07	2,48043E-05
TargetScan Human	Alto (previsto)	HOXA11	-5,77494	1,8706E-08	8,52358E-07
TargetScan Human	Alto (previsto)	HTRA3	-2,92943	0,00364778	0,023577439
TargetScan Human	Alto (previsto)	IGF1R	-3,52927	0,00021693	0,000384284
TargetScan Human	Alto (previsto)	IL1A	-6,20891	1,7114E-09	1,04732E-07
TargetScan Human	Alto (previsto)	IL28RA	-4,58937	6,4663E-06	0,000131627
TargetScan Human	Alto (previsto)	IRS1	-2,61196	0,00944086	0,048733913
TargetScan Human	Alto (previsto)	IRX4	-4,38851	1,5668E-05	0,000278244
TargetScan Human	Alto (previsto)	ITGA5	-5,94408	7,4786E-09	3,82354E-07
TargetScan Human	Alto (previsto)	ITGA6	-6,76279	6,7415E-11	6,04954E-09
TargetScan Human	Alto (previsto)	KIAA1804	-3,06917	0,00233624	0,016671132
TargetScan Human	Alto (previsto)	KIF3C	-4,79377	2,5442E-06	5,94757E-05
TargetScan Human	Alto (previsto)	LHX1	-7,00892	1,5048E-11	1,59942E-09
TargetScan Human	Alto (previsto)	LOX	-3,09258	0,00216471	0,015701083
TargetScan Human	Alto (previsto)	LRRC3	-4,33577	1,9662E-05	0,000336972
TargetScan Human	Alto (previsto)	MAF	-3,14025	0,00185073	0,013882679
TargetScan Human	Alto (previsto)	MFHAS1	-4,75352	3,065E-06	6,97331E-05
TargetScan Human	Alto (previsto)	MYBL2	-7,83707	7,4462E-14	1,39556E-11
TargetScan Human	Alto (previsto)	MYH10	-3,74269	0,00021693	0,002477083
TargetScan Human	Moderado (previsto)	MYO1H	-2,68	0,00775571	0,042020701
TargetScan Human	Alto (previsto)	NEFL	-5,76182	2,0067E-08	9,0609E-07
TargetScan Human	Alto (previsto)	NID1	-4,56143	7,3271E-06	0,000146362
TargetScan Human	Alto (previsto)	NOD2	-5,23065	3,115E-07	9,79208E-06
TargetScan Human	Alto (previsto)	NREP	-3,09434	0,00215234	0,015631917
TargetScan	Alto (previsto)	NTM	-3,79283	0,00017904	0,002115612

Fuente	Confianza	Símbolo	est. t	valor de p	valor de q
Human					
TargetScan Human	Alto (previsto)	ONECUT2	-2,66567	0,0080862	0,043367382
TargetScan Human	Alto (previsto)	OVOL1	-3,56263	0,0004249	0,00428063
TargetScan Human	Alto (previsto)	PAG1	-3,29063	0,00111491	0,009292512
TargetScan Human	Alto (previsto)	PCDH17	-2,62238	0,00916308	0,047653736
TargetScan Human	Alto (previsto)	PDGFRB	-3,1546	0,00176483	0,013372471
TargetScan Human	Moderado (previsto)	PHLDB2	-7,25139	3,3136E-12	4,15821E-10
TargetScan Human	Moderado (previsto)	PNPLA1	-6,83038	4,4825E-11	4,20919E-09
TargetScan Human	Alto (previsto)	PPFIA1	-3,44793	0,000643	0,005981654
TargetScan Human	Alto (previsto)	PPP1R14C	-5,52887	6,8493E-08	2,63407E-06
TargetScan Human	Alto (previsto)	PPP4R4	-2,9497	0,00342301	0,022444469
TargetScan Human	Alto (previsto)	RAB38	-5,19914	3,6418E-07	1,11991E-05
TargetScan Human	Alto (previsto)	RHEBL1	-2,87936	0,00426207	0,026591947
TargetScan Human	Alto (previsto)	RTN4R	-5,76779	1,9436E-08	8,81367E-07
TargetScan Human	Alto (previsto)	SCN8A	-3,00949	0,00283162	0,019369396
TargetScan Human	Alto (previsto)	SERPINE1	-6,14674	2,4297E-09	1,4251E-07
TargetScan Human	Alto (previsto)	SLC44A5	-4,0284	7,0695E-05	0,000981803
TargetScan Human	Moderado (previsto)	SLCO6A1	-4,63823	5,189E-06	0,000109185
TargetScan Human	Alto (previsto)	SNX10	-6,11018	2,9822E-09	1,70412E-07
TargetScan Human	Alto (previsto)	SOCS1	-2,84294	0,00476672	0,028990247
TargetScan Human	Moderado (previsto)	STAT1	-2,94123	0,0035153	0,022913435
TargetScan Human	Alto (previsto)	THBS2	-3,48948	0,00055409	0,00530563
TargetScan Human	Alto (previsto)	TMC7	-4,4635	1,1301E-05	0,000211182
TargetScan Human	Moderado (previsto)	TNFSF9	-4,07698	5,8042E-05	0,000833474
TargetScan Human	Alto (previsto)	TRIM9	-2,6338	0,00886708	0,046491218
TargetScan Human	Alto (previsto)	TRPA1	-5,02466	8,5363E-07	2,33216E-05
TargetScan Human	Alto (previsto)	WNT7B	-8,91065	4,4225E-17	1,68683E-14

Tabla 7. ARNm expresados inversamente y que contienen sitios de unión previstos o validados a miR-30b-5p (MIMAT0000420)

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
ABCA12	-0,003	-3,7	0,00024	0,0029
ABCA6	-0,0024	-3,2	0,0014	0,012
ADAM12	-0,0041	-4,6	7,70E-06	0,00019
ADAM19	-0,0016	-2,6	0,0095	0,048
ADAMTS14	-0,0026	-4	6,90E-05	0,0011
ADAMTS3	-0,0034	-4,1	4,80E-05	0,00083

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
ADAMTS5	-0,003	-4,3	2,50E-05	0,00049
ADAMTS9	-0,0018	-2,8	0,0058	0,033
ADRA2A	-0,0031	-2,7	0,0079	0,042
AFAP1L2	-0,0018	-3,6	0,00039	0,0043
AGAP2	-0,0014	-2,8	0,0049	0,03
AJAP1	-0,0042	-3,3	0,0012	0,01
ANGPT2	-0,0022	-4,1	5,70E-05	0,00094
ANTXR1	-0,0018	-3,7	0,00028	0,0033
APOL6	-0,0018	-3,3	0,0011	0,0095
ARHGAP29	-0,0016	-2,9	0,004	0,026
ARHGAP42	-0,0017	-3,2	0,0014	0,011
ARNTL2	-0,0018	-4,4	1,30E-05	0,00029
ARRDC4	-0,002	-3,9	0,00012	0,0017
ARSE	-0,0043	-4	8,30E-05	0,0013
ATP8B2	-0,0016	-3,2	0,0018	0,014
BCHE	-0,0039	-2,9	0,0047	0,029
BDKRB2	-0,0022	-4,8	3,40E-06	9,80E-05
BICD1	-0,0018	-4	8,10E-05	0,0012
BMP2	-0,0021	-3,2	0,0014	0,012
BNC1	-0,0021	-4,1	4,80E-05	0,00083
BNC2	-0,0022	-2,9	0,0041	0,026
BST1	-0,0014	-2,6	0,0092	0,047
CACNA1C	-0,003	-4,8	2,40E-06	7,50E-05
CALB2	-0,0049	-4,6	7,90E-06	0,00019
CALCR	-0,0042	-2,6	0,0098	0,049
CALD1	-0,0026	-5,6	5,10E-08	3,10E-06
CAMK2N1	-0,0019	-3,1	0,0023	0,017
CCNA1	-0,0048	-3,1	0,0021	0,016
CCRN4L	-0,0023	-4,9	1,90E-06	6,00E-05
CD248	-0,0018	-2,7	0,0078	0,042
CD84	-0,0023	-2,7	0,0083	0,044
CDH11	-0,0033	-3,9	0,00014	0,0019
CDH13	-0,0021	-3,5	0,00046	0,0049
CDK6	-0,0021	-4,5	1,10E-05	0,00026
CHN1	-0,0023	-4,2	4,50E-05	0,00078
CHST2	-0,0026	-3,4	0,00078	0,0073
CLCA2	-0,0034	-4,9	2,00E-06	6,50E-05
CLEC5A	-0,0019	-3,5	5,00E-04	0,0052
CLSTN2	-0,0041	-3,9	0,00011	0,0016
CNRIP1	-0,0019	-3,8	0,00022	0,0027
CNTN1	-0,0035	-2,9	0,0038	0,024
COL12A1	-0,004	-5,3	2,70E-07	1,30E-05
COL13A1	-0,002	-3,6	0,00042	0,0045
COL14A1	-0,0021	-3	0,0033	0,022
COL5A2	-0,0043	-5,2	3,40E-07	1,50E-05
COL8A1	-0,0039	-3,9	0,00014	0,0019
CPN2	-0,0088	-4,8	3,00E-06	8,80E-05
CSGALNACT1	-0,0021	-4,4	1,70E-05	0,00035
CTGF	-0,0022	-3,4	0,00093	0,0084
CTHRC1	-0,0029	-3,4	0,00087	0,0079
CTSK	-0,0037	-5,1	5,40E-07	2,20E-05
CYP8B1	-0,0044	-2,9	0,0046	0,028
DACT1	-0,003	-3,4	0,00092	0,0083
DAPP1	-0,0014	-2,7	0,0067	0,037
DCBLD1	-0,0025	-5	9,60E-07	3,50E-05
DDX60	-0,0028	-4,3	2,90E-05	0,00056
DENND2A	-0,0016	-2,9	0,0047	0,029
DENND2C	-0,0015	-2,9	0,0036	0,023
DGKI	-0,0032	-3,2	0,0016	0,013
DIO2	-0,0023	-3	0,0027	0,019
DLEU7	-0,0027	-3	0,0026	0,018
DLX1	-0,004	-3,2	0,0016	0,013

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
DNASE2B	-0,0065	-3	0,0034	0,023
DOCK10	-0,0016	-2,7	0,0077	0,041
DSC1	-0,0088	-5,7	2,50E-08	1,70E-06
DSC3	-0,0011	-2,7	0,0067	0,037
DSEL	-0,003	-4,7	5,00E-06	0,00013
DSP	-0,0015	-2,7	0,0073	0,04
ECM2	-0,0025	-4,1	4,90E-05	0,00084
EDIL3	-0,0042	-5,1	7,80E-07	3,00E-05
EDNRA	-0,0032	-5,6	4,70E-08	2,90E-06
EDNRB	-0,0017	-2,9	0,0036	0,024
EFCAB4B	-0,0019	-2,9	0,0036	0,023
ELFN2	-0,0038	-2,8	0,0047	0,029
EML1	-0,0026	-4,6	8,10E-06	2,00E-04
EML5	-0,0018	-2,7	0,0079	0,042
ENPEP	-0,0019	-3	0,0031	0,021
ENPP1	-0,0021	-2,8	0,0058	0,034
EPHA3	-0,0028	-3,2	0,0016	0,013
FAM124A	-0,0016	-2,8	0,0058	0,034
FAM155A	-0,0026	-3	0,0031	0,021
FAM20A	-0,0019	-2,8	0,0054	0,032
FAM26E	-0,0036	-5,5	7,80E-08	4,40E-06
FAM43A	-0,002	-4,1	5,50E-05	0,00092
FAP	-0,0042	-4,9	1,60E-06	5,30E-05
FBLN7	-0,0019	-3,3	0,0011	0,0096
FBXO39	-0,0023	-3,1	0,0025	0,018
FGD5	-0,0015	-2,9	0,0043	0,027
FGF5	-0,0064	-3,4	0,00072	0,0069
FIGN	-0,0033	-3,2	0,0014	0,011
FLVCR2	-0,0027	-5	9,70E-07	3,50E-05
FMN1	-0,0026	-3,3	0,0012	0,01
FRMD5	-0,0038	-3	0,0031	0,021
GALNT13	-0,0038	-2,7	0,0074	0,04
GALNT6	-0,0042	-5,6	5,60E-08	3,40E-06
GBP1	-0,0024	-3,2	0,0014	0,011
GCOM1	-0,0029	-3	0,0025	0,018
GFPT2	-0,0022	-3,2	0,0017	0,013
GJA1	-0,0032	-5,3	2,20E-07	1,10E-05
GOLGA6L1	-0,0061	-3	0,0031	0,021
GOLGA7B	-0,0037	-3,9	0,00011	0,0016
GPM6B	-0,0017	-3,3	0,00093	0,0084
GPR124	-0,0021	-3,7	0,00023	0,0029
GPR157	-0,0017	-3,2	0,0017	0,013
GPRIN3	-0,0021	-3,1	0,0019	0,015
GUCY1A2	-0,0029	-4	7,10E-05	0,0011
GUCY1A3	-0,0024	-3,7	0,00031	0,0036
GXYLT2	-0,002	-2,6	0,0091	0,047
HAPLN1	-0,0032	-3,1	0,0024	0,017
HAS2	-0,0035	-4,3	2,70E-05	0,00053
HECW1	-0,0034	-3,5	0,00046	0,0049
HEPHL1	-0,0063	-4,5	1,00E-05	0,00024
HGF	-0,0043	-4	7,30E-05	0,0012
HHIPL1	-0,003	-4,6	6,70E-06	0,00017
HMCN1	-0,0043	-5,2	4,90E-07	2,00E-05
HOXA1	-0,0023	-3,4	9,00E-04	0,0082
HS3ST3A1	-0,0026	-3,5	0,00056	0,0057
HS3ST3B1	-0,0021	-3	0,0034	0,022
HTRA3	-0,0031	-3,8	0,00017	0,0022
IFIT1	-0,0036	-3,9	0,00014	0,002
IL1A	-0,0032	-3,2	0,0017	0,013
INHBA	-0,0041	-3,9	0,00013	0,0019
IRS1	-0,0021	-4	7,20E-05	0,0011
ITGA1	-0,0025	-4,2	3,60E-05	0,00065

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
ITGA5	-0,0024	-3,8	0,00018	0,0023
ITGA6	-0,0021	-3,7	0,00028	0,0033
ITGA8	-0,0038	-3,6	0,00041	0,0045
ITGA9	-0,0018	-2,7	0,0066	0,037
JAM2	-0,0022	-3,5	0,00063	0,0063
KCND2	-0,003	-3	0,0034	0,023
KCNJ15	-0,0028	-4,3	2,10E-05	0,00042
KIAA1024	-0,0015	-2,8	0,0055	0,032
KIAA1644	-0,0034	-4	9,80E-05	0,0015
KLF7	-0,0027	-5,6	5,70E-08	3,40E-06
KLHL4	-0,0036	-2,6	0,0087	0,045
KRT82	-0,0051	-2,7	0,0068	0,038
KRTAP1-5	-0,0054	-2,8	0,0057	0,033
LAMA1	-0,0042	-3,4	0,00078	0,0073
LAMA4	-0,003	-5,1	7,00E-07	2,70E-05
LAMC3	-0,0038	-4,9	1,80E-06	6,00E-05
LHX1	-0,0095	-4,1	5,50E-05	0,00092
LHX8	-0,0041	-2,9	0,0045	0,028
LHX9	-0,0059	-2,8	0,0057	0,033
LILRB2	-0,0022	-3	0,0032	0,021
LIPC	-0,0028	-3,1	0,0019	0,015
LOX	-0,0023	-3,5	0,00055	0,0056
LPAR3	-0,002	-3,3	0,00096	0,0086
LPPR4	-0,0018	-2,9	0,0043	0,027
LPPR5	-0,0078	-4	8,30E-05	0,0013
LRCH2	-0,0026	-3,4	0,00078	0,0073
LRRC15	-0,006	-5,2	4,50E-07	1,90E-05
LRRC17	-0,0033	-3,1	0,0022	0,016
LSAMP	-0,0028	-2,9	0,004	0,026
LTBP2	-0,0021	-3,8	0,00019	0,0024
MAF	-0,0014	-2,8	0,0048	0,029
MAN1A1	-0,0019	-3,5	5,00E-04	0,0052
MAP2	-0,004	-4,8	2,70E-06	8,00E-05
ME1	-0,0017	-2,7	0,0073	0,04
MFAP3L	-0,0024	-3,5	0,00047	0,005
MICAL2	-0,0022	-3,9	1,00E-04	0,0015
MME	-0,0045	-5,2	4,90E-07	2,00E-05
MMP16	-0,0055	-5,2	3,40E-07	1,50E-05
MOCS1	-0,0015	-3	0,0029	0,02
MPZL3	-0,0025	-4,8	2,30E-06	7,30E-05
MS4A7	-0,0024	-3,6	0,00044	0,0047
MXRA5	-0,0033	-4,6	6,20E-06	0,00016
MYH10	-0,0025	-4,7	4,20E-06	0,00012
NAV3	-0,0042	-5,3	2,10E-07	1,00E-05
NEGR1	-0,0036	-3,8	2,00E-04	0,0026
NFASC	-0,0017	-3,1	0,0025	0,018
NHSL2	-0,0024	-2,7	0,0082	0,043
NID1	-0,0032	-4,9	1,70E-06	5,50E-05
NID2	-0,0033	-4,5	9,40E-06	0,00022
NIPAL1	-0,0025	-4,1	6,30E-05	0,001
NIPAL4	-0,0044	-4,3	2,10E-05	0,00043
NLRP3	-0,0017	-2,7	0,0083	0,044
NOD2	-0,0027	-5,2	4,40E-07	1,80E-05
NRG1	-0,0025	-3,2	0,0014	0,011
NT5E	-0,0033	-4,1	5,80E-05	0,00096
NTM	-0,0034	-4,9	2,10E-06	6,70E-05
NTNG1	-0,0051	-2,9	0,0039	0,025
OLFML2A	-0,0015	-2,9	0,004	0,026
PAG1	-0,0021	-4	8,40E-05	0,0013
PAQR5	-0,0036	-4,4	1,60E-05	0,00034
PCDH10	-0,0071	-3,9	0,00013	0,0018
PCDH17	-0,0025	-3,7	0,00023	0,0028

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
PDE3A	-0,0035	-4,5	1,10E-05	0,00025
PDE7B	-0,0022	-4	7,50E-05	0,0012
PDGFC	-0,0025	-4,5	9,10E-06	0,00022
PDGFRB	-0,0028	-4,2	3,60E-05	0,00065
PHLDB2	-0,0018	-3,2	0,0016	0,013
PI15	-0,0023	-2,9	0,0043	0,027
PLA2G4D	-0,0034	-2,7	0,0072	0,04
PLXDC1	-0,0018	-3,2	0,0015	0,012
PLXDC2	-0,0025	-4,5	1,20E-05	0,00027
PLXNC1	-0,0028	-3,7	0,00024	0,003
PNPLA1	-0,0065	-5,5	8,70E-08	4,90E-06
PPFIA2	-0,0049	-3,4	0,00076	0,0072
PPP1R14C	-0,0014	-2,9	0,0035	0,023
PRDM1	-0,0021	-4,9	2,00E-06	6,40E-05
PRDM5	-0,0023	-4	9,20E-05	0,0014
PREX2	-0,0022	-2,6	0,0098	0,049
PRICKLE1	-0,0027	-4,4	1,30E-05	3,00E-04
PRRG1	-0,0018	-3,8	0,00019	0,0024
PRRX1	-0,002	-2,9	0,0037	0,024
PTGDR	-0,0031	-4,1	6,30E-05	0,001
PTGER2	-0,0021	-2,9	0,0044	0,027
PTGER3	-0,0038	-4,4	1,40E-05	0,00031
PTGS1	-0,0021	-2,9	0,0043	0,027
PTPRB	-0,0016	-3,2	0,0014	0,012
PTPRD	-0,0058	-5,3	3,20E-07	1,40E-05
RAB27B	-0,0019	-3,5	5,00E-04	0,0052
RAB38	-0,0027	-4	9,40E-05	0,0014
RAB3B	-0,0057	-4,1	4,80E-05	0,00083
RAI14	-0,0013	-2,7	0,0076	0,041
RASGRF2	-0,0027	-4,1	6,00E-05	0,00099
RECK	-0,0022	-3,9	0,00014	0,0019
RFTN2	-0,0016	-2,9	0,0046	0,028
RSAD2	-0,0035	-3,8	0,00019	0,0024
RUNX1T1	-0,0036	-3,6	0,00044	0,0047
S100A7A	-0,0065	-3,6	0,00032	0,0037
SAMHD1	-0,0022	-3,8	0,00019	0,0024
SDC2	-0,0023	-3,5	0,00062	0,0062
SDK2	-0,0026	-2,9	0,0038	0,024
SEC14L2	-0,0021	-3,6	0,00039	0,0043
SERPINE1	-0,0032	-3,7	0,00032	0,0037
SERPING1	-0,0024	-4,1	6,20E-05	0,001
SGIP1	-0,0033	-4,7	5,30E-06	0,00014
SH3TC2	-0,002	-2,8	0,0052	0,031
SHROOM4	-0,0017	-3	0,0034	0,022
SLC10A6	-0,0034	-3,9	0,00012	0,0017
SLC16A10	-0,0018	-2,8	0,0054	0,032
SLC22A15	-0,0014	-2,8	0,0048	0,029
SLC24A2	-0,008	-4,7	4,60E-06	0,00013
SLC28A3	-0,0043	-5	8,70E-07	3,20E-05
SLC2A9	-0,0022	-4,7	4,30E-06	0,00012
SLC38A4	-0,0031	-3,9	0,00012	0,0017
SLC39A8	-0,0016	-3,6	0,00043	0,0046
SLC41A2	-0,003	-5,3	2,30E-07	1,10E-05
SLC44A5	-0,0026	-2,6	0,0097	0,049
SLC7A11	-0,0027	-2,9	0,0044	0,027
SNAI1	-0,0014	-2,8	0,0058	0,034
SNX10	-0,0021	-3,9	0,00011	0,0015
SPTLC3	-0,0061	-6,1	3,40E-09	3,30E-07
STC1	-0,002	-3	0,0025	0,018
SULF2	-0,0026	-4,4	1,40E-05	0,00031
TCHHL1	-0,0077	-3,4	0,00082	0,0076
TGFA	-0,0023	-5,2	4,30E-07	1,80E-05

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
TGM5	-0,0047	-4,3	2,50E-05	0,00049
THBS2	-0,0041	-5,2	4,10E-07	1,80E-05
TIMP2	-0,0035	-6	8,00E-09	6,70E-07
TIMP3	-0,0029	-4	7,80E-05	0,0012
TLL1	-0,0027	-2,8	0,0058	0,034
TLN2	-0,0015	-2,8	0,0051	0,03
TLR8	-0,0031	-3,6	0,00035	0,004
TM4SF18	-0,0019	-3,9	0,00014	0,0019
TM6SF2	-0,004	-3,2	0,0017	0,014
TMEM154	-0,0023	-4,2	4,50E-05	0,00079
TMEM26	-0,0025	-3,7	0,00028	0,0033
TMEM79	-0,0021	-3,4	7,00E-04	0,0067
TMEM86A	-0,0031	-5,5	9,80E-08	5,40E-06
TNFSF13B	-0,0019	-2,7	0,0073	0,04
TREML2	-0,0038	-4,3	2,80E-05	0,00053
TRPA1	-0,0047	-4,4	1,40E-05	0,00032
TRPC6	-0,0019	-3,5	0,00059	0,0059
TRPS1	-0,0024	-4,8	3,40E-06	9,80E-05
TSHZ2	-0,0018	-2,8	0,0048	0,029
TSPAN11	-0,003	-4,1	5,90E-05	0,00097
TSPAN2	-0,0034	-4,1	5,80E-05	0,00095
UNCSC	-0,0041	-3,1	0,0022	0,016
UNC80	-0,0048	-2,8	0,005	0,03
USP2	-0,0025	-2,8	0,0047	0,029
VCAN	-0,0038	-4,4	1,90E-05	4,00E-04
VGLL3	-0,0036	-4,9	1,40E-06	4,80E-05
VIM	-0,0018	-3,7	0,00031	0,0036
WIPF1	-0,0014	-2,6	0,0092	0,047
WISP1	-0,0032	-3,8	2,00E-04	0,0026
WNT5A	-0,0034	-5,6	4,40E-08	2,80E-06
XYLT1	-0,0018	-2,7	0,0071	0,039
ZCCHC24	-0,0017	-3,7	0,00023	0,0028
ZDHHC21	-0,0015	-2,7	0,0076	0,041
ZNF208	-0,0035	-2,7	0,0084	0,044
ZNF365	-0,0052	-6,1	3,00E-09	3,00E-07
ZNF521	-0,0028	-4,2	4,30E-05	0,00076
ZNF681	-0,003	-2,9	0,0039	0,025

Tabla 8. ARNm expresados inversamente y que contienen sitios de unión previstos o validados a miR-30d-5p (MIMAT0000245)

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
ABCC2	-0,00014	-3,3	0,0011	0,0095
ACTBL2	-0,00024	-2,9	0,0043	0,027
ADAM 12	-0,00015	-3,2	0,0014	0,012
ADAMTS14	-0,00014	-4,2	4,10E-05	0,00073
AFAP1L2	-0,00012	-4,6	7,00E-06	0,00018
AJAP1	-0,00019	-2,8	0,005	0,03
ARNTL2	-8,20E-05	-4	9,00E-05	0,0014
ARRDC4	-7,50E-05	-2,7	0,0067	0,037
BDKRB2	-0,00011	-4,5	9,50E-06	0,00023
BNC1	-0,00014	-5,2	4,60E-07	1,90E-05
C6orf141	-0,00023	-5	1,20E-06	4,20E-05
CALD1	-1,00E-04	-4,2	3,10E-05	0,00059
CAMK2A	-0,00028	-4,6	5,30E-06	0,00014
CAMK2N1	-0,00011	-3,6	0,00044	0,0047
CCNA1	-0,00033	-4,2	3,30E-05	0,00062
CCRN4L	-0,00011	-4,5	8,60E-06	0,00021
CDH13	-0,00011	-3,7	0,00023	0,0029
CDK6	-0,00011	-4,6	6,60E-06	0,00017
CHST2	-0,00013	-3,2	0,0014	0,012
CLCA2	-0,00015	-4,1	5,50E-05	0,00092
CLCF1	-8,70E-05	-2,9	0,0039	0,025

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
COL12A1	-0,00017	-4,2	3,30E-05	0,00062
COL13A1	-8,80E-05	-3	0,0032	0,022
COL5A2	-0,00017	-4	9,80E-05	0,0015
CTHRC1	-0,00013	-2,8	0,0051	0,031
DACT1	-0,00013	-2,8	0,0063	0,035
DCBLD1	-0,00016	-6,5	3,80E-10	5,20E-08
DDX60	-0,00012	-3,3	0,001	0,0089
DLX1	-0,00021	-3,3	0,001	0,0092
DNAH17	-2,00E-04	-3,4	0,00081	0,0075
DNMT3B	-1,00E-04	-3,7	0,00025	0,003
DSC1	-0,00029	-3,5	0,00049	0,0052
EDNRA	-9,10E-05	-3	0,0031	0,021
EML1	-8,60E-05	-2,9	0,0042	0,026
EPHB2	-1,00E-04	-2,6	0,0088	0,046
F3	-0,00012	-2,8	0,006	0,034
FAM26E	-0,00011	-3	0,0026	0,018
FAP	-0,00019	-4,2	4,00E-05	0,00072
FOXD1	-1,00E-04	-2,9	0,004	0,025
FOXL2	-0,00021	-2,9	0,0035	0,023
FZD2	-7,90E-05	-3	0,0026	0,018
GALNT6	-0,00023	-5,8	2,20E-08	1,60E-06
GBP1	-0,00013	-3,4	0,00073	0,007
GJA1	-0,00016	-5,1	6,20E-07	2,50E-05
GOLGA7B	-0,00024	-4,9	1,60E-06	5,40E-05
GPR39	-0,00015	-3	0,003	0,021
HAS2	-0,00013	-3,1	0,002	0,015
HECW1	-0,00013	-2,7	0,0082	0,043
HEPHL1	-0,00026	-3,6	0,00042	0,0046
HOXA1	-0,00014	-3,9	0,00011	0,0015
HSPB3	-3,00E-04	-3,2	0,0017	0,013
HTRA3	-0,00016	-3,8	0,00018	0,0024
IFFO2	-7,80E-05	-2,7	0,0082	0,043
IFIT1	-0,00018	-3,7	3,00E-04	0,0035
IL1A	-0,00019	-3,7	0,00024	0,003
INHBA	-0,00023	-4,2	4,00E-05	0,00071
IRS1	-9,10E-05	-3,3	0,00094	0,0084
ITGA5	-0,00016	-5	8,60E-07	3,20E-05
ITGA6	-1,00E-04	-3,5	0,00056	0,0057
KCNJ15	-0,00012	-3,5	0,00057	0,0057
KIAA1644	-0,00015	-3,4	0,00066	0,0064
KLF7	-0,00011	-4,3	2,20E-05	0,00045
KRT82	-0,00034	-3,5	0,00048	0,0051
LAMA1	-0,00019	-3	0,0032	0,022
LETM2	-1,00E-04	-3,4	0,00089	0,0081
LHX1	-0,00061	-5,2	4,70E-07	2,00E-05
LPCAT1	-9,50E-05	-4	6,80E-05	0,0011
LRRC17	-0,00015	-2,7	0,008	0,042
MAF	-8,20E-05	-3,2	0,0016	0,013
MELK	-6,40E-05	-2,9	0,0036	0,024
MICAL2	-1,00E-04	-3,6	0,00037	0,0041
MME	-0,00015	-3,3	0,0011	0,0097
MYH10	-1,00E-04	-3,7	0,00025	0,003
NAV3	-2,00E-04	-4,7	4,00E-06	0,00011
NEXN	-0,00015	-3,7	0,00029	0,0034
NIPAL4	-2,00E-04	-3,7	0,00023	0,0029
NNMT	-0,00012	-3,4	0,00088	0,008
NOD2	-1,00E-04	-3,7	0,00027	0,0032
NRG1	-0,00015	-3,8	2,00E-04	0,0026
NT5E	-0,00017	-4	8,60E-05	0,0013
PAQR5	-0,00015	-3,5	5,00E-04	0,0052
PDGFC	-0,00013	-4,4	1,40E-05	0,00031
PHLDB2	-1,00E-04	-3,6	0,00033	0,0037

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
PNPLA1	-2,00E-04	-3,2	0,0017	0,013
PPP1R14C	-0,00014	-6,3	1,50E-09	1,60E-07
PSMB9	-8,70E-05	-2,8	0,0056	0,032
PTGS1	-0,00011	-3	0,0028	0,02
PTPRD	-0,00019	-3,3	0,001	0,0091
RAB38	-0,00016	-4,6	7,60E-06	0,00019
RSAD2	-0,00014	-2,8	0,0051	0,03
S100A7A	-0,00026	-2,8	0,0057	0,033
SEC14L2	-0,00013	-4,4	1,60E-05	0,00035
SERPINA3	-0,00024	-3,8	0,00018	0,0023
SERPINE1	-0,00021	-4,7	5,00E-06	0,00014
SERPING1	-9,30E-05	-3	0,0034	0,023
SLC24A2	-0,00034	-3,7	0,00022	0,0027
SLC2A9	-8,60E-05	-3,4	0,00077	0,0072
SLC7A5	-8,00E-05	-2,8	0,0056	0,033
SNX10	-1,00E-04	-3,6	0,00039	0,0043
SPTLC3	-0,00017	-3,2	0,0018	0,014
SULF2	-0,00013	-4,3	2,50E-05	0,00049
SYNC	-0,00011	-3,2	0,0014	0,011
TGFA	-1,00E-04	-4,3	2,60E-05	0,00051
THBS2	-0,00013	-3	0,0028	0,019
TIMP3	-0,00012	-3,1	0,0021	0,016
TLL1	-0,00013	-2,7	0,0081	0,043
TLN2	-7,40E-05	-2,8	0,0061	0,035
TMEM86A	-8,60E-05	-2,9	0,0045	0,028
TNFSF9	-0,00012	-4	8,30E-05	0,0013
TRPA1	-0,00015	-2,7	0,0082	0,043
USP2	-0,00013	-2,8	0,0048	0,029
ZNF365	-0,00015	-3,2	0,0017	0,013

Tabla 9. ARNm expresados inversamente y que contienen sitios de unión previstos o validados a miR-30e-5p (MIMAT0000692)

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
42433	-2,00E-04	-3,8	0,00017	0,0022
ABCA12	-0,00011	-3,3	0,0011	0,0093
ABCC11	-0,00013	-4,5	9,80E-06	0,00023
ABCC2	-0,00011	-3,4	0,00086	0,0079
ACTBL2	-0,00018	-2,8	0,0056	0,033
ACTC1	-0,00032	-3	0,0029	0,02
ADAM12	-0,00023	-6,4	5,60E-10	7,20E-08
ADAMTS14	-0,00014	-5,4	1,80E-07	9,00E-06
ADAMTS5	-8,70E-05	-3	0,0033	0,022
ADRAID	-0,00011	-2,8	0,0055	0,032
ANGPT2	-0,00012	-5,8	1,80E-08	1,30E-06
ANTXR2	-6,60E-05	-2,7	0,0078	0,042
ARRDC4	-7,10E-05	-3,2	0,0013	0,011
BAG2	-9,10E-05	-3,8	0,00015	0,002
BICD1	-9,00E-05	-4,8	2,90E-06	8,50E-05
BMP2	-9,50E-05	-3,6	0,00045	0,0048
BNC1	-9,70E-05	-4,6	8,20E-06	2,00E-04
BVES	-0,00012	-3,9	0,00014	0,002
C1QL1	-0,00015	-4	7,60E-05	0,0012
C3orf72	-0,00036	-5	1,20E-06	4,20E-05
C6orf141	-0,00013	-3,3	0,0011	0,0093
CALD1	-0,00012	-6,4	9,60E-10	1,10E-07
CAMK2A	-0,00017	-3,5	0,00064	0,0063
CCNA1	-0,00029	-4,7	4,30E-06	0,00012
CCRN4L	-9,40E-05	-4,9	1,90E-06	6,20E-05
CD248	-0,00012	-4,7	4,60E-06	0,00013
CDH11	-0,00014	-3,9	0,00011	0,0016
CDH13	-1,00E-04	-4,3	2,50E-05	0,00049
CDK6	-9,20E-05	-4,6	5,40E-06	0,00014

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
CHN1	-6,50E-05	-2,8	0,0056	0,033
CHST2	-0,00017	-5,5	1,00E-07	5,60E-06
CLCF1	-6,40E-05	-2,7	0,0081	0,043
CLSTN2	-0,00012	-2,8	0,0058	0,033
COL12A1	-0,00022	-7,4	2,00E-12	5,90E-10
COL13A1	-0,00013	-5,9	1,20E-08	9,10E-07
COL5A2	-0,00022	-6,6	1,90E-10	2,80E-08
COL8A1	-0,00016	-3,9	0,00011	0,0015
CSMD3	-0,00031	-3,2	0,0016	0,013
CTHRC1	-0,00018	-5,1	6,60E-07	2,60E-05
CTSK	-9,10E-05	-3	0,003	0,021
DACT1	-0,00017	-4,7	3,80E-06	0,00011
DCBLD1	-0,00013	-6,8	9,60E-11	1,60E-08
DCLK3	-8,70E-05	-3,2	0,0017	0,013
DDIT4	-8,20E-05	-3,6	0,00043	0,0046
DDX60	-8,70E-05	-3,1	0,002	0,015
DLX1	-0,00035	-7,3	4,80E-12	1,20E-09
DNAH17	-0,00014	-3	0,0032	0,022
DNMT3B	-0,00011	-4,8	2,30E-06	7,10E-05
DSC1	-0,00022	-3,3	0,0011	0,0098
DSG2	-5,90E-05	-3	0,0031	0,021
EBF2	-0,00014	-2,7	0,0081	0,043
EDIL3	-0,00011	-3,1	0,002	0,015
EDNRA	-9,80E-05	-4	7,20E-05	0,0011
EGFR	-6,10E-05	-2,6	0,0088	0,045
EIF5A2	-7,80E-05	-3,7	0,00024	0,0029
ELAVL2	-0,00015	-2,6	0,0092	0,047
EML1	-9,70E-05	-4,1	4,90E-05	0,00084
ENPEP	-0,00015	-6	7,40E-09	6,30E-07
EPB41L4B	-7,00E-05	-3,4	0,00093	0,0084
EPHB2	-0,00011	-3,6	0,00038	0,0042
FADS1	-8,30E-05	-3,3	0,0011	0,0094
FAM26E	-0,00014	-5	8,50E-07	3,20E-05
FAP	-0,00023	-6,9	3,80E-11	7,20E-09
FGF5	-0,00044	-5,9	1,40E-08	1,10E-06
FOXD1	-1,00E-04	-3,6	0,00036	0,004
FOXL2	-0,00028	-5,1	6,30E-07	2,50E-05
FSD1L	-5,50E-05	-2,9	0,0036	0,023
FST	-0,00017	-5,8	1,60E-08	1,20E-06
FZD2	-0,00012	-6,3	1,00E-09	1,20E-07
GALNT6	-0,00018	-5,9	1,30E-08	1,00E-06
GFPT2	-8,80E-05	-3,1	0,0025	0,018
GJA1	-0,00015	-6,2	2,70E-09	2,70E-07
GOLGA7B	-0,00021	-5,4	1,20E-07	6,40E-06
GUCY1A2	-0,00014	-4,8	2,90E-06	8,80E-05
GXYLT2	-9,00E-05	-2,8	0,0059	0,034
HAPLN1	-0,00024	-5,6	4,80E-08	3,00E-06
HAS2	-0,00011	-3,1	0,0022	0,016
HDAC9	-7,50E-05	-2,7	0,0079	0,042
HECW1	-2,00E-04	-5	9,50E-07	3,50E-05
HEPHL1	-0,00016	-2,6	0,0097	0,049
HEYL	-0,00012	-5,1	6,80E-07	2,70E-05
HHIPL1	-9,10E-05	-3,3	0,001	0,009
HOXA1	-0,00011	-3,8	0,00021	0,0027
HOXA11	-0,00017	-2,7	0,0066	0,037
HOXD11	-0,00035	-6,5	5,30E-10	6,80E-08
HOXD8	-9,50E-05	-4,8	2,20E-06	6,80E-05
HSPB3	-0,00039	-5,5	1,20E-07	6,20E-06
HTRA3	-2,00E-04	-6,2	2,80E-09	2,80E-07
IFIT1	-0,00013	-3,3	0,00099	0,0088
IFIT1B	-0,00025	-3,1	0,0018	0,014
IL1A	-0,00012	-2,9	0,0044	0,027

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
INHBA	-0,00034	-8,5	2,10E-15	1,50E-12
IRS1	-7,50E-05	-3,5	0,00061	0,0061
IRX4	-0,00017	-3,4	0,00088	0,008
ITGA1	-1,00E-04	-4,1	6,50E-05	0,001
ITGA5	-2,00E-04	-8,5	1,70E-15	1,30E-12
ITGA6	-0,00011	-5	8,50E-07	3,20E-05
KCND2	-0,00016	-3,7	0,00026	0,0032
KCNJ15	-9,80E-05	-3,6	0,00046	0,0048
KIAA1644	-0,00013	-3,7	0,00026	0,0031
KIF3C	-0,00012	-6,4	8,20E-10	1,00E-07
KLF14	-0,00016	-2,7	0,0083	0,044
KLF7	-0,00011	-5,6	5,70E-08	3,40E-06
KRT82	-0,00022	-2,8	0,0054	0,032
LAMA1	-0,00027	-5,4	1,30E-07	6,60E-06
LAMA4	-0,00011	-4,5	9,20E-06	0,00022
LAMC3	-9,70E-05	-2,9	0,0036	0,024
LETM2	-6,40E-05	-2,6	0,0095	0,048
LHX1	-0,00045	-4,7	4,40E-06	0,00012
LHX5	-0,00032	-4	7,10E-05	0,0011
LOX	-8,40E-05	-3	0,0028	0,019
LPAR3	-7,70E-05	-3,1	0,0021	0,016
LPCAT1	-9,00E-05	-4,9	1,90E-06	6,10E-05
LPPR5	-0,00025	-3,1	0,0025	0,018
LRRC15	-0,00017	-3,4	0,00067	0,0065
LRRC17	-0,00014	-3,2	0,0016	0,013
LRRC3	-6,40E-05	-2,8	0,005	0,03
LTBP2	-8,90E-05	-3,9	0,00011	0,0016
MAP2	-0,00011	-3	0,0027	0,019
MFAP3L	-7,80E-05	-2,7	0,0067	0,037
MICAL2	-0,00013	-6	7,90E-09	6,70E-07
MME	-0,00019	-5,2	3,50E-07	1,50E-05
MMP16	-0,00025	-5,7	2,80E-08	1,90E-06
MURC	-0,00017	-3,6	0,00034	0,0039
MXRA5	-9,70E-05	-3,3	0,0013	0,011
MYH10	-0,00013	-6	6,50E-09	5,60E-07
NAV3	-0,00017	-5	8,40E-07	3,10E-05
NCAM1	-0,00014	-2,9	0,0035	0,023
NEXN	-0,00014	-4,4	1,70E-05	0,00037
NID1	-0,00017	-6,6	2,80E-10	4,00E-08
NID2	-0,00016	-5,4	1,40E-07	7,30E-06
NIPAL4	-0,00014	-3,3	0,00096	0,0086
NNMT	-9,60E-05	-3,5	0,00057	0,0058
NRG1	-0,00012	-3,8	0,00021	0,0027
NT5E	-0,00018	-5,4	1,40E-07	7,10E-06
NTM	-0,00016	-5,7	4,00E-08	2,50E-06
NUAK1	-9,60E-05	-4,1	6,50E-05	0,0011
OLFML2A	-6,00E-05	-2,8	0,0052	0,031
PAQR5	-0,00011	-3,2	0,0016	0,013
PARVB	-7,80E-05	-4,1	5,20E-05	0,00088
PCDH17	-8,90E-05	-3,1	0,0018	0,014
PDE3A	-8,90E-05	-2,7	0,008	0,042
PDGFC	-1,00E-04	-4,3	2,60E-05	5,00E-04
PDGFRB	-0,00012	-4,4	1,60E-05	0,00035
PDZK1	-0,00011	-2,7	0,0084	0,044
PFN2	-9,10E-05	-3	0,0029	0,02
PHLDB2	-0,00015	-7,1	1,30E-11	3,00E-09
PI15	-0,00013	-4,2	3,30E-05	0,00062
PLEKHG4B	-0,00011	-2,7	0,0082	0,043
PNPLA1	-2,00E-04	-4,1	5,40E-05	9,00E-04
PPP1R14C	-1,00E-04	-5,4	1,30E-07	6,80E-06
PRICKLE1	-7,20E-05	-2,8	0,0054	0,032
PRRG1	-5,30E-05	-2,7	0,0085	0,045

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
PTPRD	-0,00013	-2,8	0,0051	0,031
RAB38	-8,80E-05	-3,1	0,0022	0,016
RAB3B	-0,00016	-2,7	0,0065	0,036
RAI14	-6,40E-05	-3,1	0,0018	0,014
RASD2	-0,00011	-3,1	0,0022	0,016
RASL11B	-9,70E-05	-3	0,003	0,02
RHOBTB1	-8,30E-05	-3,9	1,00E-04	0,0015
RSAD2	-0,00013	-3,2	0,0013	0,011
RTN4R	-6,80E-05	-3,5	0,00053	0,0054
S100A7A	-2,00E-04	-2,7	0,0066	0,037
SAMD4A	-6,90E-05	-3,2	0,0015	0,012
SDC2	-9,50E-05	-3,5	0,00065	0,0064
SDK2	-0,00012	-3,3	0,0012	0,01
SEC14L2	-9,90E-05	-4,1	5,00E-05	0,00085
SERPINE1	-0,00027	-8,4	3,40E-15	2,30E-12
SGCD	-0,00013	-3,2	0,0017	0,013
SGIP1	-0,00014	-4,9	1,60E-06	5,30E-05
SLC16A10	-8,70E-05	-3,4	0,00087	0,008
SLC24A2	-0,00049	-7,3	2,90E-12	8,10E-10
SLC2A9	-7,30E-05	-3,6	0,00037	0,0041
SLC35F3	-0,00017	-3,3	0,0011	0,0097
SLC38A4	-9,30E-05	-2,8	0,0062	0,035
SLC7A5	-9,40E-05	-4,2	4,20E-05	0,00074
SNAI1	-6,10E-05	-2,8	0,0048	0,029
SNX10	-9,60E-05	-4,4	1,90E-05	4,00E-04
SOX11	-0,00036	-6,4	7,50E-10	9,30E-08
SPSB4	-0,00014	-2,9	0,0039	0,025
STAC	-0,00014	-3,6	0,00036	0,004
STC1	-0,00011	-4,2	3,30E-05	0,00061
SULF2	-1,00E-04	-4,2	3,50E-05	0,00064
SYNC	-0,00011	-4,1	6,10E-05	0,001
TCHHL1	-0,00028	-3	0,0031	0,021
TGFA	-7,10E-05	-3,8	0,00018	0,0023
THBS2	-2,00E-04	-6,4	9,00E-10	1,10E-07
TIMP2	-8,20E-05	-3,3	0,0013	0,011
TIMP3	-0,00013	-4,4	1,30E-05	3,00E-04
TLL1	-0,00012	-3	0,0035	0,023
TLN2	-8,30E-05	-3,9	0,00011	0,0016
TM6SF2	-0,00026	-5	9,00E-07	3,30E-05
TMC7	-8,40E-05	-3,8	2,00E-04	0,0025
TMEM26	-8,00E-05	-2,8	0,0056	0,033
TMEM86A	-7,90E-05	-3,3	0,0011	0,0095
TNFSF9	-7,90E-05	-3,2	0,0017	0,013
TRIB3	-1,00E-04	-5,4	1,20E-07	6,50E-06
TRIM9	-0,00013	-3,7	0,00031	0,0036
USP2	-0,00012	-3,5	6,00E-04	0,006
VCAN	-0,00016	-4,5	1,10E-05	0,00026
WISP1	-0,00011	-3,2	0,0017	0,013
WNT7B	-6,10E-05	-3,3	0,0011	0,0096

Tabla 10. ARNm expresados inversamente y que contienen sitios de unión previstos o validados a miR-26a-5p (MIMAT0000082)

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
ABCC11	-0,00033	-4,4	1,50E-05	0,00033
ABCC2	-0,00028	-3,3	0,00098	0,0088
ACVR1C	-0,00023	-4	8,10E-05	0,0012
ADAM12	-0,00034	-3,5	0,00051	0,0053
ADM	-3,00E-04	-5,3	3,10E-07	1,40E-05
ANO1	-0,00035	-3,7	0,00023	0,0028
ARRDC4	-0,00022	-3,9	0,00013	0,0018
ARSJ	-0,00018	-3	0,0026	0,018
BEND6	-2,00E-04	-3,1	0,0021	0,015

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
BICD1	-0,00017	-3,5	0,00057	0,0058
C19orf77	-0,00043	-2,9	0,0035	0,023
C3orf72	-0,00079	-4,2	3,00E-05	0,00057
CCRN4L	-0,00021	-4,3	2,60E-05	0,00051
CDK6	-0,00021	-4,1	6,40E-05	0,001
CHST2	-0,00034	-4,2	3,90E-05	0,00069
COL11A1	-0,00057	-3,3	0,00094	0,0085
COL12A1	-0,00035	-4,3	2,60E-05	0,00051
COL4A2	-0,00024	-3,7	0,00028	0,0033
COL5A1	-0,00032	-3,6	4,00E-04	0,0043
CT62	-0,00065	-3	0,0031	0,021
CYP27B1	-0,00022	-2,7	0,0066	0,037
DCBLD1	-0,00022	-4,1	6,00E-05	0,00099
DDIT4	-3,00E-04	-5,1	5,30E-07	2,20E-05
DNAH17	-0,00037	-3	0,003	0,021
DNAJB5	-2,00E-04	-3,8	0,00015	0,002
DNMT3B	-0,00027	-4,7	4,10E-06	0,00012
DSC3	-0,00015	-3,4	0,00093	0,0084
DSG2	-0,00017	-3,3	0,0012	0,01
EIF5A2	-0,00015	-2,7	0,0078	0,042
ENPEP	-0,00021	-3,2	0,0015	0,012
EREG	-4,00E-04	-2,6	0,0093	0,048
F2RL1	-0,00023	-3,3	0,0012	0,0099
FADS1	-0,00017	-2,6	0,0098	0,049
FAM83B	-0,00014	-2,7	0,008	0,042
FAM89A	-0,00025	-4,9	1,50E-06	4,90E-05
FAT1	-0,00019	-3,1	0,0019	0,015
FERMT1	-2,00E-04	-4	8,10E-05	0,0012
FHL2	-0,00015	-2,8	0,0049	0,03
FN1	-3,00E-04	-2,8	0,0061	0,035
FOXD1	-0,00023	-3,1	0,0022	0,016
GOLGA7B	-3,00E-04	-2,9	0,0038	0,024
GPSM1	-0,00019	-3,6	4,00E-04	0,0044
HAPLN1	-0,00032	-2,9	0,0043	0,027
HAS3	-0,00019	-2,6	0,0088	0,045
HES2	-0,00029	-4,8	2,90E-06	8,60E-05
HHLA1	-0,00058	-2,9	0,0037	0,024
HIST1H3H	-0,00019	-2,9	0,0043	0,027
HMGA2	-0,00055	-4,6	5,60E-06	0,00015
HNF4A	-0,00065	-3	0,0026	0,018
HOXC9	-0,00043	-3,2	0,0014	0,011
HOXD13	-0,00057	-2,6	0,0095	0,048
HOXD8	-0,00018	-3,6	0,00034	0,0039
HOXD9	-0,00017	-3,4	0,00079	0,0074
HSD17B6	-0,00021	-4,3	2,20E-05	0,00045
HSPA12A	-0,00021	-2,9	0,0039	0,025
HTR2C	-0,0011	-3,9	0,00014	0,002
HTR7	-0,00038	-3,8	0,00015	0,002
INHBA	-0,00056	-5,1	8,20E-07	3,10E-05
ITGA3	-0,00021	-3,2	0,0015	0,012
ITGA5	-0,00033	-5,2	4,50E-07	1,90E-05
ITGA6	-0,00027	-4,5	8,70E-06	0,00021
KANK4	-0,00053	-3,9	0,00012	0,0017
KCNJ15	-0,00025	-3,6	0,00046	0,0048
KIF26B	-0,00023	-3,1	0,002	0,015
KIF3C	-0,00024	-4,6	7,10E-06	0,00018
KIRREL	-0,00018	-2,8	0,0052	0,031
KLF7	-0,00027	-5,1	5,50E-07	2,20E-05
LAMA1	-0,00058	-4,5	1,20E-05	0,00028
LHFPL5	-0,00052	-2,7	0,0073	0,04
LHX1	-7,00E-04	-2,8	0,0061	0,035
LHX9	-0,00085	-3,8	0,00016	0,0022

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
LMX1B	-0,00046	-3	0,0034	0,022
LOXL2	-0,00035	-4,6	6,70E-06	0,00017
LPAR3	-2,00E-04	-3,2	0,0017	0,013
LRP12	-0,00015	-2,9	0,0041	0,026
MAGEA9B	-0,00089	-2,8	0,0058	0,034
MEIS3	-0,00021	-2,9	0,0036	0,024
MET	-0,00019	-4	9,80E-05	0,0015
MFSD2A	-0,00016	-3,4	0,00088	0,0081
MME	-0,00029	-3	0,0033	0,022
MSX2	-0,00032	-4,1	4,80E-05	0,00082
MYH10	-0,00024	-4,2	3,80E-05	0,00068
NAGS	-0,00017	-3,3	0,0011	0,0095
NDRG1	-3,00E-04	-5,2	5,10E-07	2,10E-05
NID1	-0,00022	-3	0,0029	0,02
NKPD1	-0,00026	-3,1	0,0019	0,014
NOX5	-0,00036	-3,2	0,0013	0,011
OTUB2	-0,00017	-3,2	0,0018	0,014
PCSK9	-0,00031	-3,6	0,00042	0,0046
PHLDA1	-0,00014	-2,7	0,0079	0,042
PHLDB2	-0,00035	-6,3	1,40E-09	1,60E-07
PNPLA3	-0,00037	-3,8	0,00019	0,0025
POPDC3	-0,00044	-3	0,0031	0,021
PTPRH	-0,00036	-3,8	0,00017	0,0023
PYGL	-0,00034	-5,6	7,10E-08	4,10E-06
RBM44	-0,00032	-3,5	0,00049	0,0051
RGS20	-3,00E-04	-3,4	7,00E-04	0,0068
RNASE7	-0,00034	-2,6	0,0094	0,048
SERPINA10	-0,00058	-2,8	0,0054	0,032
SH2D5	-0,00048	-4,3	2,50E-05	0,00049
SHANK2	-0,00033	-2,8	0,0049	0,03
SLC22A1	-0,00032	-2,7	0,0071	0,039
SLC2A9	-0,00022	-4,3	2,60E-05	0,00051
SLC6A7	-0,00048	-2,9	0,0044	0,027
SOX11	-0,00072	-4,8	2,50E-06	7,60E-05
STON2	-0,00023	-5,1	7,50E-07	2,90E-05
TFAP2E	-0,00029	-3,9	0,00014	0,002
TMC7	-0,00024	-4,3	2,40E-05	0,00048
TNS4	-0,00026	-4	9,40E-05	0,0014
TRIP13	-0,00012	-2,7	0,0077	0,041
TRPC4	-0,00024	-2,7	0,0078	0,042
TRPV3	-0,00041	-4,1	4,80E-05	0,00082
ZIC5	-0,00057	-3,2	0,0017	0,013

Tabla 11. ARNm expresados inversamente y que contienen sitios de unión previstos o validados a miR-26b-5p (MIMAT0000083)

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
ADAM12	-0,0015	-3,7	0,00023	0,0028
ADAMTS5	-0,00088	-2,8	0,0048	0,029
ALX4	-0,0025	-3	0,0031	0,021
APCDD1	-0,00068	-2,7	0,0069	0,038
ARSJ	-0,00072	-3	0,0028	0,019
ASPN	-0,0012	-2,7	0,0076	0,041
AVPR1A	-0,00094	-2,7	0,0068	0,038
BCAT1	-0,00093	-2,7	0,0067	0,037
BEND6	-0,00069	-2,6	0,0091	0,047
BICD1	-0,00057	-2,8	0,0051	0,031
C14orf37	-0,00072	-2,7	0,0074	0,04
C3orf72	-0,0021	-2,7	0,0076	0,041
CACNA1C	-0,00081	-2,9	0,0036	0,024
CALCRL	-0,00058	-2,7	0,0084	0,044
CCRN4L	-0,00057	-2,8	0,0062	0,035
CDH11	-0,001	-2,7	0,0066	0,037

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
CLSTN2	-0,0016	-3,6	0,00034	0,0039
CNTNAP2	-0,0025	-3,8	0,00018	0,0023
COL10A1	-0,0019	-3,1	0,0022	0,016
COL11A1	-0,0024	-3,5	0,00055	0,0056
COL12A1	-0,0012	-3,7	0,00026	0,0031
COL1A2	-0,0013	-3,3	0,0011	0,0092
COL5A1	-0,0012	-3,1	0,002	0,015
CRISPLD2	-0,00084	-3,2	0,0014	0,011
DCBLD1	-0,00064	-2,9	0,0044	0,027
DCLK1	-0,0012	-2,6	0,0089	0,046
DNAH17	-0,0013	-2,6	0,009	0,046
EFCAB4B	-0,00086	-3,2	0,0017	0,013
EML5	-0,00084	-3	0,0032	0,022
ENPEP	-0,00084	-3,1	0,002	0,015
ENTPD3	-0,00081	-2,9	0,0037	0,024
F2RL1	-0,00082	-2,9	0,0047	0,029
FAM169A	-0,00068	-3	0,0032	0,021
FAM198B	-0,00083	-3	0,0028	0,019
FAM26E	-0,001	-3,4	0,00076	0,0072
FMN1	-0,00092	-2,7	0,0079	0,042
FN1	-0,0013	-3,1	0,0023	0,017
FNDC1	-0,0014	-3,1	0,0025	0,018
FOXD1	-0,00099	-3,3	0,0011	0,0093
GPC4	-0,001	-2,7	0,0079	0,042
GPC6	-0,0012	-2,8	0,0049	0,03
GPX8	-0,00068	-3,3	0,0012	0,01
GREB1	-0,00076	-2,9	0,0043	0,027
GUCY1A2	-0,00085	-2,7	0,0067	0,037
HOXA13	-0,0036	-4,3	2,80E-05	0,00054
HOXD8	-0,00069	-3,3	0,00099	0,0088
HS3ST3A1	-0,00085	-2,7	0,0084	0,044
HSD17B6	-0,00064	-3,2	0,0016	0,012
HTR7	-0,0011	-2,8	0,0053	0,031
INPP4B	-0,00094	-3,3	0,00097	0,0087
ITGA5	-0,00079	-2,9	0,0037	0,024
ITGA6	-0,00064	-2,6	0,0087	0,045
KCND2	-0,0014	-3,2	0,0013	0,011
KCNJ15	-0,00093	-3,2	0,0013	0,011
KIF26B	-0,0012	-3,9	0,00011	0,0016
KIRREL	-0,00072	-2,8	0,0061	0,035
KLK2	-0,0026	-2,7	0,0068	0,038
LAMA1	-0,0017	-3,1	0,0019	0,014
LHX9	-0,0024	-2,6	0,0094	0,048
LINGO1	-0,00075	-2,7	0,0074	0,04
LMX1B	-0,0019	-3	0,0033	0,022
LOX	-0,00093	-3,2	0,0014	0,012
LOXL2	-0,00094	-3	0,0033	0,022
LPAR3	-0,00074	-2,9	0,0046	0,028
LRP12	-0,00056	-2,6	0,0086	0,045
LUM	-0,00089	-2,6	0,0087	0,045
MFAP3L	-9,00E-04	-3,1	0,0024	0,018
MFAP5	-0,0017	-3,5	0,00047	0,005
MME	-0,0016	-4	7,30E-05	0,0011
MMP16	-0,0018	-3,9	0,00012	0,0017
MSX2	-0,0011	-3,5	0,00059	0,0059
MYH10	-0,00086	-3,7	0,00026	0,0032
NDRG1	-0,00069	-2,8	0,0056	0,033
NID1	-0,0013	-4,6	5,30E-06	0,00014
OTUB2	-0,00063	-2,9	0,0041	0,026
PCDHB16	-0,001	-3,5	0,00049	0,0051
PDE3A	-0,001	-2,9	0,0036	0,023
PGM2L1	-0,00068	-2,8	0,0062	0,035

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
PHLDB2	-0,00075	-3,1	0,0018	0,014
PLOD2	-0,00075	-3,5	0,00052	0,0054
PRDM5	-0,00069	-2,7	0,0076	0,041
PRKG1	-0,00099	-3	0,0026	0,019
PRSS35	-0,0019	-2,8	0,0056	0,033
PTPRD	-0,0017	-3,5	0,00046	0,0049
RBMS3	-0,00088	-3	0,0029	0,02
RNF128	-0,0012	-2,7	0,0078	0,042
RNF152	-0,00066	-2,8	0,0062	0,035
SALL1	-0,0017	-2,6	0,0097	0,049
SEMA6D	-0,0011	-2,9	0,0037	0,024
SESN3	-0,001	-4	8,90E-05	0,0014
SFRP4	-0,0017	-2,7	0,0075	0,04
SHANK2	-0,0016	-3,4	0,00068	0,0066
SLC2A9	-0,00062	-2,9	0,0035	0,023
SNX10	-0,00066	-2,8	0,0052	0,031
SOX11	-0,0017	-2,7	0,0081	0,043
SPOCK1	-0,0013	-3,1	0,0021	0,015
ST6GALNAC5	-0,0013	-3,4	0,00078	0,0073
STON2	-0,00052	-2,8	0,0059	0,034
SULF1	-0,001	-2,9	0,0047	0,029
SYT13	-0,0033	-3,8	2,00E-04	0,0026
SYT14	-0,0025	-3,2	0,0016	0,013
TET1	-0,00077	-2,7	0,0084	0,044
TRPC4	-0,0011	-2,9	0,0046	0,028
TRPS1	-0,00063	-2,8	0,0055	0,032
VCAN	-0,0011	-3	0,0031	0,021
VEPH1	-0,0021	-3,9	0,00013	0,0018
VGLL3	-9,00E-04	-2,8	0,0062	0,035
WNT2	-0,0015	-2,8	0,0056	0,033
WNT5A	-0,00078	-2,9	0,0042	0,026
WT1	-0,0029	-3	0,003	0,02
ZFHx4	-0,0014	-4	9,50E-05	0,0014
ZNF469	-0,0011	-3	0,0032	0,021
ZNF704	-0,00093	-2,9	0,0035	0,023

Tabla 12. ARNm expresados inversamente y que contienen sitios de unión previstos o validados a miR-145-5p (MIMAT0000437)

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
APOL1	-0,00077	-3,3	0,001	0,0091
CCNA2	-0,00037	-3,2	0,0013	0,011
CMPK2	-0,00078	-3,2	0,0018	0,014
DDX60	-0,00066	-3	0,0031	0,021
DEPDC1B	-0,00039	-3	0,0027	0,019
ELOVL7	-7,00E-04	-4	9,20E-05	0,0014
EPHA4	-0,00049	-2,7	0,007	0,039
ESCO2	-0,00036	-2,6	0,0088	0,046
FAM169A	-0,00046	-2,6	0,0089	0,046
GCNT4	-0,00054	-2,9	0,004	0,026
GPR150	-0,0017	-2,8	0,0048	0,029
HOXA1	-0,00064	-2,8	0,0057	0,033
HS6ST2	-0,0012	-3	0,0033	0,022
IFI44L	-0,00094	-3	0,0029	0,02
KIAA0895	-0,00043	-2,7	0,0065	0,037
PBK	-0,00036	-2,7	0,0083	0,044
PHEX	-7,00E-04	-2,9	0,0042	0,027
PRF1	-0,00066	-2,7	0,007	0,038
RAB27B	-5,00E-04	-2,8	0,0057	0,033
SGPP2	-0,00058	-2,8	0,0059	0,034
SH2D4A	-0,00043	-2,6	0,0091	0,047
SPC24	-4,00E-04	-2,6	0,0087	0,045
TLX2	-0,0019	-2,8	0,005	0,03

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
ZIC2	-0,0013	-4	8,70E-05	0,0013
ZIC5	-0,0018	-3,3	0,001	0,0089
PLEKHH1	-0,00085	-5,2	4,40E-07	1,90E-05
GDPD4	-0,0027	-4,6	8,10E-06	2,00E-04
CAGE1	-0,0013	-4	7,40E-05	0,0012
C14orf73	-0,0016	-4	8,50E-05	0,0013
C9orf84	-0,00078	-3,8	0,00017	0,0023
C15orf42	-0,00054	-3,7	0,00023	0,0029
SEC16B	-0,00074	-3,6	0,00034	0,0039
SATL1	-0,00061	-3,6	0,00036	0,004
WARS	-0,00081	-3,6	4,00E-04	0,0044
POLQ	-0,00049	-3,6	0,00041	0,0044
CSAG3	-0,0027	-3,6	4,00E-04	0,0044
OR2A1	-0,001	-3,6	0,00044	0,0047
ZBP1	-0,0012	-3,5	0,00051	0,0053
KIAA0101	-0,00045	-3,5	0,00051	0,0053
NCRNA00114	-0,0017	-3,5	0,00057	0,0058
NEIL3	-0,00054	-3,5	0,00059	0,0059
CDCA2	-0,00045	-3,5	0,00064	0,0063
HIST1H2AJ	-0,0016	-3,4	0,00069	0,0066
C16orf75	-5,00E-04	-3,4	0,00072	0,0069
SLC44A5	-0,0011	-3,4	0,00092	0,0083
CASP5	-0,0013	-3,3	0,00097	0,0087
HERC5	-0,00073	-3,3	0,001	0,0089
ACE2	-0,00087	-3,3	0,001	0,0091
TTK	-0,00036	-3,3	0,0011	0,0093
RRM2	-0,00039	-3,3	0,0011	0,0098

Tabla 13. ARNm expresados inversamente y que contienen sitios de unión previstos o validados a miR-205-5p (MIMAT0000266)

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
BAI3	-9,90E-05	-4	8,20E-05	0,0013
42430	-5,30E-05	-6,1	4,10E-09	3,80E-07
A2M	-6,90E-05	-9,2	1,10E-17	1,50E-14
AASS	-2,40E-05	-3	0,0027	0,019
ABCA6	-9,40E-05	-8,8	1,90E-16	1,90E-13
ABCC12	-0,00012	-3,8	0,00016	0,0021
ABCD2	-9,50E-05	-5,3	2,30E-07	1,10E-05
ACACB	-5,40E-05	-5,8	2,30E-08	1,60E-06
ACSL5	-4,60E-05	-4,5	1,00E-05	0,00024
ACTC1	-0,00012	-2,9	0,0041	0,026
ADAM28	-5,20E-05	-3,7	0,00022	0,0028
ADAMTS16	-0,00012	-4,8	3,30E-06	9,70E-05
ADAMTS18	-0,00014	-6,4	8,40E-10	1,00E-07
ADAMTS4	-4,80E-05	-4,8	3,10E-06	9,20E-05
ADAMTS5	-8,20E-05	-7,9	7,20E-14	3,30E-11
ADAMTS9	-7,20E-05	-7,8	1,30E-13	5,70E-11
ADAMTSL1	-0,00011	-8,8	2,30E-16	2,20E-13
ADAMTSL2	-2,60E-05	-3,2	0,0013	0,011
ADCY2	-0,00011	-5,4	1,50E-07	7,50E-06
ADCYAP1	-9,20E-05	-4,7	3,50E-06	1,00E-04
ADCYAP1R1	-0,00011	-3,6	0,00046	0,0048
ADD2	-0,00011	-4,5	1,10E-05	0,00025
ADH1B	-0,00018	-4,8	2,30E-06	7,20E-05
ADORA3	-6,40E-05	-6,1	3,90E-09	3,70E-07
ADRA1B	-6,40E-05	-3,1	0,0019	0,014
AFF3	-8,80E-05	-5,5	1,00E-07	5,60E-06
AGTR1	-0,00019	-7,9	8,50E-14	3,80E-11
AKAP2	-7,00E-05	-6,8	9,10E-11	1,50E-08
AKAP7	-4,40E-05	-5,8	1,90E-08	1,40E-06
AKT3	-4,10E-05	-4,9	1,70E-06	5,70E-05
ALCAM	-2,70E-05	-2,7	0,0065	0,036

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
ALDH3B1	-4,50E-05	-6	5,20E-09	4,70E-07
ALPK3	-6,60E-05	-6,2	2,10E-09	2,20E-07
ALX4	-8,70E-05	-2,8	0,006	0,034
AMOT	-7,60E-05	-4,8	2,70E-06	8,20E-05
ANGPTL7	-0,00017	-5	1,30E-06	4,40E-05
ANK2	-0,00011	-8,7	3,60E-16	3,30E-13
ANTXR1	-4,00E-05	-5,2	3,40E-07	1,50E-05
APBA1	-2,50E-05	-3,2	0,0015	0,012
APLNR	-7,80E-05	-7,2	8,00E-12	1,90E-09
APOC4	-8,90E-05	-3	0,003	0,02
APOL6	-4,60E-05	-5,6	5,10E-08	3,10E-06
AQP1	-5,70E-05	-7,7	3,00E-13	1,10E-10
AQP9	-6,20E-05	-4	8,50E-05	0,0013
AR	-0,00012	-5,9	1,40E-08	1,10E-06
ARHGAP15	-5,50E-05	-5,7	2,90E-08	2,00E-06
ARHGAP24	-3,80E-05	-4,2	3,90E-05	7,00E-04
ARHGAP26	-2,70E-05	-3,2	0,0018	0,014
ARHGAP31	-4,90E-05	-6,5	3,20E-10	4,50E-08
ARHGAP42	-3,30E-05	-3,9	0,00012	0,0017
ASPA	-0,00012	-5	1,00E-06	3,60E-05
ASTN1	-8,80E-05	-2,8	0,0053	0,031
ATP10A	-8,80E-05	-9,6	6,90E-19	1,30E-15
ATP6V0A4	-0,00011	-4,3	2,00E-05	0,00042
ATP8A1	-6,00E-05	-5,7	3,30E-08	2,20E-06
ATRNL1	-7,90E-05	-3,2	0,0014	0,011
AVPR1A	-5,00E-05	-4	7,50E-05	0,0012
AXIN2	-5,90E-05	-6,7	1,20E-10	1,90E-08
B3GALT5	-0,00012	-3,2	0,0014	0,011
B4GALT6	-3,70E-05	-4,1	6,00E-05	0,00099
BACH2	-3,60E-05	-3,6	0,00039	0,0043
BCAS1	-4,30E-05	-2,6	0,0097	0,049
BCL2	-4,50E-05	-4,5	8,60E-06	0,00021
BEND4	-0,00013	-4	9,20E-05	0,0014
BEST3	-9,70E-05	-2,9	0,0038	0,025
BHLHE41	-3,50E-05	-3,3	0,00098	0,0088
BICC1	-8,80E-05	-6,9	3,80E-11	7,40E-09
BICD1	-2,10E-05	-2,8	0,0053	0,031
BMF	-2,10E-05	-2,7	0,0073	0,04
BMP3	-0,00011	-2,9	0,0041	0,026
BMP6	-5,50E-05	-6,3	1,50E-09	1,60E-07
BMP8A	-3,10E-05	-2,7	0,0064	0,036
BMPER	-5,50E-05	-3,4	0,00073	0,007
BNC2	-9,10E-05	-8,2	8,90E-15	5,30E-12
BPI	-0,00012	-3,8	2,00E-04	0,0025
BST1	-7,00E-05	-9,2	1,60E-17	2,10E-14
BTLA	-7,20E-05	-4,5	9,00E-06	0,00022
BTN3A2	-3,00E-05	-3,5	0,00047	0,0049
C10orf10	-3,50E-05	-3,8	0,00017	0,0022
C10orf128	-8,30E-05	-6,1	4,90E-09	4,50E-07
C10orf131	-7,40E-05	-2,6	0,0089	0,046
C10orf71	-0,00015	-3,3	0,0013	0,011
C11orf21	-7,70E-05	-4,1	5,40E-05	9,00E-04
C12orf68	-4,30E-05	-4	8,00E-05	0,0012
C15orf52	-2,90E-05	-2,9	0,0044	0,027
C17orf72	-4,10E-05	-4,7	4,60E-06	0,00013
C17orf82	-6,20E-05	-3,3	0,0011	0,0093
C1QTNF3	-4,20E-05	-2,9	0,0035	0,023
C22orf34	-0,00012	-3,9	0,00013	0,0018
C3orf36	-4,70E-05	-3,9	0,00015	0,002
C4orf40	-9,20E-05	-3,3	0,001	0,0089
C6	-0,00022	-6,2	2,70E-09	2,70E-07
C7	-0,00016	-5,4	1,50E-07	7,60E-06

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
CA13	-3,50E-05	-3,5	0,00061	0,0061
CA3	-0,00012	-4,3	2,70E-05	0,00052
CA8	-0,00013	-5,4	1,40E-07	7,10E-06
CABP4	-7,10E-05	-3,8	0,00019	0,0024
CACNA2D2	-4,40E-05	-4,4	1,90E-05	0,00039
CADM1	-6,80E-05	-6,1	3,30E-09	3,20E-07
CADPS2	-6,50E-05	-7,3	4,40E-12	1,20E-09
CALCRL	-4,70E-05	-6,2	2,50E-09	2,50E-07
CALN1	-1,00E-04	-3,1	0,0024	0,017
CAMK2A	-7,90E-05	-4,3	2,70E-05	0,00052
CAMK4	-6,00E-05	-4,4	1,50E-05	0,00032
CCDC141	-9,40E-05	-6,1	4,10E-09	3,90E-07
CCDC144A	-6,20E-05	-2,7	0,0085	0,045
CCDC152	-5,50E-05	-4,5	1,20E-05	0,00028
CCDC68	-7,20E-05	-3,9	1,00E-04	0,0015
CCDC80	-7,00E-05	-7,4	1,60E-12	4,90E-10
CCDC85A	-9,80E-05	-6,9	5,10E-11	9,40E-09
CCL13	-7,20E-05	-5	8,40E-07	3,20E-05
CCL21	-6,20E-05	-3,3	0,00098	0,0087
CCL22	-2,90E-05	-2,7	0,0076	0,041
CCR5	-6,40E-05	-5,4	1,20E-07	6,50E-06
CCR7	-4,30E-05	-3,3	0,0011	0,0098
CCR8	-4,60E-05	-2,7	0,0085	0,044
CD163L1	-6,30E-05	-5,9	1,30E-08	1,00E-06
CD180	-6,50E-05	-5,6	4,60E-08	2,90E-06
CD1D	-5,30E-05	-5,6	5,40E-08	3,30E-06
CD226	-6,90E-05	-4,7	4,90E-06	0,00013
CD28	-6,60E-05	-5,1	5,20E-07	2,10E-05
CD300E	-8,30E-05	-3,1	0,0025	0,018
CD4	-5,90E-05	-6,3	1,50E-09	1,70E-07
CD84	-8,70E-05	-6,8	8,00E-11	1,40E-08
CD93	-5,90E-05	-7,9	6,20E-14	2,90E-11
CDH11	-7,90E-05	-6	5,60E-09	5,00E-07
CDK14	-3,70E-05	-3,4	0,00077	0,0072
CECR1	-6,80E-05	-6,1	4,10E-09	3,80E-07
CERKL	-6,50E-05	-6,3	1,50E-09	1,70E-07
CES1	-9,70E-05	-3,9	0,00012	0,0017
CFL2	-3,20E-05	-4,6	5,80E-06	0,00015
CHN1	-4,70E-05	-5,4	1,30E-07	6,70E-06
CHRD1	-0,00017	-6,2	2,00E-09	2,10E-07
CHRFAM7A	-4,30E-05	-3,3	0,00099	0,0088
CHRNA7	-8,00E-05	-3,6	0,00039	0,0043
CHRNA2	-6,10E-05	-2,8	0,005	0,03
CHST11	-2,60E-05	-2,8	0,0051	0,03
CHST6	-6,40E-05	-4,8	2,60E-06	7,90E-05
CIITA	-5,40E-05	-4,5	9,50E-06	0,00023
CLDN11	-8,70E-05	-7,7	3,10E-13	1,20E-10
CLEC10A	-6,90E-05	-5,1	7,80E-07	3,00E-05
CLIC5	-9,30E-05	-7	1,70E-11	3,60E-09
CMKLR1	-7,80E-05	-7,7	3,60E-13	1,30E-10
CMTM7	-4,10E-05	-4,8	2,30E-06	7,10E-05
CMYA5	-8,20E-05	-4,3	2,50E-05	0,00049
CNR1	-0,00011	-4,8	2,40E-06	7,40E-05
CNTNAP2	-8,70E-05	-3,6	0,00036	0,0041
COL14A1	-8,50E-05	-8,3	5,20E-15	3,40E-12
COL1A1	-7,20E-05	-4,7	4,40E-06	0,00012
CPE	-2,80E-05	-2,8	0,0055	0,032
CPEB1	-9,80E-05	-4,8	2,50E-06	7,70E-05
CREB5	-3,20E-05	-3,1	0,0022	0,016
CRISPLD2	-5,20E-05	-5,7	4,00E-08	2,60E-06
CRMP1	-3,80E-05	-3,5	0,00064	0,0063
CSF1	-3,80E-05	-5	1,30E-06	4,40E-05

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
CSMD2	-6,30E-05	-3,9	0,00011	0,0016
CTLA4	-3,60E-05	-2,6	0,0087	0,045
CTSO	-4,90E-05	-6,8	5,70E-11	1,00E-08
CXCL11	-8,90E-05	-4	9,90E-05	0,0015
CXCR5	-5,80E-05	-3,2	0,0018	0,014
CXorf21	-6,60E-05	-5,5	8,40E-08	4,80E-06
CXXC4	-9,50E-05	-3,2	0,0015	0,012
CYBB	-8,00E-05	-7	2,40E-11	4,90E-09
CYP19A1	-7,10E-05	-5,4	1,30E-07	6,70E-06
CYP21A2	-5,50E-05	-2,9	0,0046	0,028
CYP2A7	-8,30E-05	-2,9	0,0047	0,029
CYP4V2	-4,60E-05	-5,7	3,20E-08	2,10E-06
CYSLTR2	-9,20E-05	-6,1	5,00E-09	4,50E-07
CYTH4	-4,90E-05	-5,2	4,30E-07	1,80E-05
DAAM2	-7,20E-05	-7,4	1,50E-12	4,60E-10
DAB1	-0,00012	-4,2	3,60E-05	0,00065
DACH1	-8,90E-05	-6,7	1,20E-10	1,90E-08
DAGLA	-3,90E-05	-4,2	3,50E-05	0,00064
DBX2	-0,00014	-3,8	0,00019	0,0024
DCHS1	-5,60E-05	-5,9	1,10E-08	8,90E-07
DCHS2	-6,70E-05	-3,6	0,00036	0,004
DCLK3	-3,00E-05	-2,8	0,0048	0,029
DCN	-7,80E-05	-7,9	8,70E-14	3,90E-11
DDAH1	-5,10E-05	-5,6	5,10E-08	3,10E-06
DDN	-4,50E-05	-2,7	0,0067	0,037
DDR2	-8,20E-05	-7,1	1,30E-11	2,80E-09
DGKG	-5,20E-05	-3,8	0,00017	0,0023
DGKI	-8,30E-05	-5,5	1,10E-07	6,00E-06
DIO2	-7,10E-05	-6,2	1,80E-09	1,90E-07
DLC1	-4,60E-05	-5,5	8,30E-08	4,70E-06
DLG2	-7,70E-05	-3,4	0,00092	0,0083
DMD	-3,80E-05	-3,4	0,00081	0,0075
DNAH9	-5,70E-05	-3,1	0,002	0,015
DNM3	-4,10E-05	-4,6	6,30E-06	0,00016
DOCK3	-4,10E-05	-3,8	0,00016	0,0022
DOK6	-7,10E-05	-5,6	4,70E-08	2,90E-06
DPP4	-3,40E-05	-2,8	0,0057	0,033
DPYSL3	-7,00E-05	-7	2,60E-11	5,30E-09
DUSP27	-0,00014	-3,3	0,0011	0,0093
DUSP4	-3,70E-05	-4	9,30E-05	0,0014
EBF1	-6,20E-05	-7,4	1,50E-12	4,70E-10
ECM2	-7,00E-05	-7,8	1,80E-13	7,20E-11
EDA2R	-0,00011	-11	8,70E-24	4,10E-20
EDIL3	-7,50E-05	-5,8	1,60E-08	1,20E-06
EDN3	-0,00019	-5,2	3,80E-07	1,70E-05
ELAVL4	-7,70E-05	-3,2	0,0014	0,011
ELFN2	-5,80E-05	-2,7	0,0079	0,042
ELOVL6	-3,30E-05	-3,7	3,00E-04	0,0035
ELTD1	-5,90E-05	-8,9	1,10E-16	1,10E-13
EMR2	-3,10E-05	-3,6	0,00035	0,004
EMX2	-6,20E-05	-3,3	0,0012	0,01
ENPP4	-9,40E-05	-8,2	9,20E-15	5,50E-12
ENPP5	-9,20E-05	-4	8,40E-05	0,0013
EPHA3	-8,70E-05	-6,5	3,90E-10	5,30E-08
EPHA7	-0,00014	-4,5	1,20E-05	0,00027
EPHX4	-7,50E-05	-4,4	1,50E-05	0,00032
EPS8	-6,90E-05	-6,8	6,00E-11	1,10E-08
ERBB4	-0,00016	-4,8	3,10E-06	9,20E-05
ERC2	-5,00E-05	-3,4	0,00071	0,0068
ERMN	-7,10E-05	-5	1,00E-06	3,70E-05
ESRRG	-0,00012	-4,2	4,40E-05	0,00077
ETV1	-6,50E-05	-6,2	2,80E-09	2,80E-07

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
ETV5	-4,30E-05	-4,9	1,50E-06	5,20E-05
ETV7	-2,80E-05	-2,7	0,0083	0,044
F2RL2	-6,40E-05	-4,6	6,10E-06	0,00016
FABP4	-9,80E-05	-3,9	0,00014	0,0019
FAM124A	-6,00E-05	-6,9	3,50E-11	6,80E-09
FAM124B	-7,60E-05	-7,5	1,00E-12	3,20E-10
FAM131B	-5,10E-05	-5,6	4,80E-08	3,00E-06
FAM134B	-5,60E-05	-5,3	2,80E-07	1,30E-05
FAM155A	-9,20E-05	-7	1,90E-11	4,10E-09
FAM169A	-2,60E-05	-3,1	0,0021	0,016
FAM174B	-4,80E-05	-6,5	3,80E-10	5,20E-08
FAM179A	-3,80E-05	-3,3	0,0012	0,01
FAM180A	-5,10E-05	-3,7	0,00029	0,0034
FAM19A5	-6,40E-05	-5	8,40E-07	3,10E-05
FAM26E	-6,80E-05	-6,6	1,80E-10	2,80E-08
FAM49A	-5,60E-05	-7	1,70E-11	3,70E-09
FAM78A	-4,90E-05	-6	5,40E-09	4,90E-07
FAR2	-4,40E-05	-5,6	4,80E-08	3,00E-06
FBN1	-8,50E-05	-7,1	1,50E-11	3,30E-09
FERMT2	-7,20E-05	-8,6	9,80E-16	7,80E-13
FETUB	-9,80E-05	-2,7	0,0067	0,037
FGF1	-4,50E-05	-4,4	1,30E-05	3,00E-04
FGF10	-0,00016	-5,2	4,90E-07	2,00E-05
FGF14	-0,00012	-8,4	3,90E-15	2,60E-12
FGF2	-6,70E-05	-5,7	2,90E-08	2,00E-06
FGF7	-9,30E-05	-8,7	4,20E-16	3,80E-13
FGFR1	-6,00E-05	-6,7	1,20E-10	2,00E-08
FHL5	-8,70E-05	-5,4	1,30E-07	6,80E-06
FMN1	-4,80E-05	-3,9	0,00014	0,002
FMO2	-9,40E-05	-4,6	6,80E-06	0,00017
FNDC5	-5,30E-05	-3,4	0,00092	0,0083
FOXF1	-5,60E-05	-5,9	1,20E-08	9,40E-07
FOXI2	-9,30E-05	-2,8	0,0052	0,031
FPR1	-6,20E-05	-6,2	1,90E-09	2,00E-07
FREM2	-1,00E-04	-3	0,0032	0,022
FRY	-7,00E-05	-6,9	3,20E-11	6,30E-09
FSD2	-0,00012	-3,5	0,00048	0,005
FSTL1	-6,20E-05	-7,1	1,00E-11	2,40E-09
FXVD2	-7,60E-05	-4,7	4,80E-06	0,00013
FXVD6	-8,00E-05	-6,7	1,00E-10	1,70E-08
FZD3	-4,90E-05	-5,5	1,10E-07	5,90E-06
FZD8	-2,50E-05	-2,7	0,0077	0,041
GAB3	-4,90E-05	-5,6	5,00E-08	3,10E-06
GABRA4	-1,00E-04	-2,9	0,0035	0,023
GADD45G	-3,30E-05	-3,7	0,00025	0,003
GALNT13	-6,30E-05	-2,8	0,0048	0,029
GALNT5	-5,20E-05	-3,4	9,00E-04	0,0082
GCNT4	-3,90E-05	-4,4	1,70E-05	0,00036
GDF10	-0,00017	-7,3	4,80E-12	1,20E-09
GDPD1	-2,20E-05	-2,6	0,0095	0,048
GDPD5	-2,40E-05	-3	0,0033	0,022
GFRA1	-7,80E-05	-5	1,00E-06	3,70E-05
GFRA2	-6,30E-05	-5,6	6,40E-08	3,80E-06
GJA5	-6,00E-05	-6,2	2,20E-09	2,30E-07
GLDN	-5,10E-05	-4,8	2,30E-06	7,20E-05
GLIS3	-6,20E-05	-6	7,40E-09	6,30E-07
GLRB	-8,60E-05	-5	9,90E-07	3,60E-05
GNE	-2,30E-05	-2,8	0,0054	0,032
GNG2	-3,90E-05	-4,7	3,70E-06	0,00011
GNG7	-3,50E-05	-3,6	0,00032	0,0037
GOLM1	-4,80E-05	-6,2	2,00E-09	2,10E-07
GPC6	-0,00011	-7,6	5,40E-13	1,90E-10

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
GPM6A	-8,30E-05	-3	0,0034	0,022
GPR183	-5,70E-05	-6,2	2,60E-09	2,60E-07
GPR31	-9,40E-05	-3	0,0033	0,022
GPR4	-3,40E-05	-4,7	4,70E-06	0,00013
GPR88	-0,00015	-5,1	6,20E-07	2,50E-05
GPX8	-3,60E-05	-4,8	2,90E-06	8,60E-05
GRAMD1B	-4,30E-05	-3,8	0,00019	0,0025
GRAP2	-5,10E-05	-4,4	1,40E-05	0,00031
GRB14	-6,60E-05	-3,2	0,0017	0,013
GREB1	-3,50E-05	-3,6	0,00037	0,0041
GREM2	-0,00012	-5,6	4,50E-08	2,80E-06
GRIA1	-0,00012	-3,7	3,00E-04	0,0035
GRID1	-4,60E-05	-4,5	8,80E-06	0,00021
GSG1L	-9,10E-05	-3	0,0031	0,021
GSR	-2,60E-05	-2,9	0,004	0,026
GUCA1A	-6,50E-05	-3,5	0,00055	0,0056
GUCY1A2	-4,80E-05	-4,3	2,60E-05	0,00051
HCN1	-9,90E-05	-3,2	0,0013	0,011
HDX	-8,00E-05	-6,3	1,30E-09	1,50E-07
HEYL	-4,10E-05	-4,4	1,80E-05	0,00038
HFE2	-0,00017	-3,6	4,00E-04	0,0043
HHIPL1	-5,30E-05	-5,2	4,30E-07	1,80E-05
HIST2H2BE	-2,20E-05	-2,6	0,0095	0,048
HLA-DPB1	-6,10E-05	-6,3	1,60E-09	1,80E-07
HLA-DQB1	-6,00E-05	-5,1	8,20E-07	3,10E-05
HS6ST3	-9,80E-05	-3	0,0032	0,021
HSD11B1	-9,10E-05	-6,5	3,70E-10	5,00E-08
HSPA12B	-6,10E-05	-8,4	2,70E-15	1,90E-12
HTR1F	-9,90E-05	-4,1	5,30E-05	9,00E-04
HUNK	-3,30E-05	-2,8	0,0051	0,031
ICAIL	-3,60E-05	-4,6	6,20E-06	0,00016
ICAM2	-3,90E-05	-5,4	1,90E-07	9,40E-06
IFI44L	-4,70E-05	-3,1	0,0021	0,016
IGFBPL1	-9,00E-05	-2,7	0,0071	0,039
IGLON5	-3,50E-05	-3,2	0,0017	0,013
IKZF1	-5,70E-05	-5	1,10E-06	3,90E-05
IKZF3	-6,70E-05	-3,5	0,00049	0,0051
IL15	-2,60E-05	-3,1	0,0025	0,018
IL16	-4,40E-05	-5,1	5,40E-07	2,20E-05
IL17D	-6,70E-05	-3,8	0,00018	0,0023
IL18BP	-2,70E-05	-3,2	0,0016	0,013
IL21R	-4,70E-05	-4	8,00E-05	0,0012
IL5RA	-1,00E-04	-3,2	0,0016	0,013
IL6ST	-3,40E-05	-4,3	2,90E-05	0,00055
IMPG2	-4,50E-05	-2,7	0,0069	0,038
IPCEF1	-4,40E-05	-4,2	3,40E-05	0,00063
IRAK3	-3,60E-05	-3,6	0,00036	0,0041
IRF1	-2,40E-05	-3	0,0033	0,022
ITGA11	-8,60E-05	-5,8	2,00E-08	1,50E-06
ITGA8	-7,80E-05	-4,7	5,20E-06	0,00014
ITGB1BP2	-5,90E-05	-4,1	6,20E-05	0,001
ITGB3	-6,20E-05	-5,8	1,50E-08	1,20E-06
JPH4	-7,10E-05	-6,8	6,50E-11	1,20E-08
KAL1	-4,30E-05	-3,7	0,00026	0,0031
KAT2B	-3,00E-05	-4	9,10E-05	0,0014
KBTBD11	-3,80E-05	-3,9	0,00015	0,002
KCNAB1	-2,40E-05	-3,3	0,0011	0,0094
KCNB1	-0,00018	-6,1	4,90E-09	4,40E-07
KCNC1	-8,70E-05	-3,3	0,0011	0,0095
KCND1	-2,70E-05	-3	0,0031	0,021
KCND2	-0,00011	-7,5	9,00E-13	2,90E-10
KCNE4	-5,60E-05	-5,3	2,20E-07	1,00E-05

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
KCNH1	-6,50E-05	-3,1	0,0019	0,014
KCNJ16	-0,00013	-3,5	0,00047	0,0049
KCNJ5	-3,40E-05	-2,7	0,0079	0,042
KCNJ6	-9,20E-05	-3,2	0,0016	0,013
KCNJ8	-5,50E-05	-5,9	1,00E-08	8,40E-07
KCNK3	-9,70E-05	-5,6	5,20E-08	3,20E-06
KCNMB1	-3,70E-05	-5,1	5,70E-07	2,30E-05
KCNMB4	-4,20E-05	-3,5	0,00046	0,0049
KCNN3	-4,50E-05	-4,3	2,40E-05	0,00048
KCNQ1	-3,10E-05	-3,8	0,00016	0,0021
KCNQ3	-7,10E-05	-3,9	1,00E-04	0,0015
KCNT1	-0,00013	-4,1	6,10E-05	0,001
KCNT2	-0,00013	-7,8	1,60E-13	6,70E-11
KDELR3	-2,80E-05	-3,2	0,0016	0,012
KDR	-4,70E-05	-5,9	1,20E-08	9,50E-07
KIAA1024	-3,30E-05	-3,8	0,00021	0,0026
KIAA 1199	-4,70E-05	-4,7	5,20E-06	0,00014
KIAA1324L	-5,00E-05	-5,5	1,10E-07	6,10E-06
KIAA1462	-6,50E-05	-7,5	8,80E-13	2,90E-10
KIF26B	-3,80E-05	-3,5	0,00058	0,0058
KIF5C	-5,30E-05	-5,5	1,10E-07	5,90E-06
KIF6	-7,10E-05	-3,6	0,00044	0,0047
KIT	-7,30E-05	-6,6	2,20E-10	3,20E-08
KLF12	-2,80E-05	-3,2	0,0015	0,012
KLF2	-3,20E-05	-4,2	4,10E-05	0,00072
KLF9	-4,20E-05	-6,1	4,30E-09	4,00E-07
KLHDC8A	-9,40E-05	-6	5,90E-09	5,20E-07
KLHL14	-1,00E-04	-3,9	0,00014	0,0019
KLHL6	-4,30E-05	-4,4	1,60E-05	0,00035
KLRB1	-5,70E-05	-4	8,80E-05	0,0013
KLRG1	-7,30E-05	-6,3	1,40E-09	1,60E-07
KLRK1	-7,40E-05	-5,3	2,50E-07	1,20E-05
KMO	-3,60E-05	-3,4	0,00089	0,0081
KRBA2	-3,00E-05	-2,9	0,0035	0,023
KSR2	-8,30E-05	-3,7	0,00022	0,0027
LAMA4	-5,80E-05	-6,3	1,40E-09	1,60E-07
LARGE	-2,50E-05	-2,9	0,0037	0,024
LAYN	-3,10E-05	-3,3	0,001	0,0091
LCA5	-2,00E-05	-2,8	0,0064	0,036
LCN6	-0,00014	-4,5	1,20E-05	0,00027
LCP2	-5,10E-05	-5,7	3,00E-08	2,00E-06
LEF1	-5,10E-05	-5,8	2,30E-08	1,60E-06
LGI2	-5,80E-05	-4,2	3,70E-05	0,00068
LIFR	-3,20E-05	-2,8	0,005	0,03
LILRA1	-9,30E-05	-4,1	4,90E-05	0,00084
LILRB 1	-6,30E-05	-5,7	2,90E-08	2,00E-06
LILRB2	-6,70E-05	-6	7,10E-09	6,10E-07
LIMCH1	-3,60E-05	-3,3	0,0012	0,01
LIMD2	-2,10E-05	-2,7	0,0074	0,04
LIMS2	-4,70E-05	-6,5	4,00E-10	5,40E-08
LIN7A	-7,30E-05	-4,1	6,10E-05	0,001
LMO3	-0,00014	-5	1,30E-06	4,40E-05
LMO7	-3,90E-05	-4,3	2,60E-05	0,00051
LMOD3	-0,00011	-3,2	0,0018	0,014
LMX1A	-0,00016	-5	9,30E-07	3,40E-05
LONRF2	-0,00012	-4,6	7,20E-06	0,00018
LONRF3	-8,90E-05	-5,9	1,10E-08	8,80E-07
LOX	-3,80E-05	-3,5	0,00046	0,0049
LPAR1	-5,50E-05	-6,9	3,10E-11	6,10E-09
LPPR4	-4,90E-05	-5,1	8,20E-07	3,10E-05
LRRC2	-0,00013	-5,6	5,90E-08	3,50E-06
LRRC4C	-0,00016	-6,4	6,10E-10	7,80E-08

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
LRRK2	-7,30E-05	-6,3	1,00E-09	1,20E-07
LRRN2	-8,20E-05	-5,9	9,20E-09	7,50E-07
LRRTM2	-6,40E-05	-4,3	2,50E-05	0,00049
LSAMP	-1,00E-04	-7,3	2,90E-12	8,10E-10
LTA	-5,00E-05	-3,5	0,00056	0,0057
LUZP2	-0,00013	-4,7	3,60E-06	1,00E-04
LYZ	-9,00E-05	-6,3	1,40E-09	1,60E-07
MAGI2	-2,80E-05	-3,3	0,0013	0,011
MAML3	-3,80E-05	-4,6	6,40E-06	0,00016
MAN1A1	-4,10E-05	-4,8	3,10E-06	9,20E-05
MAP2K6	-3,40E-05	-3,4	0,00074	0,007
MAP6	-5,20E-05	-3,9	0,00012	0,0017
MAP9	-5,80E-05	-4,6	5,90E-06	0,00015
MAPK4	-9,10E-05	-3,4	0,00088	0,008
MAT1A	-5,80E-05	-2,8	0,0052	0,031
MCOLN2	-2,80E-05	-3	0,0033	0,022
MDGA1	-3,00E-05	-2,6	0,0089	0,046
MEF2C	-7,40E-05	-6,5	4,00E-10	5,40E-08
MERTK	-6,40E-05	-6,3	1,20E-09	1,40E-07
MFNG	-3,80E-05	-4,7	3,90E-06	0,00011
MGAT4A	-6,40E-05	-8,1	1,70E-14	9,40E-12
MMP16	-9,10E-05	-5,5	9,50E-08	5,30E-06
MNDA	-5,70E-05	-5,5	7,20E-08	4,20E-06
MPP2	-4,20E-05	-3,7	0,00026	0,0031
MRGPRF	-5,50E-05	-6,2	2,30E-09	2,40E-07
MRO	-0,00013	-8,7	3,40E-16	3,00E-13
MURC	-7,30E-05	-4	7,50E-05	0,0012
MYEF2	-7,80E-05	-6	5,10E-09	4,60E-07
MYO1F	-5,30E-05	-6,1	4,70E-09	4,30E-07
MYOCD	-6,80E-05	-2,9	0,0045	0,028
MYOZ3	-7,10E-05	-3,7	0,00025	0,003
MYPN	-0,00013	-3,7	0,00029	0,0034
MYRIP	-9,00E-05	-4,8	2,80E-06	8,50E-05
NAP1L6	-1,00E-04	-3,1	0,0021	0,016
NAT8L	-8,50E-05	-5	9,70E-07	3,50E-05
NCAM1	-9,00E-05	-5,2	4,10E-07	1,80E-05
NCAM2	-0,00013	-6,1	4,10E-09	3,80E-07
NEGR1	-0,00011	-7,9	8,50E-14	3,80E-11
NEK10	-5,70E-05	-3	0,0034	0,023
NEXN	-7,30E-05	-6,2	1,70E-09	1,90E-07
NHSL2	-8,60E-05	-6,5	5,40E-10	6,90E-08
NID2	-6,10E-05	-5,3	2,10E-07	1,00E-05
NIPSNAP3B	-3,10E-05	-3,6	0,00034	0,0038
NKX3-2	-7,00E-05	-3,5	0,00065	0,0064
NLGN4X	-5,20E-05	-3,1	0,002	0,015
NLRC3	-4,10E-05	-4,4	1,90E-05	0,00039
NOS1	-9,60E-05	-3,6	0,00043	0,0046
NOTCH4	-3,70E-05	-5,1	7,10E-07	2,80E-05
NPAS3	-8,10E-05	-5	1,00E-06	3,70E-05
NPHP1	-2,70E-05	-3,3	0,001	0,0092
NPTXR	-4,50E-05	-3,2	0,0014	0,011
NR3C2	-5,60E-05	-3,8	0,00015	0,0021
NR5A2	-5,00E-05	-6,6	3,10E-10	4,40E-08
NRG2	-0,00011	-5,1	5,90E-07	2,40E-05
NRIP2	-2,60E-05	-3,2	0,0015	0,012
NRXN3	-8,30E-05	-4,3	2,70E-05	0,00052
NT5C1A	-1,00E-04	-3,1	0,0025	0,018
NT5E	-3,60E-05	-2,7	0,0067	0,037
NTNG1	-0,00012	-4,4	1,50E-05	0,00033
NXPH3	-7,80E-05	-7,9	9,50E-14	4,20E-11
OGN	-0,00021	-8,4	4,00E-15	2,60E-12
ORA12	-2,60E-05	-3,5	0,00057	0,0057

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
OTOF	-6,40E-05	-4,1	5,30E-05	9,00E-04
OTX2	-0,00011	-3	0,0028	0,019
P2RX7	-3,50E-05	-3	0,003	0,02
P2RY14	-5,20E-05	-5,1	5,40E-07	2,20E-05
PACSIN1	-8,00E-05	-5	9,60E-07	3,50E-05
PAK3	-0,00017	-6,2	2,40E-09	2,50E-07
PALM2	-6,00E-05	-6,2	2,00E-09	2,10E-07
PALM2-AKAP2	-5,20E-05	-6,5	4,80E-10	6,30E-08
PAQR8	-5,40E-05	-6,4	9,20E-10	1,10E-07
PARD3B	-5,10E-05	-4,6	7,50E-06	0,00019
PAX7	-0,00014	-3,4	0,00076	0,0072
PBX1	-3,50E-05	-2,7	0,0064	0,036
PCDH10	-9,10E-05	-3,1	0,0021	0,015
PCDH19	-9,50E-05	-4,1	6,00E-05	0,00099
PCDH20	-0,00011	-3,5	0,00052	0,0053
PCDHB16	-3,60E-05	-3,4	9,00E-04	0,0082
PCDHB5	-6,50E-05	-4,7	3,70E-06	0,00011
PCSK1	-4,30E-05	-3,2	0,0016	0,013
PCSK2	-0,00011	-3,1	0,0024	0,018
PCYT1B	-7,30E-05	-3,2	0,0014	0,012
PDE11A	-0,00014	-4,5	9,30E-06	0,00022
PDE1C	-9,50E-05	-5,5	1,00E-07	5,60E-06
PDE3A	-7,20E-05	-5,9	1,10E-08	8,70E-07
PDE3B	-4,50E-05	-3,9	0,00012	0,0017
PDE5A	-3,10E-05	-3,7	0,00024	0,0029
PDE8B	-3,00E-05	-3,6	4,00E-04	0,0044
PDK4	-1,00E-04	-7,2	5,00E-12	1,30E-09
PDLIM3	-8,60E-05	-5,3	2,00E-07	9,60E-06
PEG10	-6,60E-05	-3,2	0,0015	0,012
PEG3	-1,00E-04	-6,2	2,40E-09	2,40E-07
PELI2	-4,80E-05	-4,4	1,90E-05	4,00E-04
PGM2L1	-3,00E-05	-3,4	0,00091	0,0083
PGPEP1	-3,10E-05	-3,9	1,00E-04	0,0015
PHACTR1	-4,80E-05	-5,2	4,40E-07	1,90E-05
PI15	-3,40E-05	-2,7	0,0072	0,039
PI16	-0,00017	-7	2,30E-11	4,70E-09
PIPOX	-5,50E-05	-4,7	4,70E-06	0,00013
PKD2L1	-9,10E-05	-4,1	6,60E-05	0,0011
PKHD1	-0,00011	-3,6	0,00038	0,0042
PKIA	-4,50E-05	-3,3	0,0011	0,0095
PLA2G16	-6,70E-05	-6,8	8,90E-11	1,50E-08
PLA2G2D	-0,00012	-4,4	1,30E-05	0,00029
PLA2G7	-6,40E-05	-5,5	7,90E-08	4,50E-06
PLCB1	-4,70E-05	-5,1	6,80E-07	2,70E-05
PLCL1	-3,90E-05	-4,9	2,00E-06	6,30E-05
PLCXD3	-0,00011	-3,6	0,00043	0,0046
PLEK	-5,10E-05	-4,6	6,10E-06	0,00016
PLEKHG1	-4,80E-05	-6	5,60E-09	5,00E-07
PLEKHH2	-3,00E-05	-3	0,0033	0,022
PLN	-0,00012	-6,9	3,50E-11	6,70E-09
PLP1	-7,90E-05	-2,8	0,0052	0,031
PLSCR4	-2,90E-05	-3,8	0,00016	0,0021
PLXDC2	-4,80E-05	-5,5	9,60E-08	5,30E-06
PLXNA4	-6,00E-05	-5	1,00E-06	3,80E-05
PLXNC1	-8,00E-05	-7,1	1,60E-11	3,60E-09
PNMA2	-8,80E-05	-6,9	3,50E-11	6,80E-09
PODXL	-3,70E-05	-5,1	7,30E-07	2,80E-05
POU6F1	-3,90E-05	-5,3	2,30E-07	1,10E-05
PPAPDC1A	-1,00E-04	-5	1,30E-06	4,50E-05
PPM1H	-5,90E-05	-4,6	6,50E-06	0,00017
PPM1L	-5,20E-05	-4,7	4,20E-06	0,00012
PPP1R3A	-0,00016	-3,5	0,00058	0,0059

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
PRDM16	-8,60E-05	-6,8	5,80E-11	1,00E-08
PREX2	-0,00011	-8,8	2,20E-16	2,10E-13
PRKAG3	-0,00011	-2,9	0,004	0,025
PRLR	-6,50E-05	-3,6	0,00036	0,004
PRND	-0,00014	-6,2	2,30E-09	2,40E-07
PROX1	-6,70E-05	-4,8	3,30E-06	9,70E-05
PRR15	-4,70E-05	-2,6	0,0088	0,046
PRR16	-5,70E-05	-5,4	1,20E-07	6,40E-06
PRRG3	-0,00013	-3,8	0,00016	0,0021
PRRX1	-6,40E-05	-6,1	4,00E-09	3,80E-07
PRUNE2	-9,60E-05	-5,8	2,10E-08	1,50E-06
PSD	-3,60E-05	-4,5	1,20E-05	0,00027
PSD3	-2,10E-05	-2,6	0,0097	0,049
PTCHD1	-0,00014	-4,5	8,90E-06	0,00021
PTGER3	-7,60E-05	-5,7	3,90E-08	2,50E-06
PTGFR	-8,70E-05	-6,4	7,90E-10	9,60E-08
PTGIR	-3,70E-05	-4,4	1,90E-05	4,00E-04
PTPLAD2	-2,40E-05	-2,8	0,0064	0,036
PTPN7	-3,50E-05	-3,2	0,0015	0,012
PTPRB	-6,30E-05	-8,7	3,60E-16	3,30E-13
PTPRC	-6,60E-05	-5,7	4,10E-08	2,60E-06
PTPRD	-0,00014	-8,3	7,00E-15	4,30E-12
PTPRG	-2,60E-05	-3,4	0,00078	0,0074
PTPRJ	-4,20E-05	-5,3	2,70E-07	1,20E-05
PTPRM	-4,70E-05	-6,2	2,50E-09	2,60E-07
PTPRT	-0,00013	-4,1	6,50E-05	0,0011
PTX3	-1,00E-04	-5,2	3,90E-07	1,70E-05
PURG	-0,00011	-4,4	1,60E-05	0,00034
PVRL3	-4,40E-05	-3,5	0,00051	0,0053
PYGO1	-1,00E-04	-6	5,60E-09	5,00E-07
RAB15	-3,70E-05	-4,9	2,00E-06	6,30E-05
RAB19	-0,00013	-5,6	6,40E-08	3,80E-06
RAB3B	-8,00E-05	-3,6	4,00E-04	0,0044
RAB3C	-0,00012	-4	6,80E-05	0,0011
RAB6B	-3,90E-05	-3	0,0034	0,023
RAB9B	-0,00012	-5,5	9,80E-08	5,40E-06
RARRES3	-5,10E-05	-4,6	5,90E-06	0,00015
RASGRF2	-7,60E-05	-7,8	2,00E-13	8,20E-11
RASGRP1	-3,50E-05	-3	0,0027	0,019
RASL10B	-5,00E-05	-4,2	4,50E-05	0,00078
RASSF2	-5,90E-05	-6,7	1,20E-10	2,00E-08
RASSF4	-5,70E-05	-6,9	4,50E-11	8,50E-09
RASSF8	-3,50E-05	-4,3	2,10E-05	0,00043
RBMS3	-8,30E-05	-8,6	6,30E-16	5,30E-13
RBPMS2	-5,90E-05	-6,4	6,50E-10	8,20E-08
RCAN2	-6,80E-05	-7,4	2,20E-12	6,40E-10
REEP2	-4,30E-05	-4,2	4,20E-05	0,00075
RELN	-0,00012	-5,8	1,60E-08	1,20E-06
RGAG4	-5,80E-05	-5,8	1,90E-08	1,40E-06
RGS18	-6,70E-05	-6,6	3,10E-10	4,30E-08
RGS5	-4,80E-05	-4,5	1,00E-05	0,00024
RGS8	-8,10E-05	-3,4	0,00089	0,0081
RHOH	-4,30E-05	-4,1	5,90E-05	0,00098
RHOU	-3,00E-05	-3,6	0,00033	0,0038
RIMKLA	-7,40E-05	-3,3	0,0012	0,01
RIMS4	-0,00018	-6,9	4,70E-11	8,80E-09
RLN2	-7,50E-05	-2,7	0,0073	0,04
RNF150	-0,00011	-7,1	1,10E-11	2,60E-09
RNF152	-2,60E-05	-2,9	0,0035	0,023
RNF157	-6,10E-05	-6,8	5,50E-11	1,00E-08
RNF180	-8,00E-05	-7,2	7,70E-12	1,90E-09
ROR2	-6,00E-05	-4,7	4,10E-06	0,00012

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
RORA	-3,00E-05	-3,6	0,00042	0,0045
RPS6KA6	-0,00016	-4,7	4,90E-06	0,00013
RRAGD	-3,50E-05	-3,4	0,00067	0,0065
RSPO3	-0,00015	-11	5,90E-23	2,40E-19
RUNX1T1	-1,00E-04	-6,9	5,00E-11	9,20E-09
RUNX2	-3,10E-05	-4,4	1,90E-05	4,00E-04
S1PR1	-6,10E-05	-8,6	9,60E-16	7,70E-13
S1PR3	-6,80E-05	-8,3	4,90E-15	3,20E-12
SALL1	-7,70E-05	-3,1	0,0019	0,015
SALL2	-6,30E-05	-5,2	3,40E-07	1,50E-05
SAMD4A	-3,10E-05	-3,7	0,00023	0,0028
SAMD5	-6,40E-05	-4,5	1,20E-05	0,00028
SARDH	-4,20E-05	-4	7,40E-05	0,0012
SARM1	-6,00E-05	-6,8	9,50E-11	1,60E-08
SCAMP5	-2,70E-05	-3	0,0031	0,021
SCIN	-6,60E-05	-4,6	5,60E-06	0,00015
SCML4	-9,20E-05	-4,8	2,40E-06	7,40E-05
SCN3A	-0,00011	-6,8	7,90E-11	1,40E-08
SCN7A	-8,80E-05	-2,9	0,0047	0,029
SCN9A	-9,20E-05	-4,8	2,60E-06	7,80E-05
SCUBE1	-6,80E-05	-4,8	3,20E-06	9,40E-05
SELE	-9,40E-05	-5,7	3,90E-08	2,50E-06
SELP	-9,20E-05	-5,5	1,00E-07	5,70E-06
SELPLG	-4,40E-05	-5,3	3,00E-07	1,40E-05
SEMA3A	-5,90E-05	-4,4	1,60E-05	0,00034
SEMA3E	-0,00013	-3,6	0,00034	0,0039
SEMA7A	-2,60E-05	-3,5	0,00064	0,0063
SERPINA1	-5,90E-05	-5,6	5,20E-08	3,20E-06
SERPINA5	-0,00012	-5,7	4,20E-08	2,70E-06
SERPING1	-6,20E-05	-6,8	7,10E-11	1,20E-08
SFMBT2	-5,50E-05	-5,5	9,10E-08	5,10E-06
SGCD	-0,00011	-7,7	3,30E-13	1,20E-10
SGIP1	-5,00E-05	-4,5	1,10E-05	0,00025
SH2D1A	-8,70E-05	-5,8	1,80E-08	1,30E-06
SHE	-5,50E-05	-5,7	4,20E-08	2,60E-06
SHISA6	-0,00012	-3,4	0,00082	0,0076
SIDT1	-7,70E-05	-6	7,80E-09	6,60E-07
SIGLEC14	-9,00E-05	-4,2	4,40E-05	0,00078
SIGLEC8	-9,70E-05	-5,4	1,80E-07	9,00E-06
SIGLEC9	-6,50E-05	-7,5	1,10E-12	3,60E-10
SIM1	-0,00011	-3	0,0027	0,019
SLA	-5,40E-05	-5,7	2,90E-08	2,00E-06
SLAMF1	-4,70E-05	-3,9	0,00012	0,0017
SLC11A1	-4,60E-05	-4,5	9,00E-06	0,00022
SLC12A3	-8,00E-05	-3,3	0,00095	0,0085
SLC16A10	-5,90E-05	-6,2	1,90E-09	2,00E-07
SLC1A2	-4,10E-05	-2,8	0,0056	0,033
SLC22A16	-6,40E-05	-2,7	0,0069	0,038
SLC24A2	-9,80E-05	-3,5	0,00051	0,0053
SLC2A5	-6,50E-05	-6,9	5,00E-11	9,20E-09
SLC39A14	-2,80E-05	-3,9	0,00013	0,0018
SLC46A2	-7,20E-05	-4,2	3,40E-05	0,00063
SLC4A4	-9,60E-05	-5	1,10E-06	3,80E-05
SLC6A1	-6,80E-05	-4,2	3,40E-05	0,00063
SLC6A20	-9,20E-05	-3,9	0,00011	0,0016
SLC6A4	-7,40E-05	-2,6	0,0094	0,048
SLC7A2	-4,20E-05	-2,9	0,004	0,025
SLC7A3	-0,00011	-3,8	0,00018	0,0023
SLC7A7	-6,70E-05	-7	1,80E-11	3,90E-09
SLC8A1	-5,90E-05	-6,8	5,40E-11	9,90E-09
SLC8A3	-0,00011	-5,3	3,20E-07	1,40E-05
SLC9A7	-3,90E-05	-4,4	1,30E-05	0,00029

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
SLC9A9	-3,20E-05	-3,2	0,0015	0,012
SLCO5A1	-5,40E-05	-4,6	6,80E-06	0,00017
SLFN12L	-3,30E-05	-3,4	0,00085	0,0078
SLIT2	-7,50E-05	-5,7	3,00E-08	2,00E-06
SLIT3	-7,20E-05	-6,2	2,50E-09	2,60E-07
SLITRK4	-0,00016	-6,5	4,30E-10	5,70E-08
SMOC1	-5,30E-05	-3,3	0,00096	0,0086
SMTNL1	-8,00E-05	-3,6	0,00037	0,0042
SMTNL2	-0,00014	-7,3	4,40E-12	1,10E-09
SNAP25	-6,70E-05	-4,8	3,20E-06	9,40E-05
SNED1	-8,70E-05	-8,6	5,70E-16	4,90E-13
SNX32	-7,10E-05	-3,1	0,0022	0,016
SORBS1	-7,20E-05	-7,3	2,80E-12	7,90E-10
SOX17	-6,00E-05	-7,5	1,10E-12	3,50E-10
SOX5	-0,00011	-7	2,10E-11	4,40E-09
SP6	-3,00E-05	-3,7	0,00026	0,0032
SPARC	-5,90E-05	-5,4	1,20E-07	6,30E-06
SPATA13	-6,60E-05	-6,4	8,60E-10	1,00E-07
SPN	-5,20E-05	-4,8	3,30E-06	9,60E-05
SPOCK2	-4,60E-05	-4,4	1,80E-05	0,00038
SRPX2	-5,50E-05	-7	2,30E-11	4,70E-09
SSC5D	-7,10E-05	-6,2	2,70E-09	2,70E-07
ST18	-9,10E-05	-3,8	0,00018	0,0023
ST3GAL1	-2,80E-05	-3,5	0,00062	0,0062
ST3GAL6	-2,20E-05	-3	0,003	0,021
ST6GAL1	-5,60E-05	-5	1,20E-06	4,20E-05
ST6GAL2	-0,00014	-6,3	1,30E-09	1,50E-07
ST6GALNAC3	-6,40E-05	-8,6	1,00E-15	8,00E-13
ST6GALNAC5	-8,00E-05	-6,1	3,30E-09	3,20E-07
ST8SIA4	-5,00E-05	-6,3	1,30E-09	1,50E-07
STARD13	-3,70E-05	-4,8	3,10E-06	9,10E-05
STAT1	-3,20E-05	-3,6	0,00042	0,0045
STC1	-4,40E-05	-4,3	2,10E-05	0,00043
STEAP2	-5,00E-05	-5,6	5,00E-08	3,10E-06
SUCNR1	-5,20E-05	-3,3	0,001	0,0091
SULF1	-8,90E-05	-7,3	4,20E-12	1,10E-09
SV2B	-7,10E-05	-3,6	0,00033	0,0037
SVIP	-6,00E-05	-5,1	7,20E-07	2,80E-05
SYNPO2	-7,50E-05	-4,5	1,00E-05	0,00024
SYN	-4,50E-05	-4,7	3,90E-06	0,00011
SYPL2	-7,40E-05	-4,2	3,30E-05	0,00061
SYT13	-1,00E-04	-3,1	0,002	0,015
SYT9	-9,40E-05	-2,9	0,0039	0,025
SYTL4	-4,90E-05	-5,9	1,30E-08	1,00E-06
TBX15	-6,50E-05	-4,8	2,20E-06	6,90E-05
TBX21	-5,70E-05	-4,5	1,00E-05	0,00024
TCN2	-5,90E-05	-6,7	1,60E-10	2,50E-08
TDGF1	-0,00012	-3,9	0,00013	0,0019
TET1	-3,70E-05	-3,5	0,00054	0,0055
THBS1	-4,70E-05	-4,1	5,00E-05	0,00085
THSD7A	-0,00011	-8,6	1,10E-15	8,50E-13
TIMD4	-0,00019	-6,4	5,80E-10	7,40E-08
TIMP2	-7,30E-05	-8,3	5,60E-15	3,50E-12
TLR4	-8,60E-05	-9,5	1,80E-18	2,90E-15
TLR8	-8,70E-05	-6,8	9,20E-11	1,60E-08
TM4SF18	-4,50E-05	-6	7,70E-09	6,50E-07
TMEM156	-3,70E-05	-3,2	0,0018	0,014
TMEM170B	-7,00E-05	-8,3	5,70E-15	3,60E-12
TMEM182	-2,60E-05	-3,5	0,00064	0,0063
TMEM231	-3,90E-05	-4,3	2,90E-05	0,00056
TMEM26	-6,20E-05	-5,9	1,50E-08	1,10E-06
TMEM47	-6,10E-05	-6,8	8,50E-11	1,50E-08

ES 2 986 046 T3

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
TMEM86A	-2,60E-05	-2,8	0,0055	0,032
TMEM98	-4,10E-05	-4,9	1,70E-06	5,50E-05
TMTC1	-8,40E-05	-6,6	2,60E-10	3,70E-08
TNFSF11	-4,60E-05	-3,3	0,0011	0,0098
TNFSF15	-4,90E-05	-3,6	0,00045	0,0048
TNFSF4	-5,50E-05	-4,8	3,00E-06	9,00E-05
TNFSF8	-8,50E-05	-5,5	9,90E-08	5,40E-06
TNIK	-5,80E-05	-5,2	3,20E-07	1,40E-05
TNNI1	-7,10E-05	-3,5	0,00061	0,0061
TNR	-0,00012	-4,1	5,50E-05	0,00092
TNS3	-3,80E-05	-4,9	1,40E-06	4,90E-05
TOX	-4,70E-05	-4,2	4,00E-05	0,00071
TRAT1	-0,00011	-4,9	2,00E-06	6,30E-05
TREM2	-4,20E-05	-3,8	0,00015	0,0021
TREML2	-4,20E-05	-2,9	0,004	0,025
TRHDE	-0,00013	-3,9	0,00011	0,0016
TRIM2	-3,40E-05	-3,1	0,002	0,015
TRIM58	-8,40E-05	-3,3	0,001	0,009
TRPC6	-3,00E-05	-3,5	0,00061	0,0061
TRPM8	-9,60E-05	-3,6	0,00041	0,0045
TRPS1	-2,30E-05	-2,8	0,0052	0,031
TSPAN11	-5,10E-05	-4,4	1,80E-05	0,00038
TSPAN18	-6,80E-05	-5,6	4,80E-08	3,00E-06
TSPAN5	-2,40E-05	-3	0,0031	0,021
TSPAN7	-6,90E-05	-4,6	6,50E-06	0,00017
TTC28	-4,00E-05	-4,4	1,80E-05	0,00037
TTLL7	-3,10E-05	-2,7	0,0077	0,041
TTYH2	-2,50E-05	-3,1	0,0021	0,015
TUB	-6,30E-05	-5,2	3,50E-07	1,50E-05
TWIST2	-4,40E-05	-4,4	1,90E-05	0,00039
TYRP1	-9,10E-05	-3,1	0,0024	0,017
UBE2QL1	-3,70E-05	-2,9	0,0041	0,026
UBXN10	-7,60E-05	-5,2	3,30E-07	1,50E-05
UGT2B4	-8,00E-05	-3	0,0032	0,021
UNC5C	-9,40E-05	-4,5	1,20E-05	0,00027
USP13	-3,90E-05	-5	1,30E-06	4,60E-05
VASH1	-5,10E-05	-7	2,10E-11	4,40E-09
VASH2	-5,10E-05	-4,3	2,20E-05	0,00044
VAT1L	-1,00E-04	-5,5	8,60E-08	4,80E-06
VENTX	-7,30E-05	-5,4	1,20E-07	6,60E-06
VGLL2	-0,00012	-2,9	0,0039	0,025
VGLL3	-7,00E-05	-6,2	2,00E-09	2,10E-07
VSIG10	-2,30E-05	-3	0,003	0,021
VWC2	-9,00E-05	-2,6	0,0098	0,049
WFIKN2	-9,70E-05	-3	0,0034	0,022
WISP2	-0,00015	-8,6	1,00E-15	8,10E-13
WNT2	-9,20E-05	-4,8	2,90E-06	8,50E-05
WNT5A	-4,30E-05	-4,4	1,60E-05	0,00035
WNT5B	-3,50E-05	-3	0,003	0,02
XCR1	-9,00E-05	-3,8	0,00015	0,0021
XIRP1	-8,70E-05	-3,6	0,00043	0,0046
ZBTB10	-5,30E-05	-5,1	8,20E-07	3,10E-05
ZBTB16	-0,00012	-4,6	8,00E-06	2,00E-04
ZBTB20	-3,30E-05	-3,8	0,00016	0,0022
ZC4H2	-4,80E-05	-4,8	3,20E-06	9,40E-05
ZDHHC15	-0,00013	-6,6	2,80E-10	4,00E-08
ZEB1	-6,90E-05	-8,8	1,50E-16	1,50E-13
ZEB2	-6,80E-05	-8,4	3,80E-15	2,50E-12
ZFP82	-4,50E-05	-4,2	3,20E-05	6,00E-04
ZIK1	-3,20E-05	-3,7	0,00025	0,003
ZNF154	-5,00E-05	-5,7	3,00E-08	2,00E-06
ZNF208	-0,00013	-6,6	3,10E-10	4,30E-08

Gen	beta	est. t	valor de p	FDR
ZNF215	-7,00E-05	-4,5	8,50E-06	0,00021
ZNF280B	-7,30E-05	-3,9	0,00012	0,0017
ZNF287	-2,80E-05	-3	0,003	0,021
ZNF347	-4,10E-05	-3,4	0,00066	0,0065
ZNF366	-5,90E-05	-4,4	1,30E-05	3,00E-04
ZNF429	-3,70E-05	-2,9	0,0038	0,025
ZNF442	-2,60E-05	-3	0,0026	0,018
ZNF618	-3,30E-05	-3,9	0,00012	0,0017
ZNF701	-3,60E-05	-4	7,60E-05	0,0012
ZNF781	-5,80E-05	-3,1	0,0024	0,017
ZNF788	-3,60E-05	-3	0,0026	0,018
ZNF793	-4,90E-05	-2,7	0,0068	0,038
ZNF843	-2,40E-05	-3,3	0,0013	0,011
ZNF844	-5,60E-05	-4,1	5,30E-05	0,00089
ZSCAN1	-8,90E-05	-3,1	0,002	0,015

Tabla 14. ARNm expresados inversamente y que contienen sitios de unión previstos o validados a miR-375 (MIMAT0000728)

Gen	est. t	valor de p	ajuste de p
ACVR1C	-4,70738	3,79E-06	8,36E-05
ADAMDEC1	-2,85571	0,004584	0,028127
ADAMTS2	-8,00448	2,43E-14	5,11E-12
ADAMTS4	-5,61352	4,40E-08	1,79E-06
ADAMTS5	-4,36029	1,77E-05	0,000308
AFAP1L1	-5,85642	1,21E-08	5,81E-07
AFAP1L2	-3,94692	9,80E-05	0,001288
AK5	-3,22616	0,001389	0,011065
APBA2	-5,98525	5,96E-09	3,14E-07
ATP1B4	-2,80475	0,005354	0,0317
BAG2	-6,31936	9,12E-10	6,02E-08
BCAT1	-4,44925	1,20E-05	0,000223
BVES	-2,70341	0,007242	0,039902
C10orf55	-7,35354	1,73E-12	2,33E-10
C15orf54	-3,29027	0,001116	0,009302
C1orf180	-2,80204	0,005398	0,0319
C1S	-6,47289	3,76E-10	2,76E-08
C2orf48	-3,79852	0,000175	0,002078
C6orf141	-3,84998	0,000143	0,001764
C9orf84	-4,58988	6,45E-06	0,000131
CALB1	-3,21159	0,001459	0,011504
CCDC102B	-5,32761	1,92E-07	6,44E-06
CD84	-2,61675	0,009312	0,048237
CDH6	-3,95802	9,38E-05	0,001241
CDK14	-4,82222	2,23E-06	5,31E-05
CDK5R1	-2,75412	0,006233	0,035597
CDK6	-3,82156	0,00016	0,001932
CDYL2	-4,19285	3,60E-05	0,000559
CENPA	-7,27305	2,89E-12	3,68E-10
CENPF	-5,77959	1,82E-08	8,34E-07
CFHR3	-2,90338	0,003957	0,025106
CHST11	-7,11164	7,96E-12	9,07E-10
CLEC2B	-4,19326	3,59E-05	0,000559
CLEC5A	-2,80953	0,005277	0,031352
CNGB1	-5,47185	9,20E-08	3,40E-06
COL16A1	-6,91676	2,65E-11	2,64E-09
COL27A1	-7,59153	3,74E-13	5,94E-11
COL5A1	-10,2428	2,13E-21	1,85E-18
COL5A2	-10,2511	2,00E-21	1,75E-18
COL5A3	-7,81021	8,90E-14	1,64E-11
CRISPLD2	-4,86085	1,86E-06	4,55E-05
CSAG1	-4,01632	7,42E-05	0,001022
CYSLTR2	-2,62634	0,00906	0,047249

ES 2 986 046 T3

Gen	est. t	valor de p	ajuste de p
DAB2	-3,593	0,00038	0,003911
DCLK3	-4,99615	9,79E-07	2,62E-05
DDX60L	-4,29871	2,30E-05	0,000385
DFNA5	-6,82695	4,58E-11	4,29E-09
DGKI	-3,21627	0,001436	0,01136
DKK3	-3,72321	0,000234	0,002631
DMBX1	-3,69276	0,000262	0,00289
DRP2	-3,04627	0,002516	0,017666
DUSP6	-3,0615	0,002395	0,016999
E2F7	-6,80262	5,30E-11	4,88E-09
ECM2	-3,70034	0,000255	0,002824
EIF5A2	-7,56276	4,51E-13	7,02E-11
EME1	-7,30865	2,31E-12	3,01E-10
ENPEP	-7,33148	1,99E-12	2,64E-10
ERCC6L	-5,24049	2,97E-07	9,39E-06
EXO1	-6,73046	8,19E-11	7,18E-09
FAM111B	-3,21279	0,001453	0,011467
FAM198B	-4,22428	3,16E-05	0,000501
FBLN7	-5,13553	4,98E-07	1,47E-05
FBN2	-5,49402	8,20E-08	3,08E-06
FCGR2A	-5,69769	2,82E-08	1,22E-06
FCGR3A	-5,97743	6,23E-09	3,26E-07
FERMT2	-2,76737	0,005991	0,034542
FJX1	-5,16984	4,21E-07	1,27E-05
FLRT2	-5,50011	7,95E-08	3,00E-06
FN1	-9,32549	2,16E-18	1,08E-15
FOXD1	-6,88267	3,26E-11	3,18E-09
FOXR2	-2,61614	0,009328	0,0483
FPR2	-3,97456	8,78E-05	0,001175
FSTL1	-4,56735	7,14E-06	0,000143
GAD1	-2,75515	0,006213	0,035514
GATA6	-2,95962	0,003318	0,021907
GDF6	-3,57806	0,000402	0,004089
GINS4	-4,29356	2,35E-05	0,000392
GLIPR1	-5,15516	4,52E-07	1,35E-05
GLIS3	-2,88323	0,004211	0,026349
GNGT2	-2,98368	0,003074	0,02065
GOLGA8F	-2,73345	0,006628	0,037306
GOLGA8G	-3,33689	0,00095	0,008182
GPR116	-3,23522	0,001347	0,010799
GPR137C	-3,77558	0,000191	0,002234
GPR153	-2,70662	0,007174	0,039617
GPR39	-3,10237	0,002096	0,015314
GRM5	-2,83551	0,004876	0,029502
GRM8	-3,15477	0,001764	0,013367
GUCY1A2	-6,22001	1,61E-09	9,91E-08
GXYLT2	-4,60002	6,16E-06	0,000126
HAPLN1	-5,46562	9,50E-08	3,50E-06
HAS2	-4,90104	1,54E-06	3,87E-05
HELLS	-3,47233	0,000589	0,005576
HHIPL1	-5,11384	5,54E-07	1,61E-05
HIST1H2AG	-5,61991	4,26E-08	1,74E-06
HIST1H2BD	-3,40446	0,00075	0,00677
HIST1H2BO	-5,44492	1,06E-07	3,84E-06
HIST1H3B	-2,8217	0,005085	0,030472
HIST1H4E	-3,13256	0,001898	0,014162
HMX1	-3,92309	0,000108	0,001392
HOXA10	-6,33104	8,53E-10	5,68E-08
HOXB9	-4,93878	1,29E-06	3,32E-05
HOXC10	-6,03467	4,54E-09	2,47E-07
HOXC11	-7,25611	3,22E-12	4,05E-10
HOXC4	-6,45736	4,11E-10	2,98E-08

ES 2 986 046 T3

Gen	est. t	valor de p	ajuste de p
HOXD1	-4,49567	9,81E-06	0,000187
HOXD11	-7,56657	4,40E-13	6,87E-11
HOXD12	-3,76912	0,000196	0,002281
HSPA12A	-3,75646	0,000206	0,002373
HSPA2	-2,90069	0,00399	0,02527
IFI44L	-3,82079	0,000161	0,001936
IFIT2	-5,41764	1,21E-07	4,33E-06
IFNK	-2,63939	0,008725	0,04593
IGF2BP2	-4,72804	3,45E-06	7,71E-05
IGSF6	-3,83708	0,000151	0,001838
INHBA	-8,99561	2,40E-17	9,68E-15
ISL2	-2,64672	0,008543	0,045202
ITGA1	-7,22186	3,99E-12	4,90E-10
ITGA3	-4,64266	5,09E-06	0,000107
ITGB6	-3,35809	0,000883	0,007714
KANK4	-3,77904	0,000189	0,00221
KCNJ6	-3,19048	0,001566	0,012169
KCNMB3	-2,69746	0,007369	0,040435
KIAA1644	-4,81971	2,26E-06	5,37E-05
KIF4A	-7,37437	1,52E-12	2,07E-10
KIF4B	-6,56762	2,16E-10	1,69E-08
KLF7	-5,6146	4,38E-08	1,79E-06
KLHL6	-3,22736	0,001383	0,011029
KRT82	-3,0844	0,002223	0,016034
LAMP3	-3,2309	0,001367	0,010926
LHX9	-3,03305	0,002626	0,01826
LILRB4	-4,07083	5,95E-05	0,000851
LOX	-6,21364	1,67E-09	1,02E-07
LPAR4	-2,83169	0,004933	0,029767
LPPR5	-4,05481	6,35E-05	0,000898
LRP8	-2,72484	0,006799	0,038033
LTBP2	-5,09681	6,02E-07	1,73E-05
MAF	-3,81931	0,000162	0,001946
MATN3	-7,12045	7,54E-12	8,64E-10
MCTP1	-3,91447	0,000111	0,001432
MELK	-7,44867	9,43E-13	1,36E-10
MEST	-3,1584	0,001743	0,01324
MFRP	-5,76589	1,96E-08	8,89E-07
MKI67	-5,92945	8,10E-09	4,10E-07
MS4A14	-4,53705	8,17E-06	0,00016
MS4A7	-3,29782	0,001088	0,009112
MYL9	-3,42878	0,000688	0,006319
NAV3	-2,68239	0,007702	0,041798
NCAM1	-2,70794	0,007146	0,0395
NETO1	-3,66353	0,000292	0,003161
NEXN	-3,58178	0,000396	0,004044
NFE2L3	-3,94766	9,77E-05	0,001284
NLRP10	-2,86328	0,004479	0,027629
NOX5	-2,86268	0,004487	0,027669
NT5E	-4,87679	1,73E-06	4,27E-05
NTM	-5,75521	2,08E-08	9,34E-07
NTNG2	-3,39489	0,000776	0,006955
NXPH4	-3,73884	0,00022	0,002507
OLFML2A	-4,36198	1,76E-05	0,000306
OLR1	-4,27104	2,59E-05	0,000425
OPN1SW	-3,45766	0,000621	0,005817
PAG1	-3,60653	0,000362	0,003756
PALM2	-2,6554	0,008331	0,044352
PAPLN	-4,68802	4,14E-06	9,01E-05
PAPSS2	-3,26239	0,001228	0,010035
PCDH7	-3,59138	0,000382	0,00393
PDE3A	-2,95598	0,003356	0,022103

ES 2 986 046 T3

Gen	est. t	valor de p	ajuste de p
PDGFC	-2,97263	0,003184	0,021221
PDPN	-7,85634	6,55E-14	1,24E-11
PGM2L1	-2,79247	0,005556	0,032613
PIF1	-6,4856	3,49E-10	2,58E-08
PIPOX	-2,66955	0,007996	0,042999
PLEKHG4B	-2,97115	0,003199	0,021299
PPEF1	-9,09764	1,15E-17	4,96E-15
PRKG1	-2,84047	0,004803	0,029159
PRNT	-3,87715	0,000129	0,001617
PSMB9	-4,71989	3,58E-06	7,96E-05
PSTPIP1	-3,69793	0,000257	0,002845
RASSF4	-3,99371	8,13E-05	0,001103
RASSF8	-3,45857	0,000619	0,005802
RGS4	-6,88112	3,29E-11	3,20E-09
RRM2	-6,24961	1,36E-09	8,55E-08
RSAD2	-5,2935	2,28E-07	7,47E-06
S1PR5	-5,42557	1,17E-07	4,18E-06
SCARB1	-2,753	0,006253	0,035687
SCUBE3	-2,78515	0,00568	0,033164
SDK2	-3,22341	0,001402	0,011147
SEC16B	-3,16386	0,001711	0,013052
SEMA5B	-4,28609	2,43E-05	0,000403
SFRP4	-3,75325	0,000208	0,002397
SGCD	-2,89289	0,004087	0,025746
SGIP1	-6,2358	1,47E-09	9,16E-08
SH2D7	-3,07003	0,00233	0,016635
SHOX2	-8,26163	4,23E-15	1,06E-12
SIGLEC15	-5,56541	5,66E-08	2,23E-06
SKA3	-5,776	1,86E-08	8,48E-07
SLA	-2,83748	0,004847	0,029366
SLC16A1	-6,34778	7,75E-10	5,21E-08
SLC5A12	-2,75131	0,006285	0,035824
SLC8A1	-3,23799	0,001334	0,010719
SLFN11	-3,45125	0,000635	0,005925
SP110	-3,72725	0,00023	0,002598
SPOCK1	-3,93298	0,000104	0,001348
ST3GAL5	-4,39456	1,53E-05	0,000272
ST8SIA2	-5,50708	7,67E-08	2,91E-06
STAMBPL1	-2,89838	0,004018	0,025409
STARD13	-4,93888	1,29E-06	3,32E-05
STON1	-4,12629	4,74E-05	0,000704
STON2	-5,23961	2,98E-07	9,43E-06
SUCNR1	-3,03569	0,002603	0,01814
SULF1	-6,35395	7,48E-10	5,05E-08
SULF2	-6,02724	4,73E-09	2,56E-07
TBX18	-2,61611	0,009329	0,048302
TFRC	-2,73493	0,006598	0,037182
THBS2	-5,721	2,50E-08	1,10E-06
TLL1	-3,01924	0,002745	0,018902
TMED7-TICAM2	-4,38401	1,60E-05	0,000283
TMEM229B	-3,04848	0,002498	0,017568
TMEM26	-7,48025	7,70E-13	1,13E-10
TNC	-4,77772	2,74E-06	6,34E-05
TNFRSF9	-5,19521	3,71E-07	1,14E-05
TNS3	-4,86153	1,85E-06	4,54E-05
TOX2	-6,5378	2,57E-10	1,97E-08
TPM1	-4,57777	6,81E-06	0,000138
TRPC4	-5,32987	1,90E-07	6,38E-06
TSHZ3	-5,25058	2,82E-07	8,99E-06
TTC7B	-4,11374	4,99E-05	0,000735
TYMS	-5,38473	1,44E-07	5,01E-06
XAF1	-5,34345	1,77E-07	6,01E-06

Gen	est. t	valor de p	ajuste de p
XRCC2	-5,27422	2,51E-07	8,12E-06
ZIC1	-2,82865	0,004979	0,029979
ZIC5	-6,58899	1,90E-10	1, 51E-08
ZPLD1	-5,35131	1,70E-07	5,80E-06

- El análisis de vías funcionales de los genes diana expresados inversamente por IPA identificó dos de las principales funciones de la enfermedad del cáncer, incluyendo la proliferación celular (21 ARNm, $p = 8,95 \times 10^{-10}$) y la metástasis (23 ARNm, $p = 9,54 \times 10^{-12}$) (tabla 15). Estas redes albergan un repertorio diverso de moléculas implicadas crucialmente en el crecimiento del cáncer (EGFR, MET, IGF1R, PDGFRB, IRS1, SOCS1, CCNA1), la adhesión, la migración y la invasión (MET, ITGA6, NT5E, SERPINE1) y la diferenciación (WNT7B/5A, FZD2, CELSR3, CTHRC1). La mayoría de los genes son dianas novedosas de miR-30 y no se han validado previamente mediante caracterización funcional.

- 10 Tabla 15. ARNm con relación inversa a la expresión de miR-30a-5p identificados en la proliferación y metástasis del cáncer

ID	Genes en el conjunto de datos	Predicción (en función de la dirección de la expresión)	Pendiente	Hallazgos
Proliferación				
IRS1	IRS1	Afectado	-2,612	Afecta (1)
NT5E	NT5E	Disminuido	-2,675	Aumenta (3)
EGFR	EGFR	Disminuido	-2,693	Aumenta (33)
GLDC	GLDC	Disminuido	-2,718	Aumenta (2)
SOCS1	SOCS1	Aumentado	-2,843	Disminuye (3)
STAT1	STAT1	Aumentado	-2,941	Disminuye (5)
LOX	LOX	Disminuido	-3,093	Aumenta (3)
PDGFRB	PDGFRB	Disminuido	-3,155	Aumenta (2)
WNT5A	WNT5A	Disminuido	-3,212	Aumenta (7)
CD80	CD80	Aumentado	-3,234	Disminuye (1)
CCNA1	CCNA1	Disminuido	-3,392	Aumenta (5)
THBS2	THBS2	Aumentado	-3,489	Disminuye (2)
IGF1R	IGF1R	Disminuido	-3,529	Aumenta (6)
AFAP1L2	AFAP1L2	Afectado	-3,575	Afecta (1)
CTHRC1	CTHRC1	Disminuido	-3,813	Aumenta (1)
MET	MET	Disminuido	-4,497	Aumenta (17)
FAP	FAP	Disminuido	-4,575	Aumenta (1)
SERPINE1	SERPINE1	Afectado	-6,147	Afecta (5)
IL1A	IL1A	Aumentado	-6,209	Disminuye (10)
GJA1	GJA1	Aumentado	-6,454	Disminuye (2)
MYBL2	MYBL2	Disminuido	-7,837	Aumenta (1)
Metástasis				
IRS1	IRS1	Afectado	-2,612	Afecta (1)
TRIM9	TRIM9	Afectado	-2,634	Afecta (1)
NT5E	NT5E	Disminuido	-2,675	Aumenta (7)
EGFR	EGFR	Disminuido	-2,693	Aumenta (92)
SOCS1	SOCS1	Aumentado	-2,843	Disminuye (1)
STAT1	STAT1	Afectado	-2,941	Afecta (1)
LOX	LOX	Disminuido	-3,093	Aumenta (1)
EPB41L4B	EPB41L4B	Afectado	-3,152	Afecta (2)
PDGFRB	PDGFRB	Afectado	-3,155	Afecta (37)
WNT5A	WNT5A	Aumentado	-3,212	Disminuye (7)
CD80	CD80	Aumentado	-3,234	Disminuye (1)
CCNA1	CCNA1	Disminuido	-3,392	Aumenta (5)
IGF1R	IGF1R	Disminuido	-3,529	Aumenta (1)
CTHRC1	CTHRC1	Disminuido	-3,813	Aumenta (1)
GNRHR	GNRHR	Afectado	-4,119	Afecta (15)
MET	MET	Disminuido	-4,497	Aumenta (22)
ITGA5	ITGA5	Afectado	-5,944	Afecta (8)
SERPINE1	SERPINE1	Aumentado	-6,147	Disminuye (7)
IL1A	IL1A	Disminuido	-6,209	Aumenta (1)
GJA1	GJA1	Aumentado	-6,454	Disminuye (1)
ITGA6	ITGA6	Afectado	-6,763	Afecta (2)
SLC7A11	SLC7A11	Afectado	-7,343	Afecta (1)

MYBL2	MYBL2	Afectado	-7,837	Afecta (1)
-------	-------	----------	--------	------------

Para validar la regulación de los ARNm expresados de forma inversa, se examinaron los efectos de la expresión ectópica de miR-30a-5p (que se expresa más altamente en UM-SCC-46 que miR-30e-5p, figura 7C) o anti-miR30a sobre los ARNm potencialmente abordados en la línea de HNSCC UM-SCC-46, que expresa miR-30a-5p relativamente reducido. Después de la expresión de miR-30a-5p, se observó una reducción en la expresión de ARNm para 11 ARNm seleccionados mediante qRT-PCR, mientras que la expresión de anti-miR30a no suprimió ni aumentó la expresión de estos genes diana (figura 5). Tanto los análisis bioinformáticos como los datos experimentales respaldan la hipótesis de la función supresora de miR30a sobre varios genes diana implicados en la patogenia de HNSCC.

Ejemplo 5

Validación funcional de la regulación directa por miR-30a-5p de la expresión de genes diana

Para validar más la regulación directa de genes diana seleccionados por miembros de la familia de miR-30-5p, se utilizaron construcciones de luciferasa que contenían la UTR 3' de EGFR, MET, IGF1R e IRS-1, que contiene esos sitios de unión a la diana para miR-30a-5p (figura 6A). También se construyeron vectores con una eliminación en el sitio de unión complementario a la secuencia original de miR-30a-5p (figura 6A). El miR-30a-5p, pero no anti-miR30a, suprimió la actividad indicador, y esto se anuló por la eliminación del sitio Δ miR-30 (figura 6B). El efecto sobre la expresión de varias moléculas implicadas en la señalización del crecimiento (EGFR, MET, IGF1R, IRS1), la adhesión (ITGA6) y la diferenciación (FZD2) también se confirmó mediante inmunoelectrotransferencia (figura 6C y 6E). Como estos receptores de factores de crecimiento estimulan varias vías de señalización oncogénas, el efecto funcional de miR30a-5p sobre la fosforilación de la señal sobre PI3K/mTOR-AKT (Freudlsperger *et al.*, Expert Opin. Ther. Targets 15:63-74, 2011), SRC (Egloff *et al.*, Semin. Oncol. 35:286-297, 2008) y la señalización de STAT3 (Mali, Oral Oncol. 51:565-569, 2015) se examinaron. El miR-30a-5p disminuyó la fosforilación posterior de estas moléculas de señalización (figura 6D). Estos datos muestran los efectos reguladores directos de miR-30a-5p sobre las dianas biológicas sobreexpresadas e implicadas en el fenotipo maligno del HNSCC.

Ejemplo 6

El miR-30a inhibe la proliferación celular, la motilidad y la invasión de células HNSCC

Como múltiples dianas de miR-30a pueden modular el crecimiento celular, se confirmaron los efectos antiproliferativos de hsa-miR-30a-Sp en un panel de 11 líneas celulares de HNSCC. Cuatro líneas celulares (UM-SCC-11A, 11B, 46, 47) presentaron densidad celular significativamente disminuida de <50 % en comparación con los controles (figura 7A), que correspondía con una expresión más baja de miR-30a-5p en estas líneas celulares (figura 7B), sin embargo, no se observó inhibición del crecimiento en células HOK. El nivel basal de expresión de miR-30a-5p y miR-30e-5p en células UM-SCC-1 y UM-SCC-46 se midió mediante qRT-PCR (figura 7C). También se midió la proliferación en células UM-SCC-1 o UM-SCC-46 mediante un ensayo XTT. Se observó inhibición similar de la proliferación entre miembros de la familia (figura 7D).

El miR-30a-5p también suprimió la formación de colonias en >50 % en células UM-SCC-46 (figura 7E y 7H). Como la señalización del crecimiento puede mediar la resistencia terapéutica, se examinó si el miR-30a-5p puede aumentar los efectos del cisplatino, el fármaco de quimioterapia más común usado para tratar HNSCC. La sensibilidad al cisplatino se potenció mediante la expresión ectópica de miR-30a-5p (figura 7F y figura 7I). Para someter a prueba la importancia de EGFR en el efecto antiproliferativo de miR-30a, se creó una línea celular estable de UM-SCC-46 que sobreexpresaba la secuencia codificante de EGFR sin su UTR 3' reguladora en UM-SCC-46. Esta línea celular mostró una reducción significativa en el efecto de miR-30a-5p sobre la proliferación (figura 7G).

Varias de las dianas de la familia de miR-30-5p en HNSCC también están implicadas en la motilidad y capacidad de invasión celular, incluyendo EGFR (Freudlsperger *et al.*, Expert Opin. Ther. Targets 15:63-74, 2011), MET (Dong *et al.*, Cancer Res. 61:5911-5918, 2001), ITGA6 (Carey *et al.*, J. Cell Biochem. Supl. 17F:223-232, 1993), y Serpine1 (Karbiener *et al.*, RNA Biol. 8:850-860, 2011). La expresión ectópica de hsa-miR-30a-5p ralentizó significativamente la motilidad celular en ensayos de migración en dos líneas celulares de HNSCC (figuras 8A y 8B) y redujo significativamente la capacidad de invasión estimulada por EGF en ensayos de migración Transwell recubiertos con MATRIGEL (figuras 8C y 8D). En resumen, la expresión aumentada de miR-30a-5p inhibió significativamente la proliferación celular, la formación de colonias, la migración y la invasión, así como potenció la quimiosensibilidad en HNSCC.

Ejemplo 7

El imitador de miR-30a suprime el crecimiento tumoral de xenoinjertos de HNSCC humanos

Se formuló un imitador de miR-30a-5p en un sistema de nanoadministración liposómica catiónica (scL) que porta un fragmento de anticuerpo monocatenario (TfRscFv), que se dirige al receptor de transferrina sobreexpresado en células tumorales para su administración (Pirolo *et al.*, Cancer Res 68:1247-1250, 2008; Pirolo *et al.*, Hum Gene Ther. 17:117-124, 2006). Los transportadores scL que contienen oligonucleótido de control conjugado con FITC experimentan absorción preferente en xenoinjertos de HNSCC, en comparación con el pulmón o el hígado, o se excretan a través del riñón (figura 9A). Se sometieron a prueba partículas nanoliposómicas en complejo con un imitador de miR-30a-5p modificado (miR-30a-scL) o un miR de control (60 µg o ~3 mg/kg) administrado en 9 dosis por vía intravenosa (IV) los lunes, miércoles y viernes (MWF) durante 3 semanas en ratones portadores de tumores de xenoinjerto UM-SCC-46. Se observó un retardo significativo en el crecimiento del tumor y una prolongación de la supervivencia con el tratamiento con miR-30a-scL (figuras 9B-D). El tratamiento con miR-30a-scL no provocó una reducción significativa del peso, lo que sugiere que el tratamiento se toleraba bien (figura 9C). Se observó un efecto inhibitor similar sobre el crecimiento del tumor *in vivo* en un segundo modelo de xenoinjerto de HNSCC, UM-SCC47, que es positivo para VPH (figura 9E).

Se realizó RT-PCR cuantitativa de seis genes diana de miR-30a-5p y se observó una expresión génica sustancialmente disminuida después del tratamiento con cuatro dosis de nanopartículas de miR-30a-scL (figura 10A y 10F). También se observó una expresión disminuida de EGFR y MET mediante tinción inmunofluorescente en secciones congeladas extraídas de tumores de xenoinjerto después del tratamiento *in vivo* (figuras 10B y 10C). Con la confirmación tanto *in vitro* como *in vivo* de varios genes diana de miR-30a-5p, se construyó un diagrama de vías que conecta las interacciones presentadas y la función en relación con la proliferación y la migración según lo previsto por el Ingenuity Pathway Analysis (figura 10D). Al confirmar el efecto antiproliferativo de la familia de miR-30a-5p, también se observó una disminución en la tinción con ki-67 (figura 10E).

Ejemplo 8

Alteraciones genéticas de miembros de la familia de miR-30 asociadas con rasgos característicos clínicos de HNSCC

Si la pérdida de expresión de los miembros de la familia de miR-30 es importante en la patogénia de HNSCC, puede haber presión selectiva para la eliminación o el silenciamiento epigenético a nivel genómico. Para abordar esta cuestión, se analizó la variación del número de copias de los miembros de la familia de miR-30 de los conjuntos de datos TCGA de HNSCC (figuras 11A y 11B). Los genes MIR30A y MIR30C2 están agrupados conjuntamente en el cromosoma 6, y los genes MIR30E y MIR30C1 están agrupados conjuntamente en el cromosoma 1, donde un 19,7 % y un 14,7 % presentan al menos pérdida heterocigótica en estos locus genéticos, respectivamente. El análisis integrador apoyó una tendencia o correlación significativa de la pérdida heterocigótica del número de copias con expresión disminuida para miR-30a ($p = 0,15$, figura 11A y 11C) y miR-30e ($p = 0,0006$, figuras 11B y 11D). Analizamos además si la expresión disminuida más amplia de miR-30a/e observada estaba asociada con la metilación de supuestos promotores, y comparamos la metilación promedio del ADN a lo largo del promotor y la región codificante de MIR30A/C2 (tabla 16). Se observó una correlación entre la metilación creciente del ADN del promotor de MIR30A y la expresión más baja en un subconjunto de muestras de tumor ($p = 0,00057$, figuras 11C y 11F).

Un alto porcentaje de tumores de la cavidad bucal ($n = 87$) mostraron expresión reducida de miR-30a-5p y se correlacionaron significativamente mediante la prueba de correlación de Spearman con la hipermetilación de MIR30A de los sitios CPZG en el promotor de MIR30A (valor de $p = 6,15E-07$, figuras 11C y 11F; tabla 17). La expresión reducida de miR-30e-5p se correlacionó con el estado negativo de VPH. Además, los tumores que se produjeron en el sitio laríngeo se correlacionaron significativamente con una expresión reducida de miR-30e-5p y una eliminación del número de copias de MIR30E (figura 11E y tabla 17).

Tabla 16. Correlación de la expresión y la metilación de la familia de mir-30

sonda	gen	expr. media en gru- po no met.	expr. media en gru- po met.	est. t	val. p	val. p. ad.	met. media en gru- po no met.	met. media en gru- po met.	Corr. Spear-man
cg20815778	hsa-mir-30a MIMAT0000087	4,634	5,119	-0,227	8,34E-01	8,52E-01	0,086	0,441	-0,064
cg10039188	hsa-mir-30a	6,584	3,957	3,84	1,61E-04	1,23E-03	0,031	0,459	-0,225
cg25210451	hsa-mir-30a	6,567	3,892	3,938	1,11E-04	1,09E-03	0,04	0,499	-0,184
cg15045441	hsa-mir-30a	6,814	4,003	3,79	2,01E-04	1,23E-03	0,052	0,435	-0,225
cg26162616	hsa-mir-30a	6,931	3,977	3,824	1,79E-04	1,23E-03	0,04	0,421	-0,23
cg23281154	hsa-mir-30a	6,685	4,174	3,361	1,02E-03	1,85E-03	0,033	0,382	-0,24
cg22300282	hsa-mir-30a	8,386	3,984	2,256	2,87E-02	5,86E-02	0,077	0,518	-0,199
cg11574469	hsa-mir-30a	8,278	4,066	2,359	2,20E-02	5,10E-02	0,078	0,428	-0,244
cg25141674	hsa-mir-30a	7,363	4,151	2,842	5,35E-03	1,62E-02	0,063	0,495	-0,23
cg24772267	hsa-mir-30a	6,694	4,29	2,359	1,98E-02	4,84E-02	0,077	0,472	-0,122
cg00920327	hsa-mir-30a	7,006	4,052	3,642	3,52E-04	1,92E-03	0,058	0,465	-0,247
cg03318695	hsa-mir-30a	7,396	4,395	1,562	1,25E-01	1,92E-01	0,075	0,487	-0,221
cg20815778	hsa-mir-30a MIMAT0000088	1,936	1,845	0,081	9,40E-01	9,40E-01	0,086	0,441	-0,073
cg10039188	hsa-mir-30a	2,331	1,351	4,494	1,19E-05	1,46E-04	0,031	0,459	-0,196
cg25210451	hsa-mir-30a	2,303	1,3	4,876	2,52E-06	8,69E-05	0,04	0,499	-0,181
cg15045441	hsa-mir-30a	2,44	1,361	4,62	7,85E-06	1,28E-04	0,052	0,435	-0,216
cg26162616	hsa-mir-30a	2,451	1,336	4,778	3,55E-06	8,69E-05	0,04	0,421	-0,232
cg23281154	hsa-mir-30a	2,386	1,481	3,61	5,22E-04	2,32E-03	0,033	0,382	-0,243
cg22300282	hsa-mir-30a	2,752	1,385	3,396	1,24E-03	4,35E-03	0,077	0,518	-0,222
cg11574469	hsa-mir-30a	2,69	1,43	3,335	1,38E-03	4,30E-03	0,078	0,428	-0,218
cg25141674	hsa-mir-30a	2,602	1,479	3,423	8,09E-04	3,30E-03	0,063	0,495	-0,243
cg24772267	hsa-mir-30a	2,37	1,637	2,132	3,70E-02	7,26E-02	0,077	0,472	-0,138
cg00920327	hsa-mir-30a	2,445	1,454	3,589	4,74E-04	2,32E-03	0,058	0,465	-0,219
cg03318695	hsa-mir-30a	2,521	1,585	2,307	2,41E-02	5,14E-02	0,075	0,487	-0,222
cg22904815	hsa-mir-30b MIMAT0000420	0,266	0,174	2,449	2,29E-02	5,10E-02	0,078	0,326	-0,151
cg10039188	hsa-mir-30c-2	0,316	0,26	1,875	6,36E-02	1,20E-01	0,031	0,459	-0,132
cg25210451	hsa-mir-30c-2	0,316	0,26	1,814	7,29E-02	1,31E-01	0,04	0,499	-0,034
cg15045441	hsa-mir-30c-2	0,321	0,271	1,451	1,51E-01	2,18E-01	0,052	0,435	-0,095
cg26162616	hsa-mir-30c-2	0,323	0,27	1,69	9,38E-02	1,48E-01	0,04	0,421	-0,072
cg23281154	hsa-mir-30c-2	0,316	0,259	1,438	1,58E-01	2,21E-01	0,033	0,382	-0,109
cg22300282	hsa-mir-30c-2	0,272	0,256	0,438	6,62E-01	7,05E-01	0,077	0,518	-0,025
cg11574469	hsa-mir-30c-2	0,325	0,257	1,726	8,78E-02	1,43E-01	0,078	0,428	-0,099
cg25141674	hsa-mir-30c-2	0,306	0,262	1,368	1,74E-01	2,36E-01	0,063	0,495	-0,084
cg24772267	hsa-mir-30c-2	0,286	0,255	0,801	4,27E-01	4,98E-01	0,077	0,472	-0,016
cg00920327	hsa-mir-30c-2	0,327	0,246	2,55	1,23E-02	3,36E-02	0,058	0,465	-0,101
cg03318695	hsa-mir-30c-2	0,317	0,279	0,871	3,87E-01	4,74E-01	0,075	0,487	-0,077
cg22904815	hsa-mir-30d MIMAT0000245	5,321	4,432	1,504	1,48E-01	2,18E-01	0,078	0,326	-0,137
cg16167741	hsa-mir-30e MIMAT0000692	4,234	4,02	0,571	5,69E-01	6,19E-01	0,07	0,549	0,03

sonda	gen	expr. media en gru- po no met.	expr. media en gru- po met.	est. t	val. p	val. p ad.	met. media en gru- po no met.	met. media en gru- po met.	Corr. Spear-man
cg26783428	hsa-mir-30e	5,041	4,302	0,634	5,68E-01	6,19E-01	0,089	0,519	0,016
cg27386837	hsa-mir-30e	4,655	3,407	2,447	1,69E-02	4,36E-02	0,086	0,46	-0,151
cg13735974	hsa-mir-30e	4,383	3,508	1,82	7,74E-02	1,31E-01	0,085	0,502	-0,149
cg10336144	hsa-mir-30e	4,597	3,372	2,827	5,61E-03	1,62E-02	0,082	0,489	-0,117
cg14796708	hsa-mir-30e	3,92	3,828	0,213	8,32E-01	8,52E-01	0,082	0,429	0,018
cg16167741	hsa-mir-30e	5,153	4,779	0,987	3,25E-01	4,09E-01	0,07	0,549	-0,072
cg26783428	MIMAT0000693	6,638	5,117	0,957	4,07E-01	4,86E-01	0,089	0,519	-0,034
cg27386837	hsa-mir-30e	5,98	4,76	1,794	7,75E-02	1,31E-01	0,086	0,46	-0,184
cg13735974	hsa-mir-30e	5,932	4,931	1,244	2,22E-01	2,94E-01	0,085	0,502	-0,157
cg10336144	hsa-mir-30e	5,534	4,884	1,131	2,63E-01	3,40E-01	0,082	0,489	-0,189
cg14796708	hsa-mir-30e	4,657	5,054	-0,77	4,43E-01	5,05E-01	0,082	0,429	0,027

Tabla 17. Asociación de variación del número de copias, la metilación y la expresión de miR30A/E con características clínicas en HNSCC del conjunto de datos TCGA

Características clínicas en HNSCC del conjunto de datos TCGA			
Rasgos característicos clínicos	Alteraciones de miR30		Valor de p
	Metilación de miR30A		
Sitio del tumor	Hiper	Hipo	
Bucal	58	115	6,15E-07*
No bucal	9	97	
Estado de VPH			
VPH(+)	3	26	0,0686
VPH(-)	52	163	
	Expresión de miR30A		
Sitio del tumor	Baja	Alta	
Bucal	87	68	0,00822*
No bucal	35	54	
Estado de VPH			
VPH(+)	11	18	0,117
VPH(-)	111	104	
	Variación del número de copias de miR30E		
Sitio del tumor	Eliminación	Sin eliminación	
Laringe	18	46	0,00184*
No en la laringe	20	160	
Estado de VPH			
VPH(+)	0	29	0,00527*
VPH(-)	38	177	
	Expresión de miR30E		
Sitio del tumor	Baja	Alta	
Laringe	28	36	0,154
No en la laringe	94	86	
Estado de VPH			
Rasgos característicos clínicos	Alteraciones de miR30		Valor de p
VPH(+)	5	24	0,000121*
VPH(-)	117	98	

locus MIR30E, lo que respalda la contribución de la alteración de la copia genómica a la expresión disminuida de miR30e en un subconjunto de tumores (figura 12A, panel central). Sorprendentemente, el análisis de la supervivencia para los subsitios tumorales reveló que la baja expresión de miR-30e-5p está asociada con el peor pronóstico en carcinomas orofaríngeos (figura 12A, panel derecho), que son predominantemente VPH+ y para los que las alteraciones genómicas están asociadas con un peor pronóstico y las dianas terapéuticas no están bien definidas. Este conjunto de datos presentó una fuerte correlación entre una baja expresión de miR-30a-5p con una peor supervivencia específica de enfermedad (valor de p 0,024, figura 11G) y una tendencia similar para miR-30e-5p (valor de p 0,113, figura 11H). Estos datos sugieren que la expresión reducida de miR-30a/e está asociada con alteraciones genéticas o epigenéticas, subsitios tumorales de HNSCC, el estado de VPH y el pronóstico de relevancia clínica en HNSCC. Además, una expresión más baja de miR-26a-5p y miR-26b-5p se correlacionó con una supervivencia global más baja (figura 12B).

Ejemplo 9

Actividad antiproliferativa de miR-30a en líneas celulares cancerosas

El efecto de miR-30a sobre la proliferación de tipos adicionales de cáncer se sometió a prueba en líneas celulares ME180 (carcinoma escamocelular de cuello uterino), HeLa (adenocarcinoma de cuello uterino), HCT116 (carcinoma colorrectal), DU-145 (carcinoma de próstata), PC3 (carcinoma de próstata), MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama) y Panc1 (carcinoma de páncreas). Las células se sembraron a 2×10^3 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se transfectaron de forma inversa con estructura bicatenaria de miR-30a 15 nM durante 48 horas con 0,15 μ l de RNAiMAX. Después de la transfección, se reemplazó el medio y las células se incubaron durante 5 días. Después de la incubación, la viabilidad celular se midió mediante ensayo XTT. El miR-30a disminuyó la viabilidad celular en todas las líneas celulares analizadas (figura 13).

Ejemplo 10

miARN miR-30a modificados

Se llevó a cabo el diseño y la síntesis de varios imitadores y/o miméticos precursores modificados de hsa-miR-30a. En la tabla 18 se muestran ácidos nucleicos miR-30a modificados ejemplares.

Las bases 1, 6 y 20 de la hebra pasajera se mutaron para aumentar la estabilidad de la estructura bicatenaria resultante. Para sesgar la selección de hebra hacia la hebra guía mediante RISC, se colocó un saliente de dos bases en el extremo 3' de la hebra pasajera. Para sesgar más la selección de la hebra, también se sometió a prueba una modificación 5' en el amino C6 en el extremo 5' de la hebra pasajera. Se sabe que la modificación de la posición 2' de ácidos nucleicos individuales en un oligonucleótido puede mejorar la afinidad por las hebras complementarias y también conferir resistencia a las nucleasas. Sin embargo, se desconoce el efecto que tienen estas modificaciones sobre la función del microARN. Para analizar esto, se sintetizaron oligonucleótidos que contienen modificación 2' de las tres bases en los extremos de la hebra pasajera (hebra pasajera 7). También se modificaron bases consecutivas entre la posición 7 y 18 en oligonucleótidos separados (hebras guía 1-5). Las hebras se hibridaron para crear seis imitadores de estructura bicatenaria diferentes de miR-30a que pueden sesgar la maduración de la hebra 5p.

También se analizó el efecto de la longitud de la hebra sobre la actividad. Se sintetizó la hebra guía 11, que es dos bases más corta, pero tiene una modificación 2' de las mismas bases que la hebra guía 5, y la hebra pasajera 12, que también es dos bases más corta que la hebra pasajera 6, pero todavía contiene una modificación 2' de las 3 bases en los extremos 3' y 5' del oligonucleótido. Todas las hebras se combinaron para crear seis nuevos imitadores (010-015).

Tabla 18. Construcciones de miR-30 modificadas

Oligo	Secuencia (5'-3')*	SEQ ID NO:
Hebra guía 1 (G1)	UGUAAACA <u>UCCUC</u> GACUGGAAGCU	37
Hebra guía 2 (G2)	UGUAAACA <u>UCCUC</u> GACUGGAAGCU	38
Hebra guía 3 (G3)	UGUAAACA <u>UCCUC</u> GACUGGAAGCU	39
Hebra guía 4 (G4)	UGUAAACA <u>UCCUC</u> GACUGGAAGCU	40
Hebra guía 5 (G5)	UGUAAACA <u>UCCUC</u> GACUGGAAGCU	41
Hebra guía 11 (G11)	UGUAAACA <u>UCCUC</u> GACUGGAAG	42
Hebra guía 13 (G13)	UGUAAACA <u>UCCUC</u> GACUGGApsG	43
Hebra guía 15 (G15)	UGUAAACA <u>UCCUC</u> GACUGGApspsG	44
Hebra guía 16 (G16)	UGUAAACA <u>UCCUC</u> GACUGGAAd-mpG	45
Hebra guía 17 (G17)	UGUAAACA <u>UCCUC</u> GACUGGAAd-mpAd-mpG	46

Oligo	Secuencia (5'-3')*	SEQ ID NO:
Hebra guía 18 (G18)	UGUAAACAUC <u>C</u> UCGACUGGAAG	47
Hebra guía 19 (G19)	UGUAAACAUC <u>C</u> UCGACUGG <u>ApsAps</u> G	48
Hebra guía 20 (G20)	UGUAAACAUC <u>C</u> UACACUCUCAGC	49
Hebra guía 21 (G21)	UGUAAACAUC <u>C</u> UACACUCUCAGC	50
Hebra guía 22 (G22)	UGUAAACAUC <u>C</u> UACACUCUCAGC	51
Hebra guía 23 (G23)	UGUAAACAUC <u>C</u> UACACUCUC <u>ApsGps</u> C	52
Hebra guía 24 (G24)	Uf <u>G</u> UAAACAUC <u>C</u> UACACUCUC <u>ApsGps</u> C	53
Hebra pasajera 6 (P6)	amino C6-AGCUUCCAGUCGGAUGUUUACACG	54
Hebra pasajera 7 (P7)	amino <u>C6-AGCUUCCAGUCGGAUGUUUACACG</u>	55
Hebra pasajera 12 (P12)	amino C6- <u>CUUCCAGUCGGAUGUUUACACG</u>	56
Hebra pasajera 14 (P14)	Amino C6- <u>UCCAGUCGGAUGUUUACA</u>	57
Hebra pasajera 25 (P25)	Amino C6- <u>UCCAfGfCfGfGfUfUfUfAfCA</u>	58
Hebra pasajera 26 (P26)	Amino C6- <u>UCCAfGfCfGfGfUfUfUfAfpsCpsA</u>	59
Hebra pasajera 27 (P27)	Amino C6- <u>UCCAfGfCfGfGfUfUfUfAfCd-mpA</u>	60
Hebra pasajera 28 (P28)	Amino C6- <u>UGAGAGUAGGAUGUUUACA</u>	61

* los residuos subrayados tienen modificación 2'OMe; ps - fosforotioato; mp - metilfosfonato; d -2' desoxi; f - 2' flúor; las bases mutadas se muestran en negrita y cursiva.

- La viabilidad celular se evaluó en células UM-SCC-46 transfectadas con imitadores de miR-30a modificados. Se sembraron células UMSCC-46 a 2×10^3 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se transfectaron de forma inversa con estructura bicatenaria 15 nM durante 48 horas con 0,15 μ l de RNAiMAX. Después de la transfección, se reemplazó el medio y las células se incubaron durante 5 días. Después de la incubación, se midió la viabilidad celular mediante ensayo XTT. Los datos representan la media de 6 réplicas. M-miR30a-006 (G5+P7) M-miR30a-014 (G11+P12) y M-miR-30a-016 (G11+P14) tuvieron el mayor efecto sobre la viabilidad celular (table 19).

10 Tabla 19. Efecto de los imitadores de miR-30a modificados sobre la viabilidad celular de UMSCC-46

Nombre del imitador	Hebras	% del control de viabilidad (15 nM)	SEM
miR30a no modificado		0,7545821	0,114837
M-miR30a-001	G3 + P6	0,634257	0,138051
M-miR30a-002	G3 + P7	0,680829	0,164553
M-miR30a-003	G4 + P6	0,773038	0,113855
M-miR30a-004	G4 + P7	0,690925	0,066221
M-miR30a-005	G5 + P6	0,681762	0,152425
M-miR30a-006	G5 + P7	0,331135	0,046659
M-miR30a-007	G3 + P10	na	na
M-miR30a-008	G4 + P10	na	na
M-miR30a-009	G5 + P10	na	na
M-miR30a-010	G3 + P12	0,363122	0,048457
M-miR30a-011	G4 + P12	0,49771	0,035976
M-miR30a-012	G5 + P12	0,385692	0,030329
M-miR30a-013	G11 + P7	0,433616	0,038817
M-miR30a-014	G11 + P12	0,255287	0,043365
M-miR30a-015	G11 + P6	0,424858	0,032783
M-miR30a-016	G11 + P14	0,256281	0,028257

- El oligonucleótido M-miR30a-006 también se sometió a prueba en un modelo de ratón de tumores de xenoinjerto UMSCC-46. A ratones con un tumor de xenoinjerto UMSCC-46 de $\sim 100 \text{ mm}^3$ se les inyectó IV nueve dosis de 60 μ g ($\sim 3 \text{ mg/kg}$) de imitador de miR-30a en complejo o vehículo de control en MWF durante 3 semanas. Los ratones se trataron con fracciones de radioterapia de $10 \times 2 \text{ Gy}$ diariamente (20 Gy en total) el día 24 (figuras 14A-14B).

Ejemplo 11

- 20 Efecto del tratamiento combinado con miARN sobre la proliferación celular

La viabilidad celular se evaluó en nueve líneas celulares tumorales HNSCC transfectadas con una mezcla de cuatro miARN: M-miR30a-014, miR-145-5p, miR-26a-5p y miR-375 a 7,5 nM o 15 nM de estructuras bicatenaria

en total (1,875 nM o 3,75 nM de cada estructura bicatenaria respectivamente). En otros experimentos, las células se transfectaron con pares de miARN a 7,5 nM o 15 nM de estructuras secundarias en total. Las células se sembraron a $1,5-2 \times 10^3$ células/pocillo en placas de 96 pocillos y se transfectaron de forma inversa con la mezcla durante 48 horas con 0,15 µl de RNAiMAX. Después de la transfección durante la noche, se reemplazó el medio y las células se incubaron durante 4-5 días. Después de la incubación, se midió la viabilidad celular mediante ensayo XTT como se describe en el ejemplo 1.

La mezcla de cuatro miARN disminuyó la densidad celular en todas las líneas celulares (figura 15), particularmente a concentración de 15 nM. De manera similar, las dos combinaciones de miARN también disminuyeron la densidad celular (figuras 16A-16D).

Ejemplo 12

Efecto de miARN adicionales sobre la viabilidad celular

La viabilidad celular se evaluó en células UM-SCC-1 o UM-SCC-46 transfectadas con estructuras bicatenarias de miR27-5p o miR-2b-1-5p. Se sembraron células UM-SCC-1 a $1,5 \times 10^3$ células/pocillo y se sembraron células UM-SCC-46 a 2×10^3 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se transfectaron de forma inversa con estructura bicatenaria 7,5 nM o 15 nM durante 48 horas con 0,15 µl de RNAiMAX. Después de la transfección, se reemplazó el medio y las células se incubaron durante 5 días. Se midió la viabilidad celular mediante ensayo XTT.

Tanto miR-27b-5p como miR-29-b-1-Sp disminuyeron la densidad celular tanto en células UM-SCC-1 como en UM-SCC-46 (figuras 17A y 17B).

Ejemplo 13

miARN modificados

Se llevó a cabo el diseño de varios imitadores y/o miméticos de miR. En la tabla 20 se muestran imitadores y/o miméticos de miR ejemplares.

Tabla 20. miR modificados

Oligo	Secuencia (5'-3')	SEQ ID NO:
imitador/mimético de hsa-miR-375		
Hebra guía (G29)	UUU GUU CGU UCG GCU CGC GUG A	62
Hebra pasajera (P30)	Amino C6- <u>AC</u> GCG AGC CGA ACG AAC AAA	63
imitador/mimético de miR-26a-5p		
Hebra guía 31 (G31)	UUC AAG U <u>AA UCC AGG</u> AUA GGC U	64
Hebra pasajera (P32)	Amino C6-CCU AUC CCU GGA UUA CUU <u>GAA</u>	65
imitador/mimético de miR-145-5p		
Hebra guía (G33)	GUC CAG <u>UUU UCC CAG</u> GAA UCC CU	66
Hebra pasajera (P34)	Amino C6- <u>GGA</u> UUC CUG GAA AUA CUG <u>GAC</u>	67
los residuos subrayados tienen modificación 2'OMe; las bases mutadas se muestran en negrita y cursiva.		

Ejemplo 14

Tratamiento de carcinoma escamocelular de cabeza y cuello

Este ejemplo describe métodos que pueden usarse para tratar o inhibir HNSCC en un sujeto. Sin embargo, un experto en la técnica apreciará, basándose en las enseñanzas de esta memoria, que también pueden usarse métodos que se desvían de estos métodos específicos para tratar con éxito el HNSCC. Un experto en la técnica también reconocerá que estos métodos también pueden usarse para tratar o inhibir otros cánceres en un sujeto.

En un ejemplo, se selecciona un sujeto con HNSCC (u otro tipo de tumor). En algunos ejemplos, el sujeto tiene un tumor HNSCC. En otros ejemplos, el sujeto tiene un tumor HNSCC que se ha determinado que tiene expresión disminuida de uno o más miARN (tal como uno o más miembros de la familia de miR-30a, miembros de la familia de miR-26, miR-145-5p, un miR-338-3p y miR-375). En otros ejemplos, el sujeto tiene un tumor con una eliminación en el ADN que codifica uno o más miARN (tal como uno o más del gen MIR30, gen MIR26, gen MIR145, gen MIR338 y gen MIR375). En otros ejemplos, el sujeto tiene un tumor con metilación aumentada del promotor o en el ADN codificante de uno o más miARN (tal como uno o más del gen MIR30, gen MIR26, gen MIR145, gen MIR338 y gen MIR375).

Después de la selección del sujeto, se administra una cantidad eficaz de un ácido nucleico miARN (tal como miR-30a-5p o un imitador o mimético del mismo) o una mezcla de ácidos nucleicos miARN (tal como una mezcla de miR-30a, miR-145, miR-26a y miR-375 o un imitador o mimético de uno o más de los mismos) al sujeto. La cantidad de la composición administrada al sujeto depende del sujeto que se esté tratando, la gravedad (tal como el estadio TNM) del tumor y la forma de administración de la composición. Idealmente, una cantidad eficaz del uno o más miARN es la cantidad suficiente para disminuir uno o más signos y síntomas del HNSCC en el sujeto sin provocar un efecto citotóxico sustancial en el sujeto.

- 10 En algunos ejemplos, una disminución en el número y/o tamaño de los tumores, número y/o tamaño de las metástasis, una disminución (o detención) en la progresión de la enfermedad, un aumento en la supervivencia (tal como supervivencia sin enfermedad, supervivencia sin progresión y/o supervivencia sin metástasis), o una combinación de dos o más de las mismas, indica la eficacia del tratamiento.

15 Ejemplo 15

Diseño y ensayo de imitadores de miR-30 adicionales

Se diseñaron hebras guía y pasajeras de miR-30-5p modificadas adicionales y se muestran en la tabla 21.

20

Tabla 21. miARN miR-30-5p modificados

Oligo	Secuencia (5'→ 3')	SEQ ID NO:
Hebra guía 35 (G35)	UGUAAACAUCUACACUCUCAGC	50
Hebra guía 36 (G36)	UfGUfAAfACfAUfCCfUAfCAfCUfCUfCAfpsGpsCf	73
Hebra guía 37 (G37)	UGfUAAfCAUfCCfUAfCAfCUfCUfCAfpsGpsCf	74
Hebra pasajera 28 (P28)	Amino C6-UGAGAGUAGGAUGUUACA	61

f, 2'-fluoro, subrayado, 2'-OME, ps, fosforotioato, las bases mutadas se muestran en negrita y cursiva.

La viabilidad celular se evaluó en células UM-SCC-46 transfectadas con imitadores de miR-30a modificados, como se describe en el ejemplo 11. Los datos representan la media de 6 réplicas (tabla 22). Se sometió a prueba la estabilidad de los imitadores en suero (figura 18). Las modificaciones químicas incorporadas en M-miR30-018 y M-miR30-019 confirieron resistencia a largo plazo a la nucleasa con una estabilidad >50 veces aumentada en suero humano (figura 18). Se evaluó la viabilidad celular de células UM-SCC-46 transfectadas con las estructuras bicatenarias de miARN indicadas (7,5 nM o 15 nM de estructuras bicatenarias en total) como se describe en el ejemplo 11 (figura 19). M-miR30-018 y M-miR30-019 todavía mantuvieron una potencia de inhibición de la proliferación de células cancerosas igual a M-006, que está muy mejorada con respecto al microARN biológico (figura 19 y tabla 22).

25

30

Tabla 22. Efecto de los imitadores de miR-30a modificados sobre la viabilidad celular de UMSCC-46

Nombre del imitador	Hebras	% del control de viabilidad (15 nM)	SEM
M-miR30-017	G35 + P28	0,281711	0,038428
M-miR30-018	G36 + P28	0,363828	0,024757
M-miR30-019	G37 + P28	0,457675	0,100329

35 Ejemplo 16

Imitadores de miR adicionales

Se llevó a cabo el diseño de imitadores y/o miméticos de miR adicionales. En la tabla 23 se muestran imitadores y/o miméticos de miR ejemplares.

40

Tabla 23. miR modificados

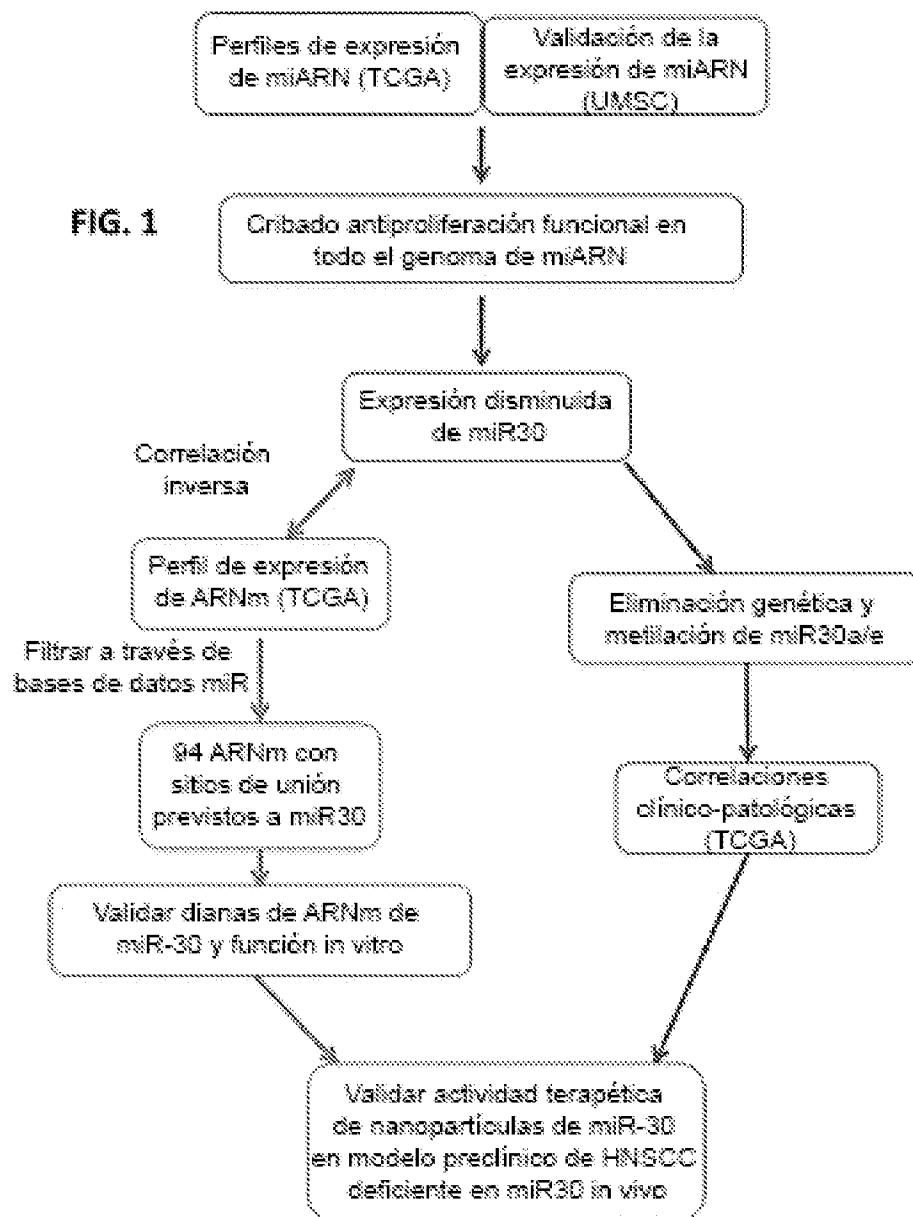
Oligo	Secuencia (5'-3')	SEQ ID NO:
imitadores de miR-30		
Hebra guía 39 (G39)	UfGUf AAA CAUfCCfU CfGAfCUFG GfApsAfpsG	75
Hebra guía 40 (G40)	UfGUf AAA CAUf CCfU CGA CUG GApApsG	76
Hebra guía 41 (G41)	UfGUf AAfA CAUf CCfU CfGAf CUfG GfApsAfpsG	77
Hebra guía 42 (G42)	UfGUf AAfA CfAUf CCfU CfGAf CUfG GfApsAfpsG	78
Hebra guía 43 (G43)	UfGUf AAfA CAUf CCfU CfGAf CUfG GfApsAfpsG	79
Hebra guía 44 (G44)	UfGUf AAfA CfAUf CCfU CGA CUG GfApsAfpsG	80
Hebra guía 45 (G45)	UfGUf AAA CAUf CCfU CGA CUG GfApsAfpsG	81
Hebra guía 46 (G46)	UfGUf AAfA CfAUf CCfU CGA CUG GApApsG	82

Hebra guía 47 (G47)	Uf <u>G</u> Uf AAA CAU CCU CGA CUG G <u>A</u> ps <u>A</u> psG	83
Hebra guía 48 (G48)	Uf <u>G</u> Uf AAA CAU CCU CGA CUG G <u>A</u> ps <u>A</u> psG	84
Hebra guía 49 (G49)	Uf <u>G</u> Uf AAA CAU CCU CGA CUG G <u>A</u> ps <u>A</u> psGf	85
Hebra guía 50 (G50)	Uf <u>G</u> U AAA CAU CCU CGA CUG G <u>A</u> ps <u>A</u> psGf	86
Hebra guía 51 (G51)	Uf <u>G</u> U AAA CAU CCU CGA CUG G <u>A</u> ps <u>A</u> psG	87
Hebra guía 52 (G52)	Uf <u>G</u> U AAA CAU CCU CGA CUG G <u>A</u> ps <u>A</u> psGf	88
Hebra guía 53 (G53)	Uf <u>G</u> U AAA CAU Cf <u>C</u> U CGA CUG G <u>A</u> ps <u>A</u> psGf	89
Hebra guía 54 (G54)	Uf <u>G</u> U AAA CAUf CCU CGA CUG G <u>A</u> ps <u>A</u> psGf	90
Hebra guía 55 (G55)	Uf <u>G</u> Uf AAA CAU CCf <u>U</u> CfG <u>A</u> fC <u>U</u> F <u>G</u> Gf <u>A</u> ps <u>A</u> psG	91
Hebra pasajera 56 (P56)	Amino C6- <u>U</u> CCA <u>f</u> G <u>U</u> fC <u>G</u> fGAU <u>G</u> Uf <u>U</u> f <u>A</u> CA	92
imitadores de miR-375		
Hebra guía 57 (G57)	Uf <u>U</u> Uf GUU CGU UCG GCU CGC GU <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	93
Hebra guía 58 (G58)	Uf <u>U</u> U GUU CGU UCG GCU CGC GU <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	94
Hebra guía 59 (G59)	Uf <u>U</u> Uf GUU CGU UCG GCU CGC Gf <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	95
Hebra guía 60 (G60)	Uf <u>U</u> Uf GUfU CGU UCG GCU CGC Gf <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	96
Hebra guía 61 (G61)	Uf <u>U</u> Uf GUfU CGU UCG GCU C <u>G</u> fC Gf <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	97
Hebra guía 62 (G62)	Uf <u>U</u> Uf <u>G</u> UfU CfGU UCG GCU C <u>G</u> fC Gf <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	98
Hebra guía 63 (G63)	Uf <u>U</u> Uf GUU CGU UCG GCU C <u>G</u> fC Gf <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	99
Hebra guía 64 (G64)	<u>U</u> UU GUU CGU UCG GCU C <u>G</u> fC Gf <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	100
Hebra guía 65 (G65)	<u>U</u> UU GUU CGU UCG GCU C <u>G</u> fC Gf <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	101
Hebra guía 66 (G66)	Uf <u>U</u> Uf <u>G</u> UfU CfGUf <u>U</u> CfG GfCUf C <u>G</u> fC Gf <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	102
Hebra guía 67 (G67)	Uf <u>U</u> Uf GUU CGU <u>U</u> CfG GfCUf C <u>G</u> fC Gf <u>U</u> psGf <u>U</u> ps <u>A</u>	103
Hebra pasajera 68 (P68)	Amino C6- <u>A</u> C <u>G</u> CfG Af <u>G</u> Cf CGA <u>A</u> CfG Af <u>A</u> Cf AAA	104
imitadores de miR-26		
Hebra guía 69 (G69)	Uf <u>U</u> Cf AAG UAA UCC AGG AUA G <u>G</u> psCf <u>U</u> ps <u>U</u>	105
Hebra guía 70 (G70)	Uf <u>U</u> Cf AAG UAA UCC AGG AUA G <u>G</u> psCf <u>U</u> ps <u>U</u>	106
Hebra guía 71 (G71)	Uf <u>U</u> Cf AAG UAA UCC AGG AUA Gf <u>G</u> psCf <u>U</u> ps <u>U</u>	107
Hebra guía 72 (G72)	Uf <u>U</u> Cf AAG UAA UCC AGG AUA Gf <u>G</u> psCf <u>U</u> ps <u>U</u>	108
Hebra guía 73 (G73)	Uf <u>U</u> Cf AAfG UAA UCC AGG AUA Gf <u>G</u> psCf <u>U</u> ps <u>U</u>	109
Hebra guía 74 (G74)	Uf <u>U</u> Cf <u>A</u> AfG UAA UCC AGG AU <u>A</u> f Gf <u>G</u> psCf <u>U</u> ps <u>U</u>	110
Hebra guía 75 (G75)	Uf <u>U</u> Cf <u>A</u> AfG UfAA UCC AGG AU Af Gf <u>G</u> psCf <u>U</u> ps <u>U</u>	111
Hebra guía 76 (G76)	Uf <u>U</u> Cf <u>A</u> AfG UfAA UCC AGG AU Af Gf <u>G</u> psCf <u>U</u> ps <u>U</u>	112
Hebra guía 77 (G77)	Uf <u>U</u> Cf <u>A</u> AfG UfAA UCC AGG AfU <u>A</u> f Gf <u>G</u> psCf <u>U</u> ps <u>U</u>	113
Oligo	Secuencia (5'-3')	SEQ ID NO:
Hebra guía 78 (G78)	Uf <u>U</u> Cf <u>A</u> AfG UfAAf <u>U</u> CfC AfG <u>G</u> f AUfA Gf <u>G</u> psCf <u>U</u> ps <u>U</u>	114
Hebra pasajera 79 (P79)	Amino C6- <u>C</u> CU Af <u>U</u> Cf <u>C</u> CfU GGA <u>U</u> UfA CfU <u>U</u> f <u>G</u> AA	115
imitadores de miR-145-5p		
Hebra guía 80 (G80)	Gf <u>U</u> Cf CAG <u>U</u> UU UCC CAG GAA UCC <u>U</u> ps Cf <u>U</u> ps <u>U</u>	116
Hebra guía 81 (G81)	Gf <u>U</u> Cf CAG <u>U</u> UU UCC CAG GAA UCC <u>U</u> ps Cf <u>U</u> ps <u>U</u>	117
Hebra guía 82 (G82)	Gf <u>U</u> Cf <u>C</u> AG <u>U</u> UU UCC CAG GAA U <u>C</u> fC <u>U</u> ps Cf <u>U</u> ps <u>U</u>	118
Hebra guía 83 (G83)	Gf <u>U</u> Cf <u>C</u> AfG <u>U</u> UU UCC CAG GAA <u>U</u> CfC <u>U</u> ps Cf <u>U</u> ps <u>U</u>	119
Hebra guía 84 (G84)	Gf <u>U</u> Cf <u>C</u> AfG <u>U</u> UU UCC CAG GAAf <u>U</u> CfC <u>U</u> ps Cf <u>U</u> ps <u>U</u>	120
Hebra guía 85 (G85)	Gf <u>U</u> Cf <u>C</u> AfG UfUU UCC CAG GAAf <u>U</u> CfC <u>U</u> ps Cf <u>U</u> ps <u>U</u>	121
Hebra guía 86 (G86)	Gf <u>U</u> Cf <u>C</u> AfG UfUU UCC CAG GfAAf <u>U</u> CfC <u>U</u> ps Cf <u>U</u> ps <u>U</u>	122
Hebra guía 87 (G87)	Gf <u>U</u> Cf <u>C</u> AfG UfUuf <u>U</u> CfC CfAGf GfAAf <u>U</u> CfC <u>U</u> ps Cf <u>U</u> ps <u>U</u>	123
Hebra guía 88 (G88)	Gf <u>U</u> Cf <u>C</u> AfG UfUuf <u>U</u> CfC CfAGfGAFa UfC <u>U</u> ps <u>C</u> psUf	124
Hebra pasajera 89 (P89)	Amino C6- <u>G</u> GA UfUcf <u>C</u> UfG GAA AUfA CfUGf <u>G</u> AC	125
imitadores de miR-101		
Hebra guía 89 (G89)	UAC AGU ACU GUG AUA ACU GAA	126

Hebra guía 90 (G90)	Uf <u>AC</u> AGU <u>ACU</u> GUG AUA ACU GpsAfps <u>A</u>	127
Hebra guía 91 (G91)	Uf <u>ACf</u> AGU <u>ACU</u> GUG AUA ACU <u>GpsAfpsA</u>	128
Hebra guía 92 (G92)	Uf <u>ACf</u> <u>AGU</u> <u>ACU</u> GUG AUA ACUf <u>GpsAfpsA</u>	129
Hebra guía 93 (G93)	Uf <u>ACf</u> <u>AGfU</u> <u>ACU</u> GUG AUA <u>ACUf</u> <u>GpsAfpsA</u>	130
Hebra guía 94 (G94)	Uf <u>ACf</u> <u>AGfU</u> <u>ACU</u> GUG AUA Af <u>CUf</u> <u>GpsAfpsA</u>	131
Hebra guía 95 (G95)	Uf <u>ACf</u> <u>AGfU</u> Af <u>CU</u> GUG AUA Af <u>CUf</u> <u>GpsAfpsA</u>	132
Hebra guía 96 (G96)	Uf <u>ACf</u> <u>AGfU</u> Af <u>CUf</u> <u>GUfG</u> Af <u>UAf</u> <u>ACfU</u> Gfps <u>ApsAf</u>	133
Hebra pasajera 97 (P97)	Amino C6- <u>CAG</u> UUA UCA CAG UAC <u>UGU</u> <u>A</u>	134
Hebra pasajera 98 (P98)	Amino <u>C6-CAG</u> UfUAf UCfA CAG <u>UAfC</u> Uf <u>GU</u> <u>A</u>	135
imitadores de miR-29		
Hebra guía 99 (G99)	GCU GGU <u>UUC</u> AUA <u>UGG</u> UGG UUU AGA	136
Hebra guía 100 (G100)	Gf <u>CU</u> GGU <u>UUC</u> AUA <u>UGG</u> UGG UUU ApsGfps <u>A</u>	137
Hebra guía 101 (G101)	Gf <u>CUf</u> GGU <u>UUC</u> AUA <u>UGG</u> UGG UUU <u>ApsGfpsA</u>	138
Hebra guía 102 (G102)	Gf <u>CUf</u> GGU <u>UUC</u> AUA <u>UGG</u> UGG UUUf <u>ApsGfpsA</u>	139
Hebra guía 103 (G103)	Gf <u>CUf</u> <u>GGfU</u> <u>UUC</u> AUA <u>UGG</u> UGG UUUf <u>ApsGfpsA</u>	140
Hebra guía 104 (G104)	Gf <u>CUf</u> <u>GGfU</u> <u>UUC</u> AUA <u>UGG</u> UGG Uf <u>U</u> Uf <u>ApsGfpsA</u>	141
Hebra guía 105 (G105)	Gf <u>CUf</u> <u>GGfU</u> Uf <u>UC</u> AUA <u>UGG</u> UGG Uf <u>U</u> Uf <u>ApsGfpsA</u>	142
Hebra guía 106 (G106)	Gf <u>CUf</u> <u>GGfU</u> Uf <u>UC</u> AUA <u>UGG</u> UGfG UfUf <u>ApsGfpsA</u>	143
Hebra guía 107 (G107)	Gf <u>CUf</u> <u>GGfU</u> Uf <u>UC</u> AUA <u>UGG</u> UGfG UfUf <u>ApsGfpsA</u>	144
Hebra guía 107 (G107)	Gf <u>CUf</u> <u>GGfU</u> Uf <u>UCf</u> AfUA UfGGf UGfG UfUf <u>ApsGfpsA</u>	145
Hebra pasajera 108 (P108)	Amino C6- <u>UAA</u> ACC ACC AUA UGA AAC <u>CAG</u> <u>C</u>	146
imitadores de miR-27		
Hebra guía 109 (G109)	AGA GCU <u>UAG</u> CUG AUU GGU GAA C	147
Hebra guía 110 (G110)	Af <u>GA</u> GCU <u>UAG</u> CUG AUU GGU G <u>ApsAfps</u> C	148
Hebra guía 111 (G111)	Af <u>GAf</u> GCU <u>UAG</u> CUG AUU GGU G <u>ApsAfps</u> C	149
Hebra guía 112 (G112)	Af <u>GAf</u> GCU <u>UAG</u> CUG AUU GGU Gf <u>ApsAfps</u> C	150
Hebra guía 112 (G112)	Af <u>GAf</u> G <u>CfU</u> <u>UAG</u> CUG AUU GGU Gf <u>ApsAfps</u> C	151
Hebra guía 113 (G113)	Af <u>GAf</u> G <u>CfU</u> <u>UAG</u> CUG AUU GGUf Gf <u>ApsAfps</u> C	152
Hebra guía 114 (G114)	Af <u>GAf</u> G <u>CfU</u> Uf <u>AG</u> CUG AUU GGUf Gf <u>ApsAfps</u> C	153
Hebra guía 115 (G115)	Af <u>GAf</u> G <u>CfU</u> Uf <u>AG</u> CUG AUU Gf <u>GUf</u> Gf <u>ApsAfps</u> C	154
Hebra guía 116 (G116)	Af <u>GAf</u> G <u>CfU</u> Uf <u>AGf</u> <u>CUfG</u> AfUfUf <u>GGfU</u> Gf <u>ApsAfps</u> Cf	155
Hebra pasajera 117 (P117)	Amino C6- <u>GUU</u> CAC CAA UCA GCU AAG <u>CUC</u> <u>U</u>	156
Hebra pasajera 118 (P118)	Amino C6- <u>GUU</u> Cf <u>ACf</u> <u>CAfA</u> UCA Gf <u>CUf</u> <u>AAfG</u> Cf <u>UC</u> U	157
Hebra pasajera 119 (P119)	Amino C6- <u>UAA</u> Af <u>CCf</u> <u>ACfC</u> AUA Uf <u>GAf</u> <u>AAfC</u> CfAG <u>C</u>	158
f, 2'-fluoro, subrayado, 2'-OME, ps, fosforotioato. Las bases mutadas se muestran en negrita y cursiva.		

REIVINDICACIONES

1. Una composición para su uso en un método de tratamiento de un sujeto con cáncer, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un ácido nucleico microARN (miARN) aislado que comprende un
 5 ácido nucleico miR-30-5p, o un ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p, en donde el ácido nucleico imitador o mimético comprende uno o más ácidos nucleicos modificados, una modificación del extremo 5' y/o una modificación del extremo 3', en donde el ácido nucleico imitador o mimético comprende uno o más nucleótidos 2'-O-metil-, 2'-metoxietoxi-, 2'-dimetilaminooxietoxi-, 2'-aminopropoxi- y 2'-fluoro-modificados, y/o
 10 en donde el ácido nucleico imitador o mimético comprende una modificación 5'-amino C3, una modificación 5'-amino C6 o una modificación 5'-amino C12, o un vector de expresión que comprende el ácido nucleico miR-30-5p o el ácido nucleico imitador o mimético de miR-30-5p, tratando de ese modo al sujeto con cáncer, en donde el cáncer comprende carcinoma escamocelular de cabeza y cuello o carcinoma escamocelular de cuello uterino.
- 15 2. La composición para el uso de la reivindicación 1, en donde el ácido nucleico miR-30-5p y/o imitador o mimético del mismo disminuye la expresión de uno o más ARNm enumerados en las tablas 6 a 9.
3. La composición para el uso de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el ácido nucleico miR-30-5p es un ácido nucleico miR-30a-5p, un ácido nucleico miR-30b-5p, un ácido nucleico miR-30c-5p, un ácido
 20 nucleico miR-30d-5p, un ácido nucleico miR-30e-5p o un imitador o mimético de los mismos.
4. La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el ácido nucleico miR-30-5p y/o imitador o mimético del mismo comprende una cualquiera de SEQ ID NO: 1-5, 37-53, 73-91, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 41 y 55, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 42 y 56, una estructura
 25 bicatenaria de SEQ ID NO: 42 y 57, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 50 y 61, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 73 y 61, una estructura bicatenaria de SEQ ID NO: 74 y 61 o una estructura bicatenaria de una hebra guía y una hebra pasajera seleccionada de SEQ ID NO: 37-61 y 73-92.
5. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el método comprende además administrar al sujeto una cantidad eficaz de un ácido nucleico microARN (miARN) aislado que comprende un ácido nucleico miR-26a-5p, un ácido nucleico miR-26b-5p, un ácido nucleico miR-145-5p, un
 30 ácido nucleico miR-338-3p, un ácido nucleico miR-205-5p, un ácido nucleico miR-375, un ácido nucleico miR-29, un ácido nucleico miR-27, un ácido nucleico miR-101, un imitador o mimético de cualquiera de los mismos, o una combinación de dos o más de los mismos.
6. La composición para el uso de la reivindicación 5, en donde el ácido nucleico miR-26a-5p comprende SEQ ID NO: 12, el ácido nucleico miR-26b-5p comprende SEQ ID NO: 15, el ácido nucleico miR-145-5p comprende SEQ ID NO: 18, el ácido nucleico miR-338-3p comprende SEQ ID NO: 21, el ácido nucleico miR-375
 40 comprende SEQ ID NO: 17, o un imitador y/o mimético de los mismos.
7. La composición para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el método comprende administrar una cantidad eficaz del ácido nucleico miR-30-5p, el ácido nucleico miR-26a-5p, el ácido nucleico miR-145-5p y el ácido nucleico miR-375 o un imitador o mimético de los mismos.
- 45 8. La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el uno o más ácidos nucleicos miARN aislados se administran en una composición liposómica.
9. La composición para el uso de la reivindicación 8, en donde el liposoma comprende además una o más moléculas que dirigen el liposoma al cáncer.
- 50 10. La composición para el uso de la reivindicación 9, en donde la molécula de dirección comprende un anticuerpo antirreceptor de transferrina o un fragmento del mismo.
11. La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el método comprende además administrar uno o más tratamientos adicionales.
- 55 12. La composición para el uso de la reivindicación 11, en donde uno o más tratamientos adicionales comprenden cirugía, radioterapia y quimioterapia.
- 60 13. La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde dicha cantidad eficaz es de 100 µg/kg a 10 mg/kg en un sujeto con cáncer.



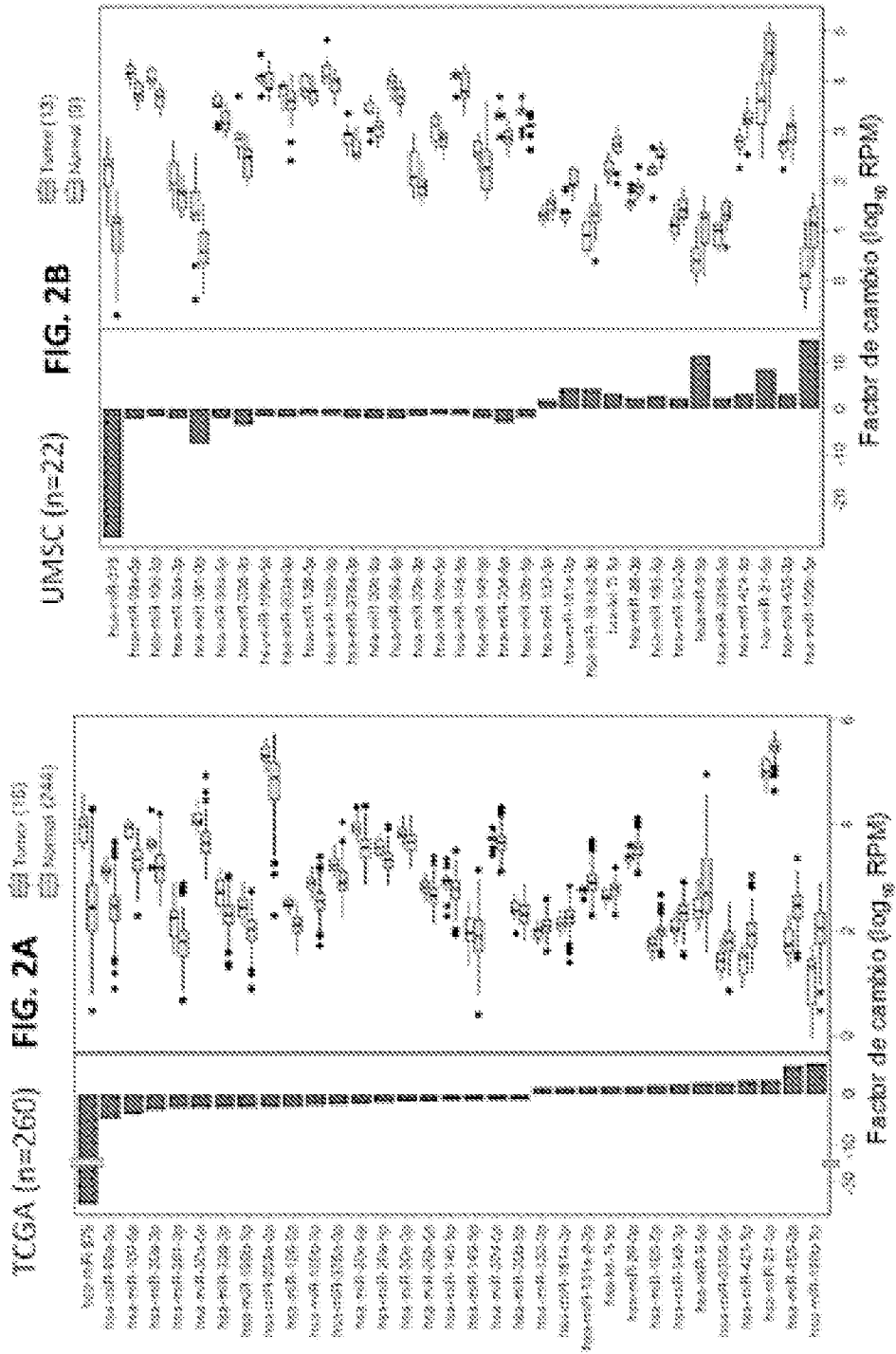


FIG. 2C

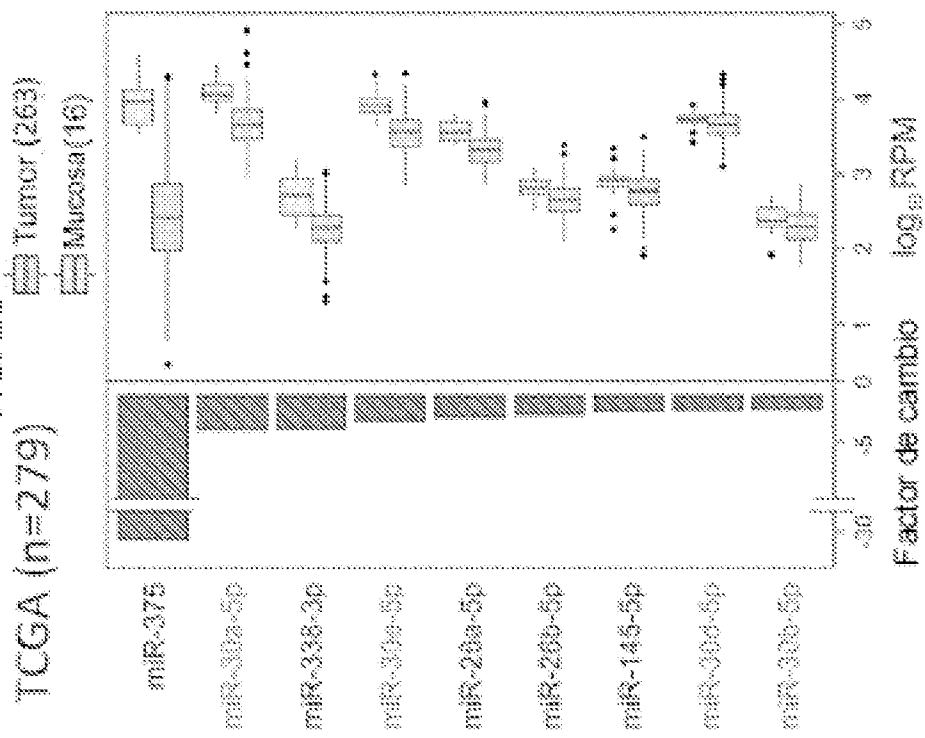
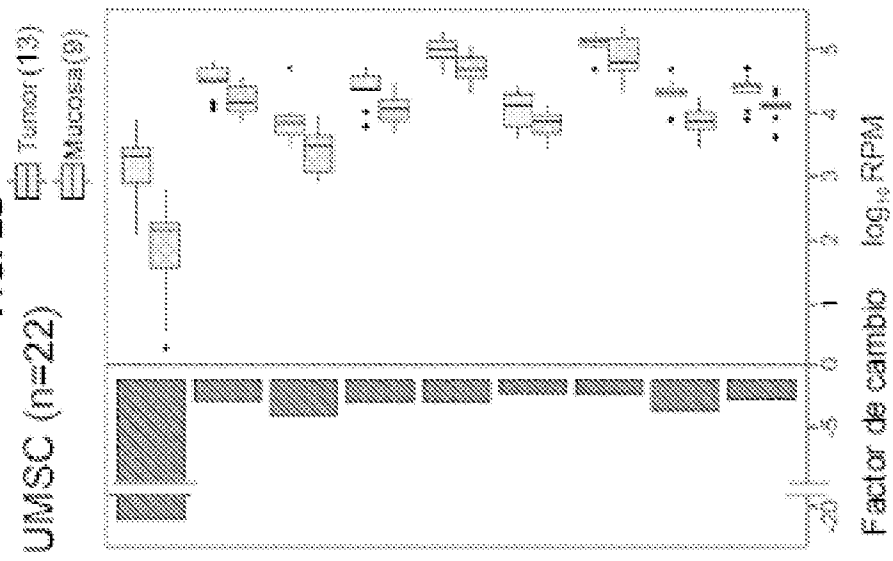


FIG. 2D



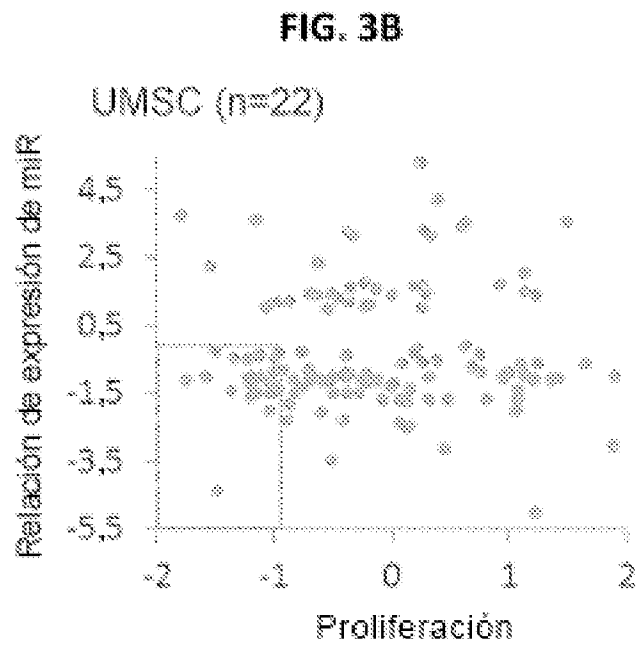
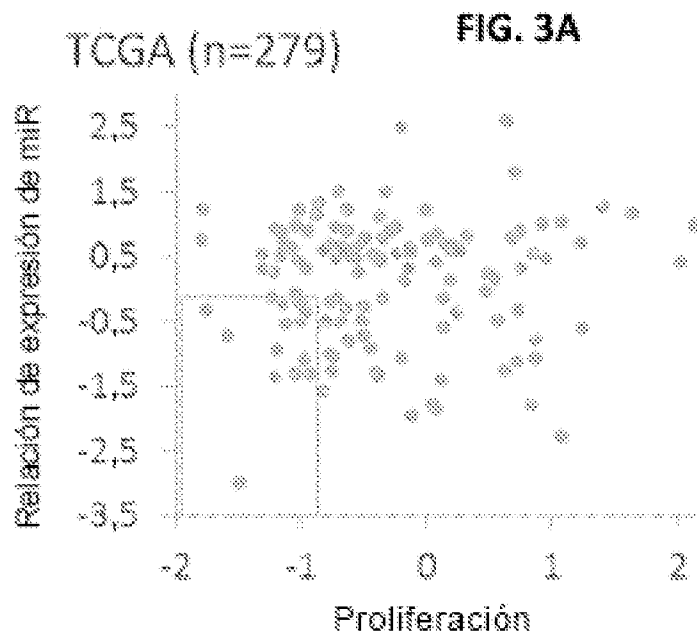


FIG. 3C

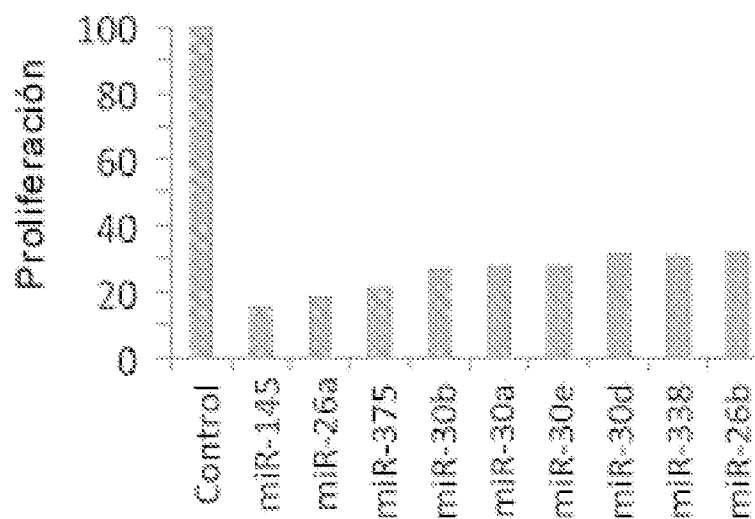
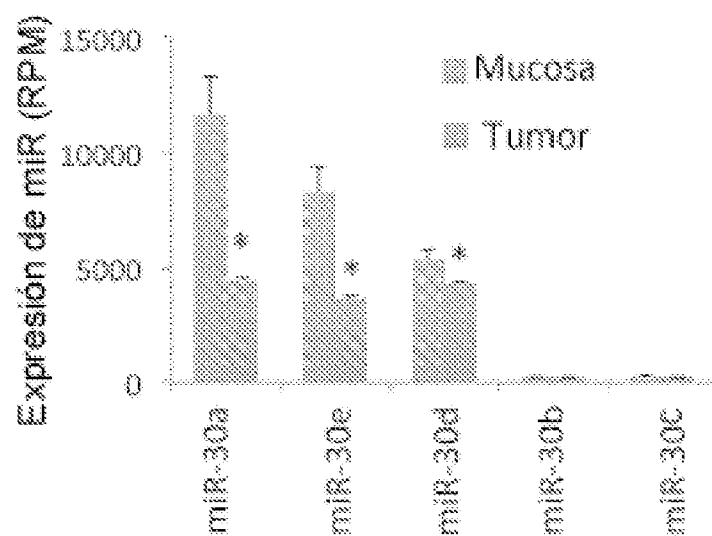


FIG. 3D



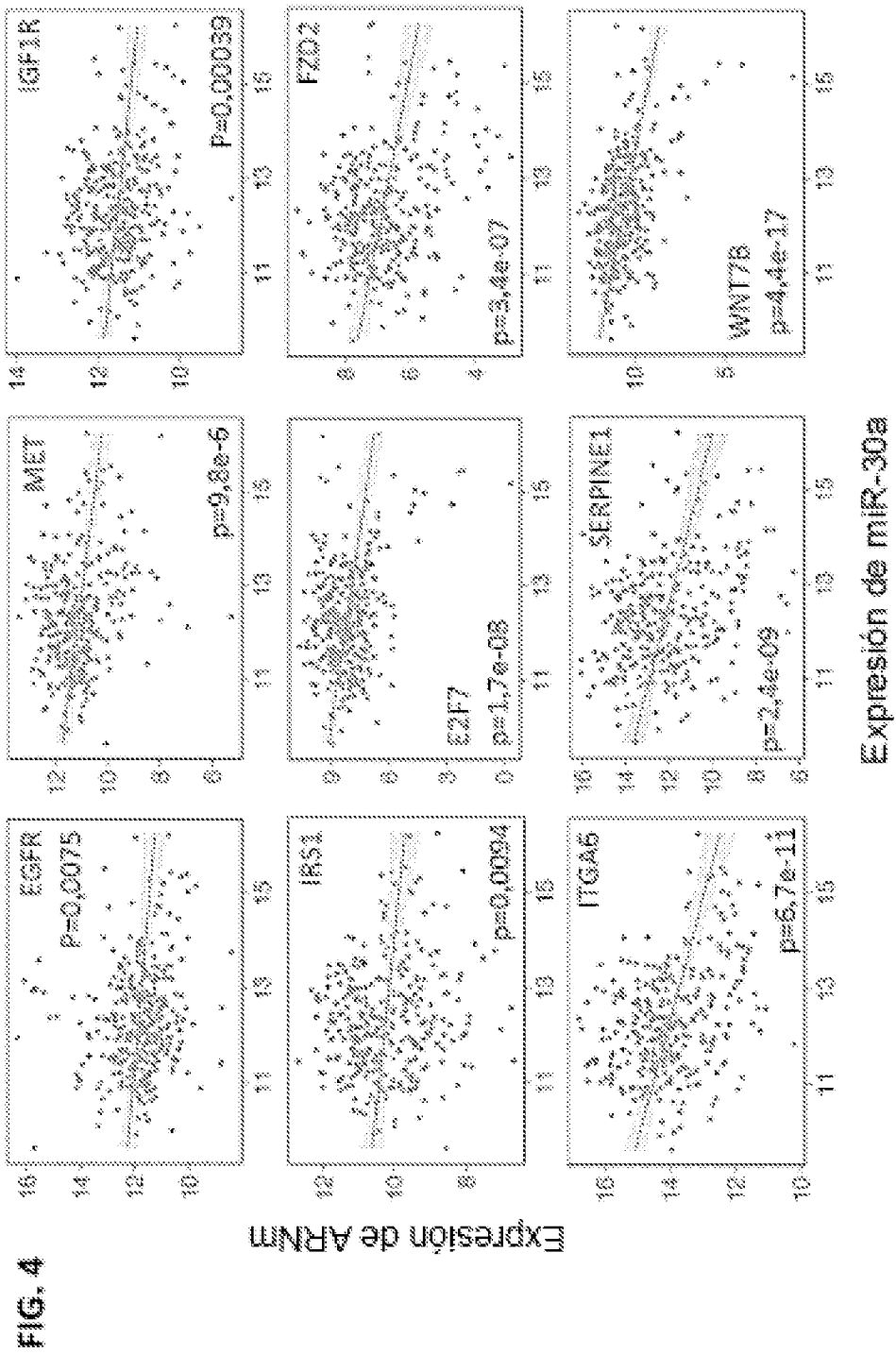


FIG. 5

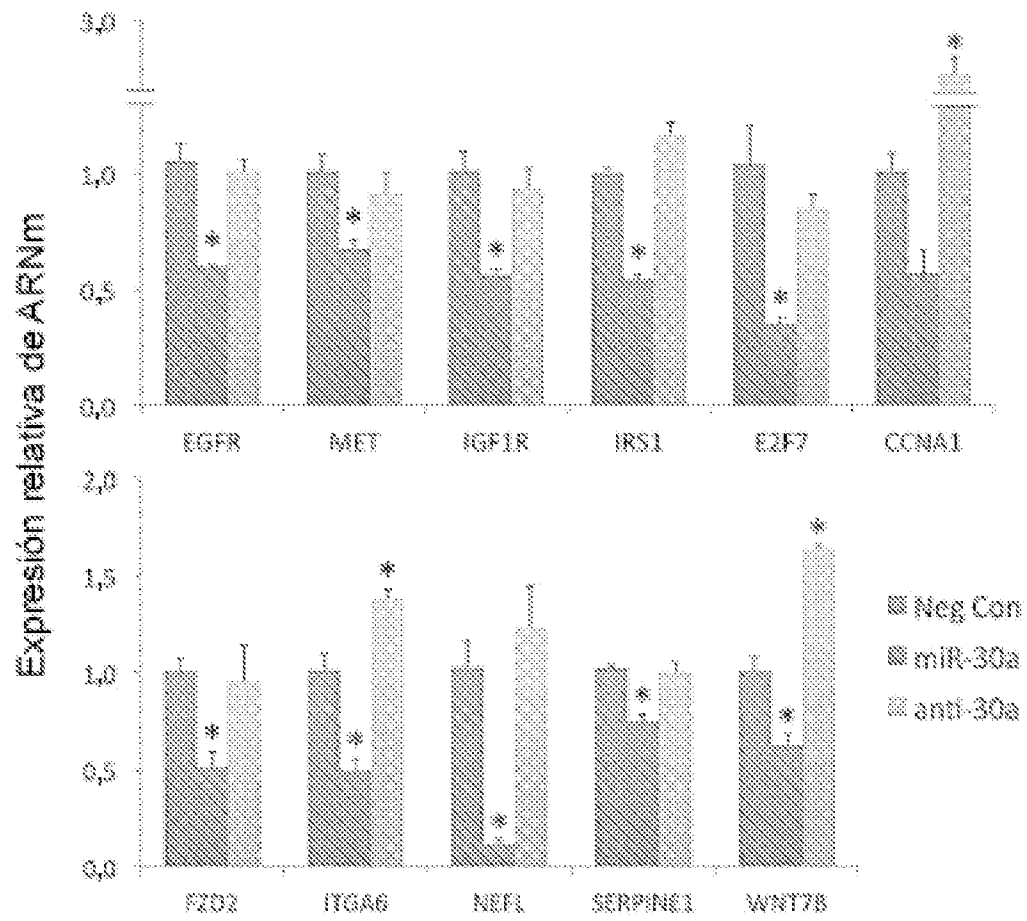


FIG. 6A

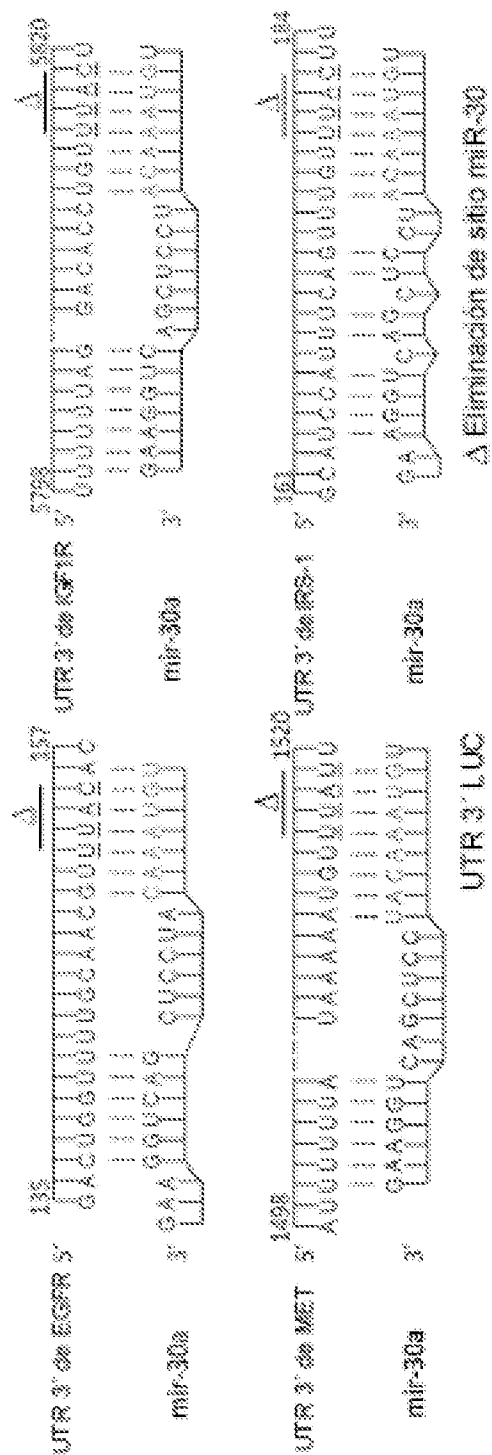
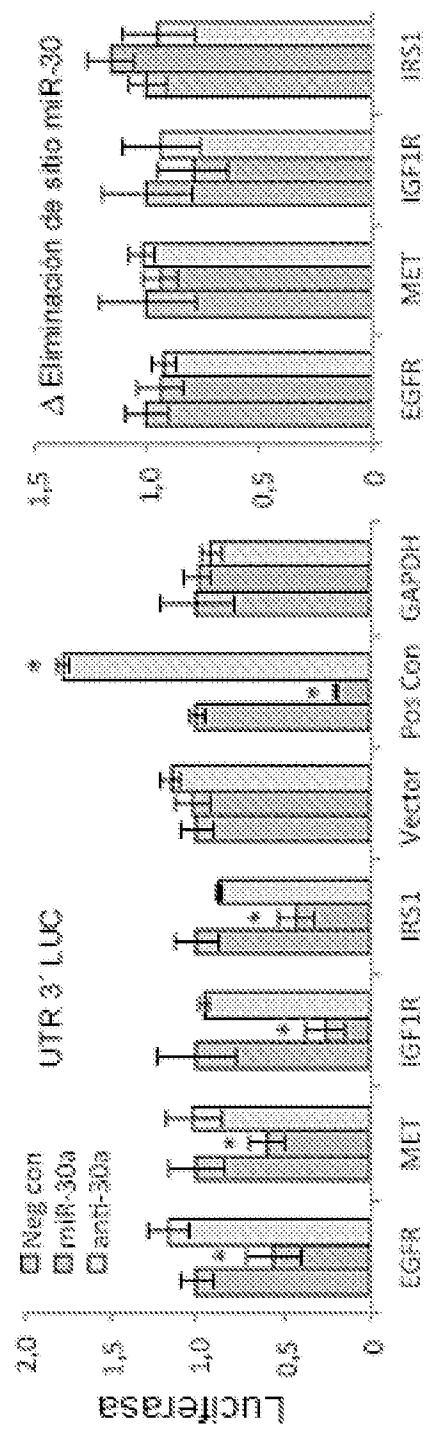


FIG. 6B



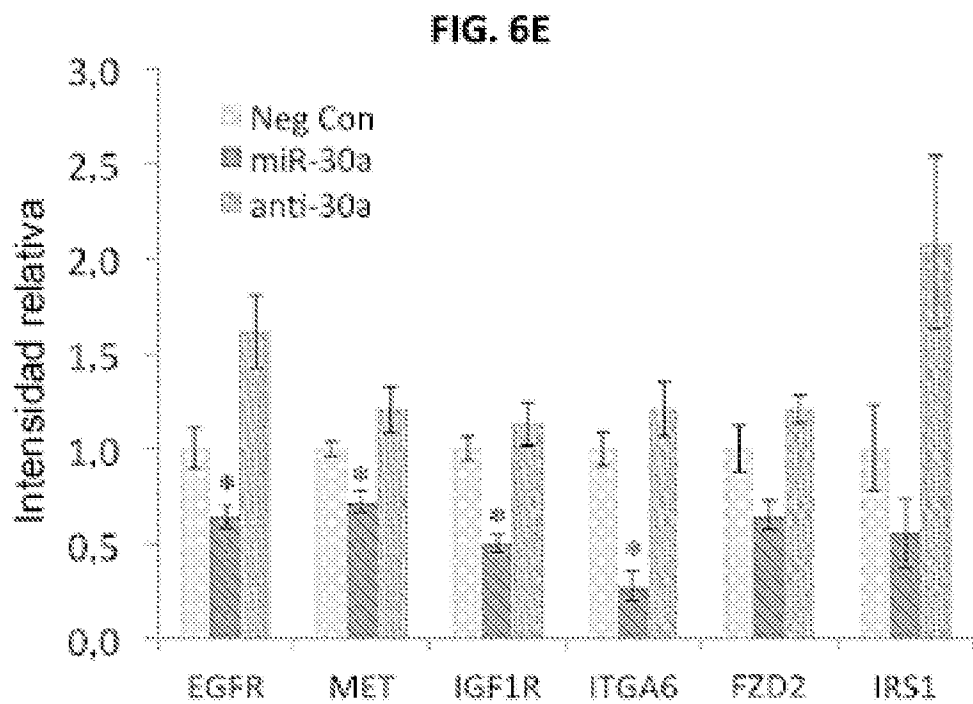
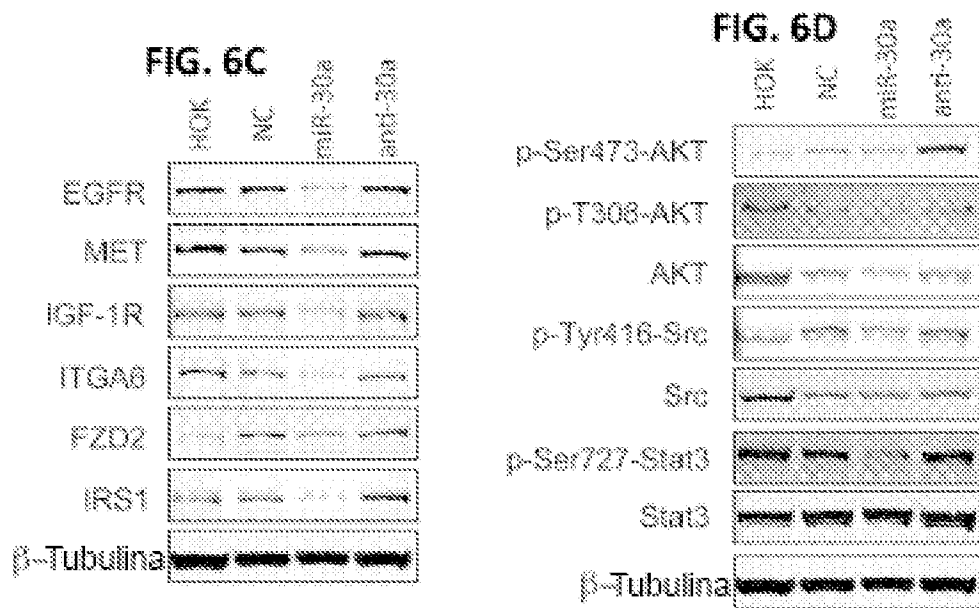


FIG. 7A

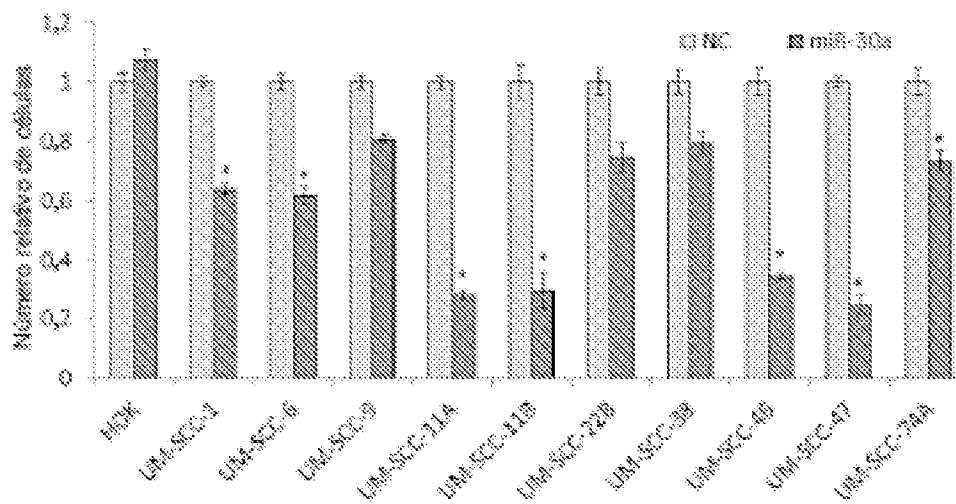


FIG. 7B

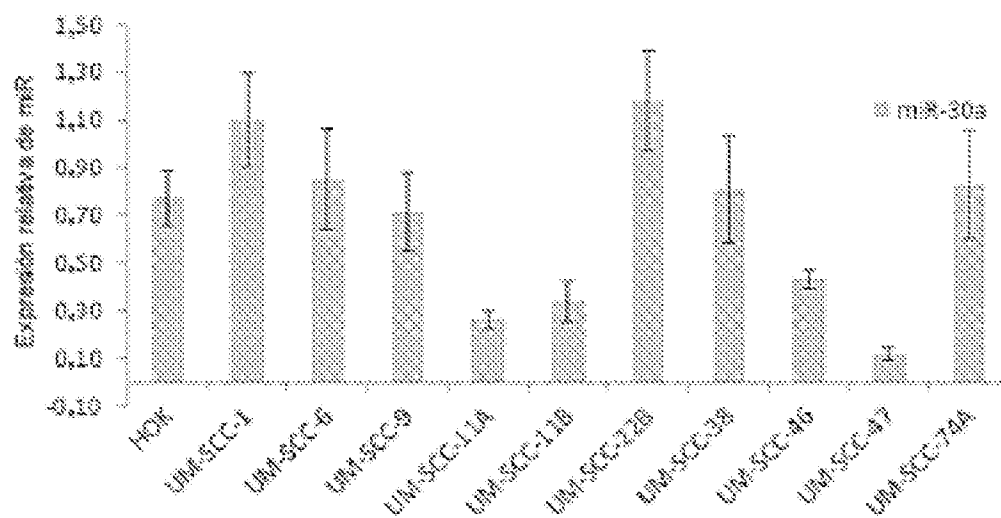


FIG. 7C

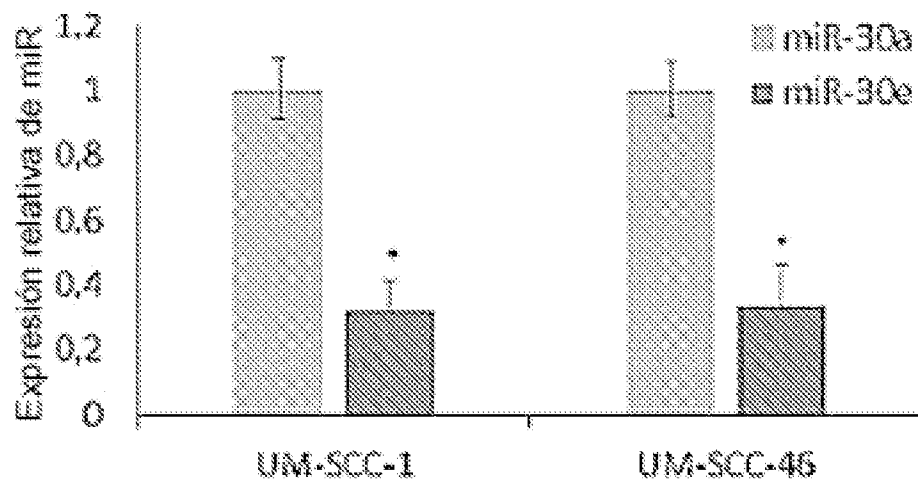


FIG. 7D

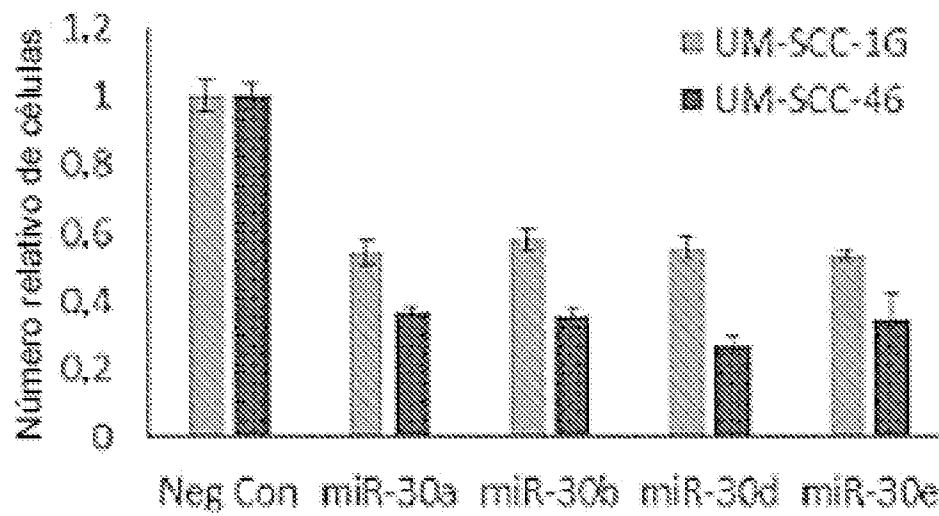


FIG. 7E

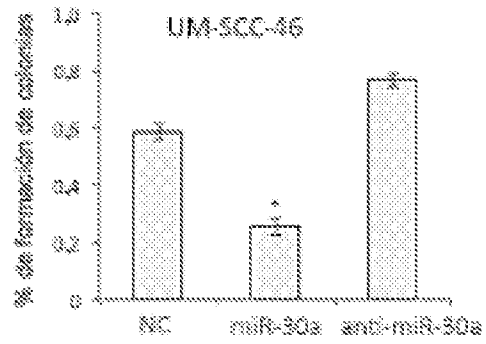


FIG. 7F

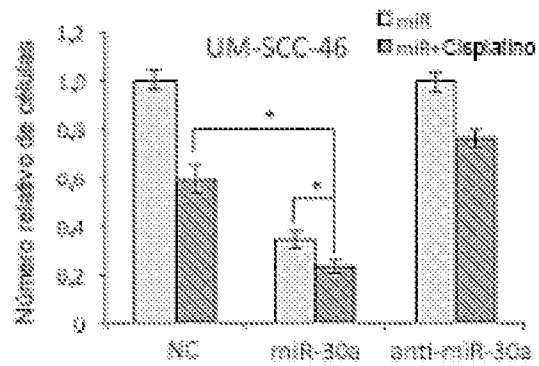


FIG. 7G

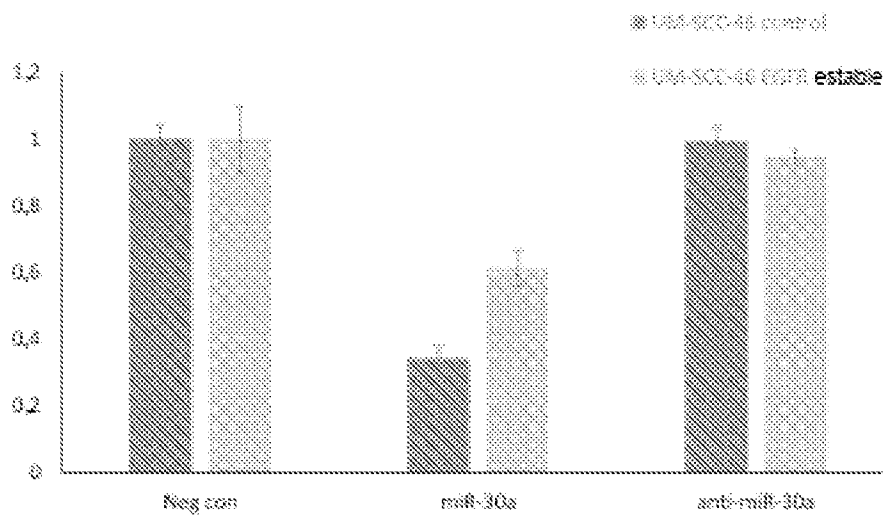


FIG. 7H

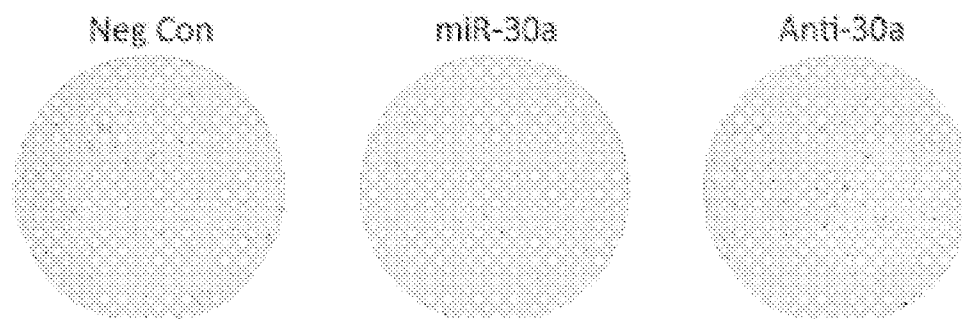


FIG. 7I

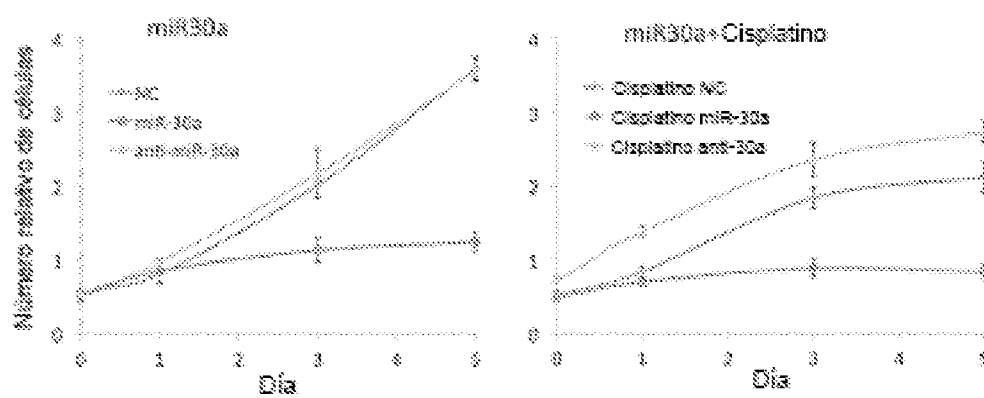


FIG. 8A

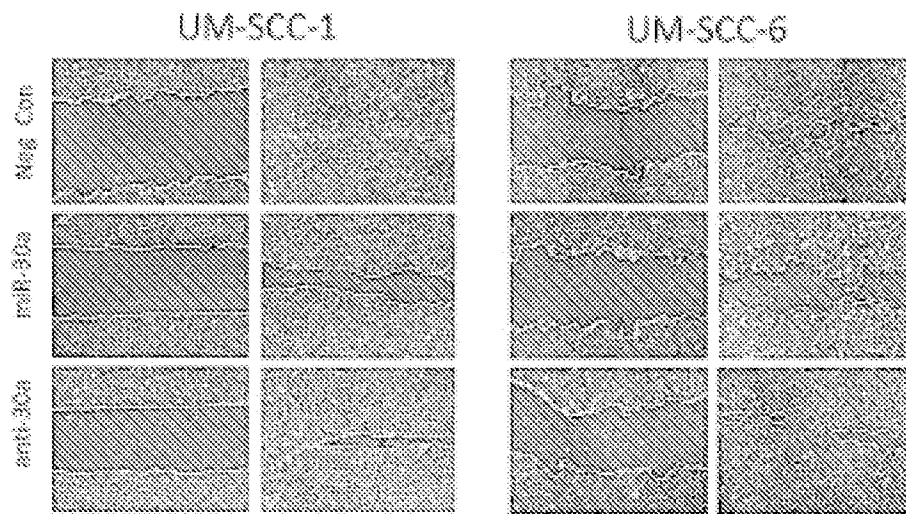


FIG. 8B

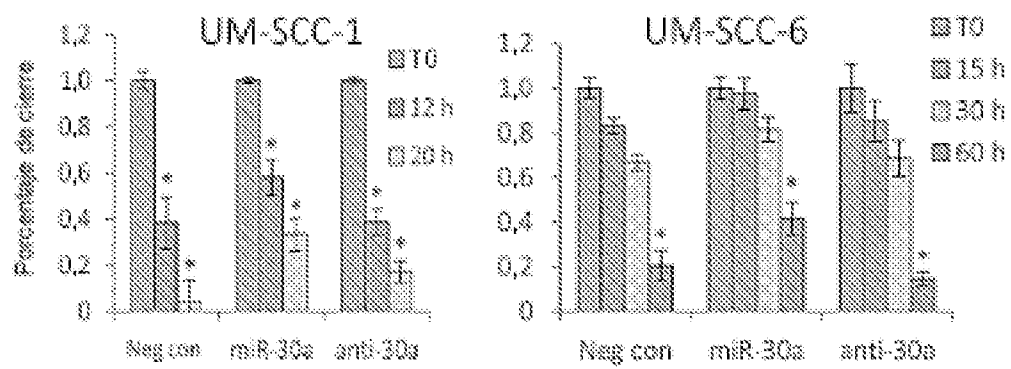


FIG. 8C

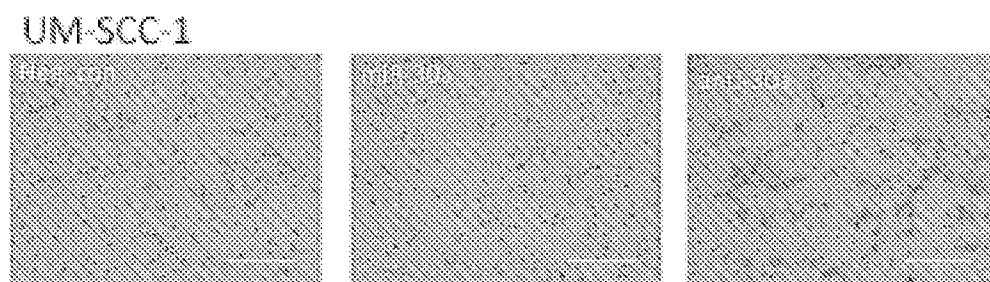


FIG. 8D

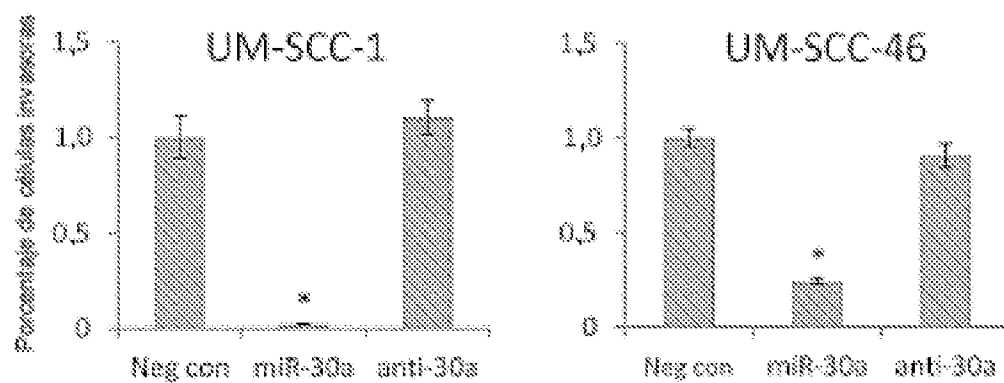


FIG. 9A

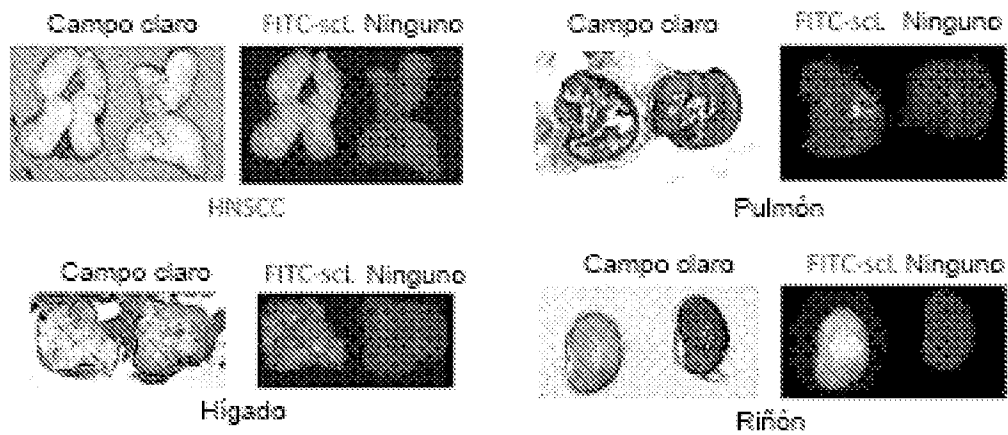
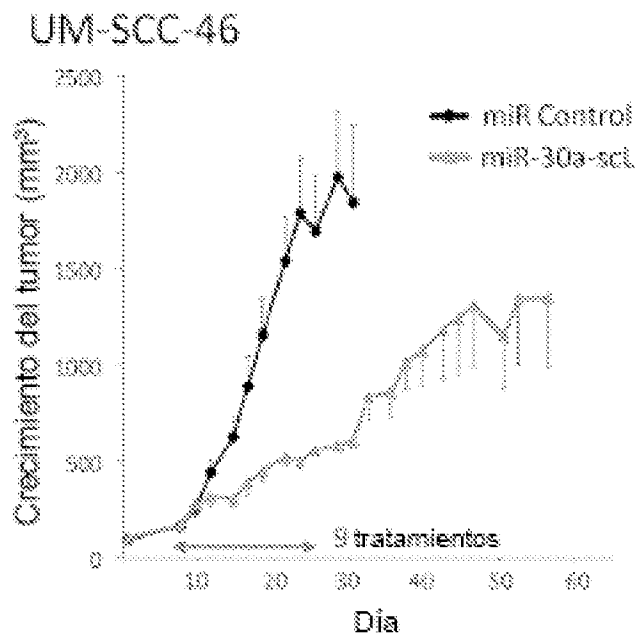


FIG. 9B



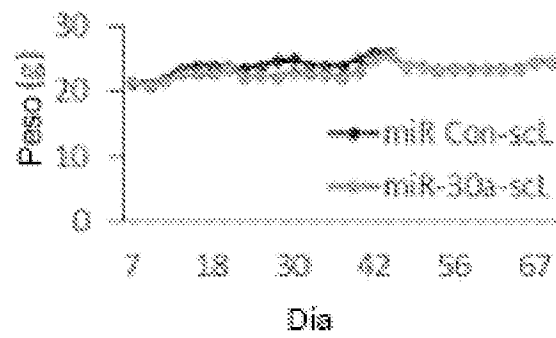
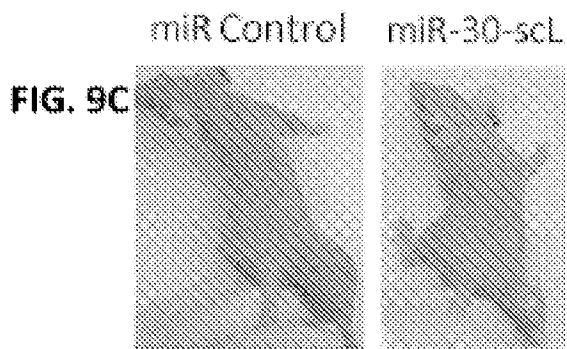


FIG. 9E

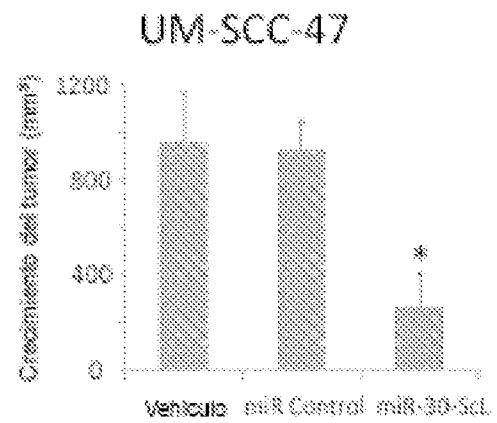
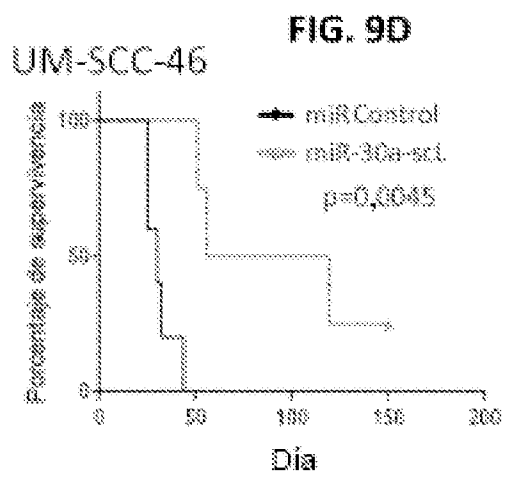


FIG. 10A

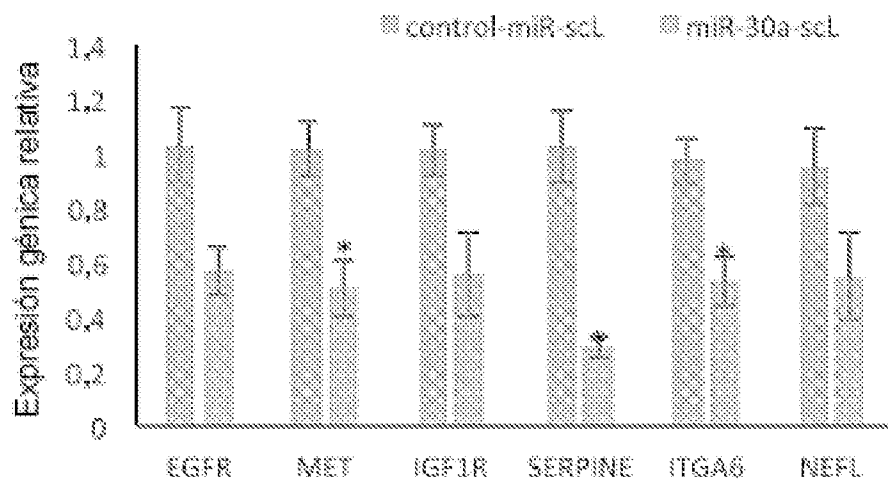


FIG. 10B

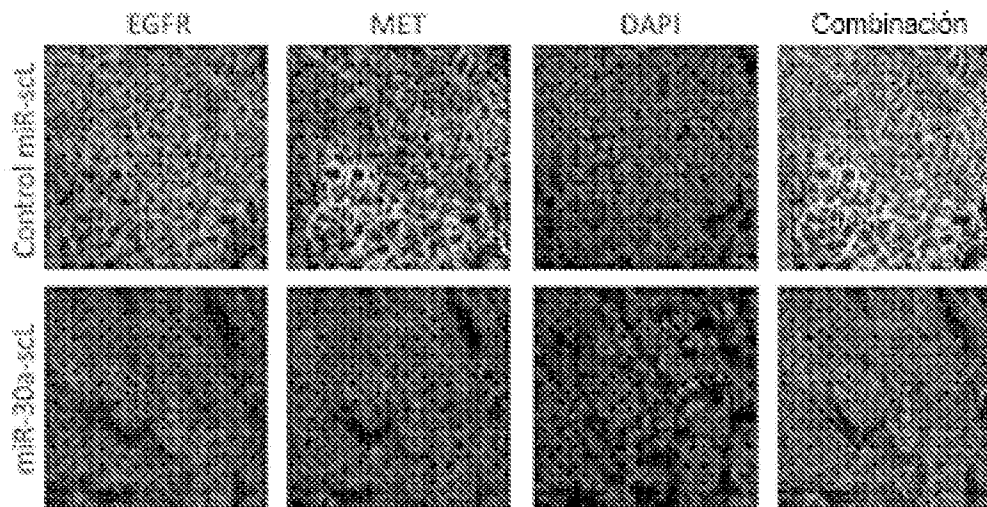


FIG. 10C

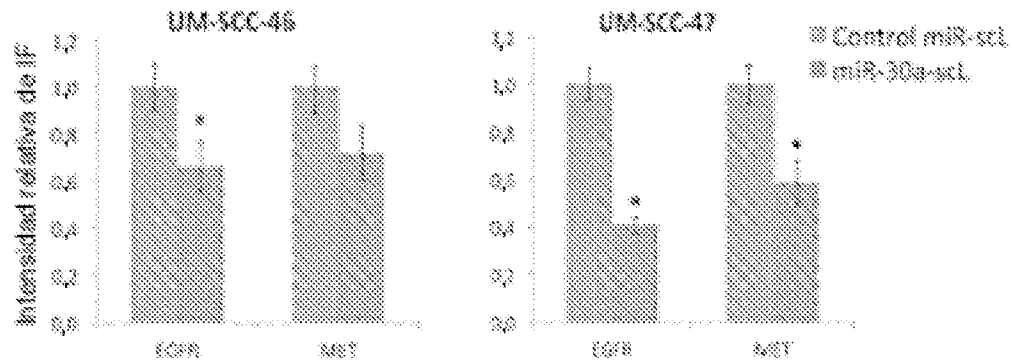


FIG. 10D

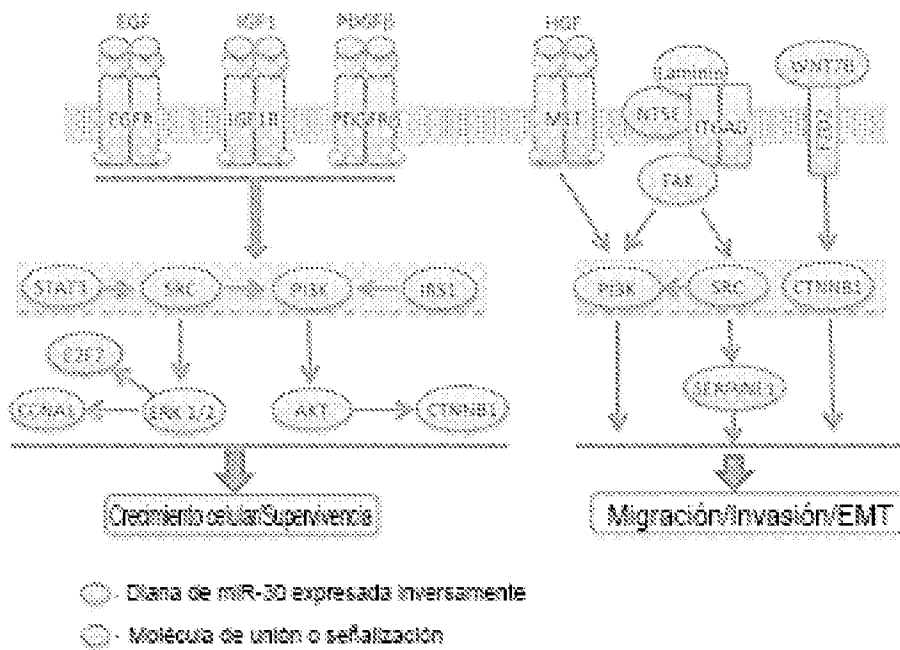
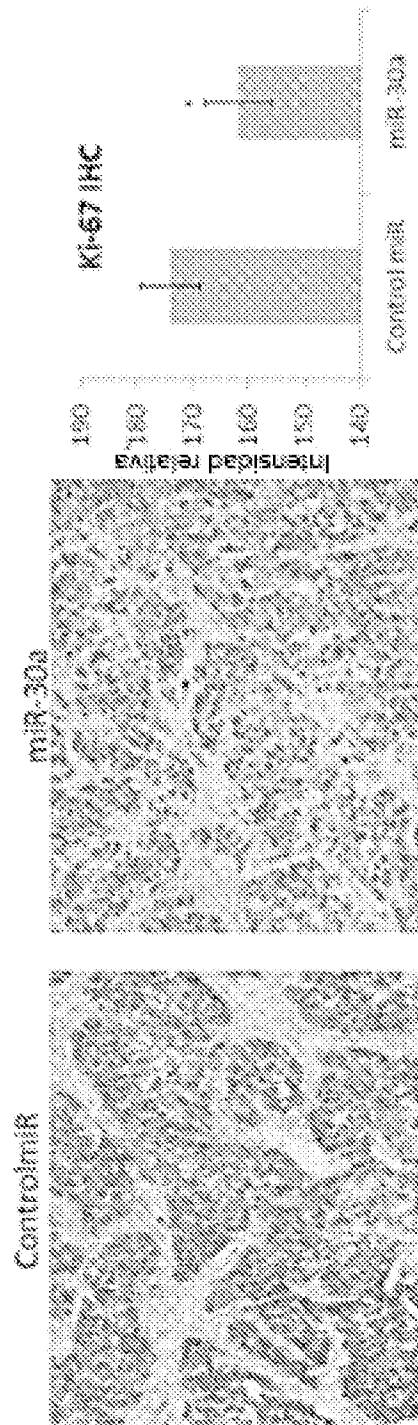


FIG. 10E



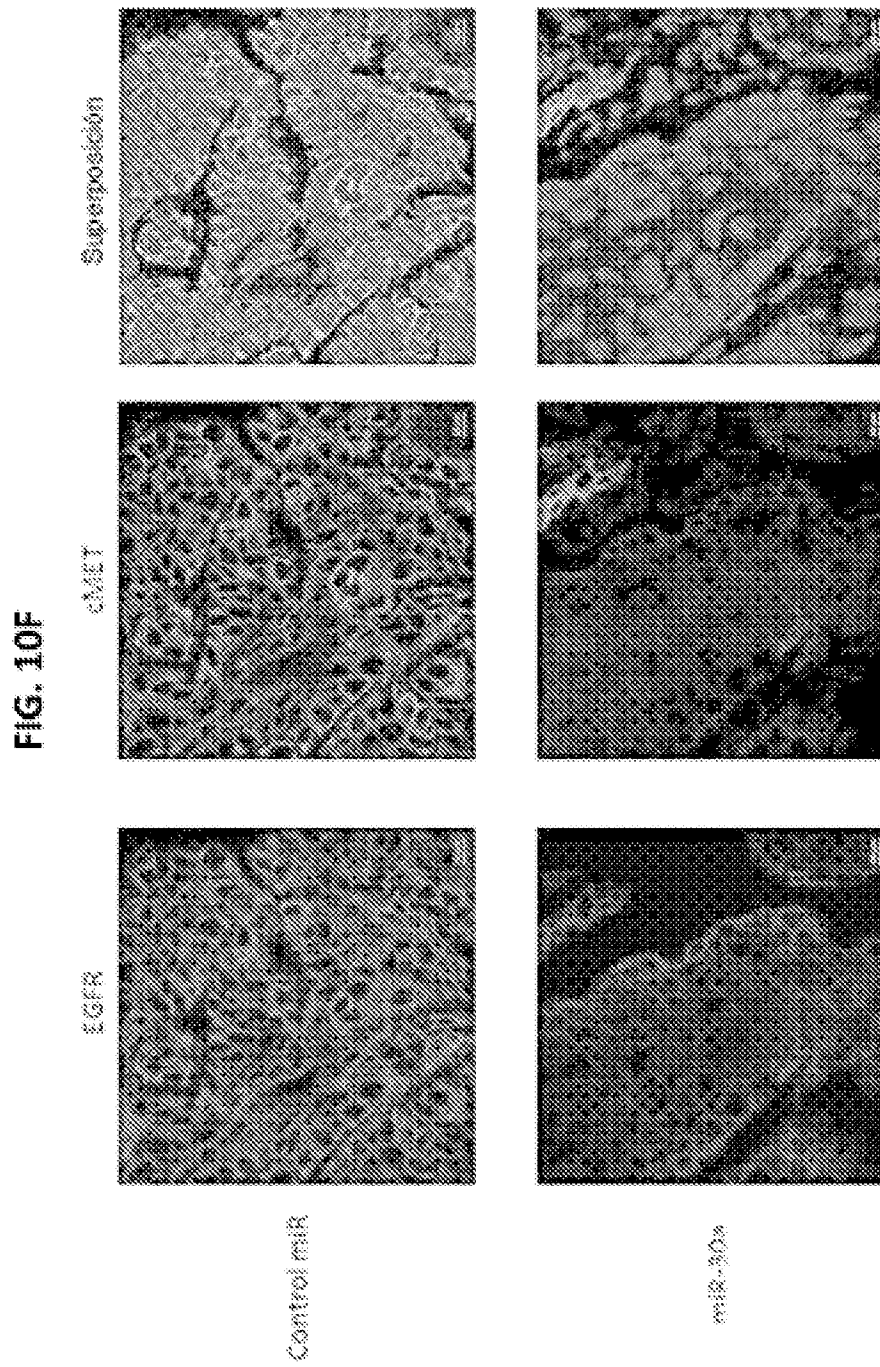


FIG. 11A

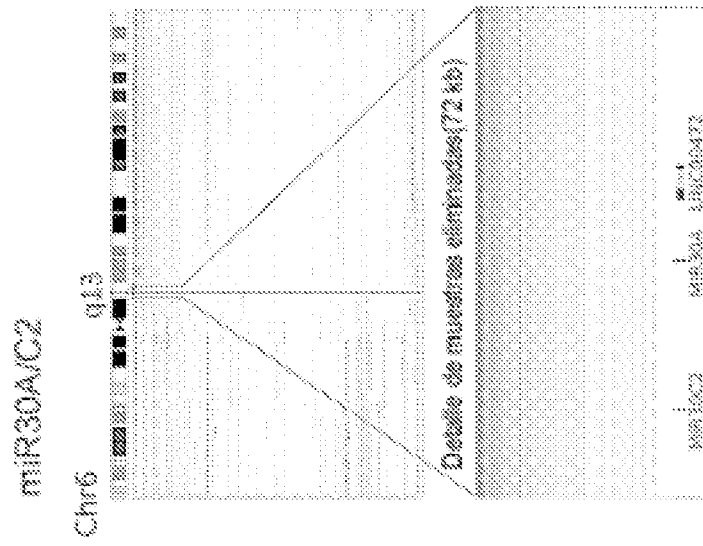


FIG. 11B

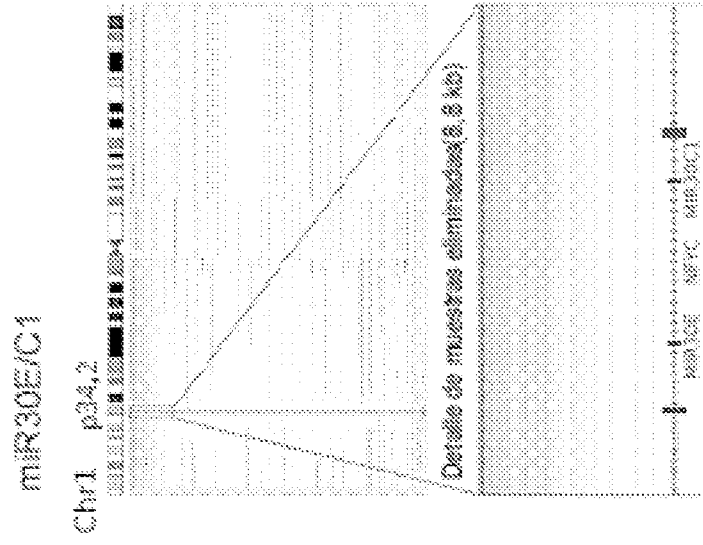


FIG. 11D

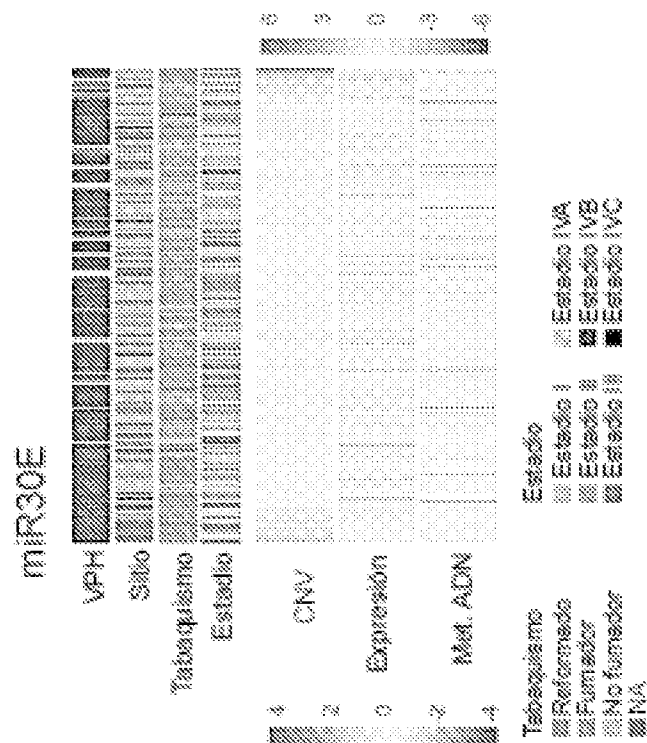


FIG. 11C

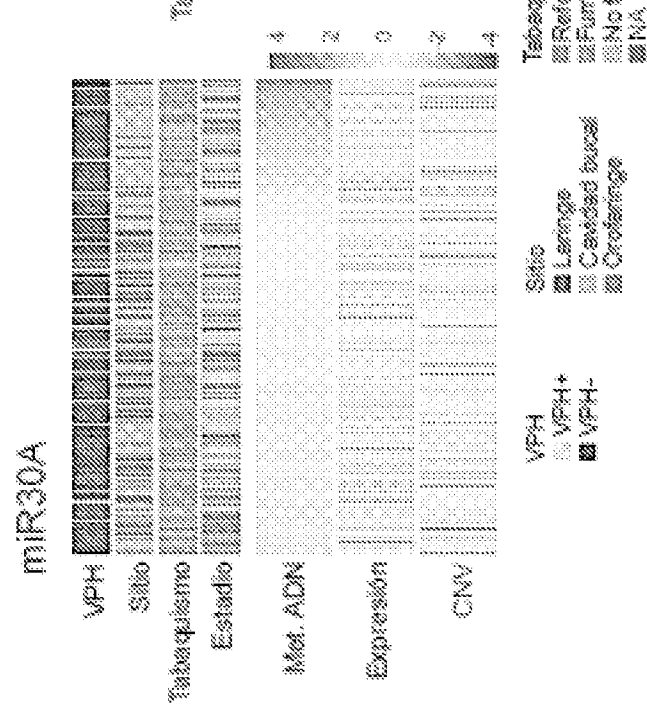


FIG. 11E

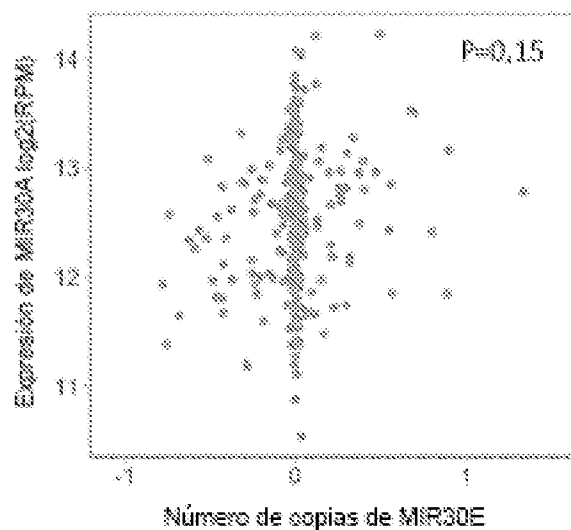


FIG. 11F

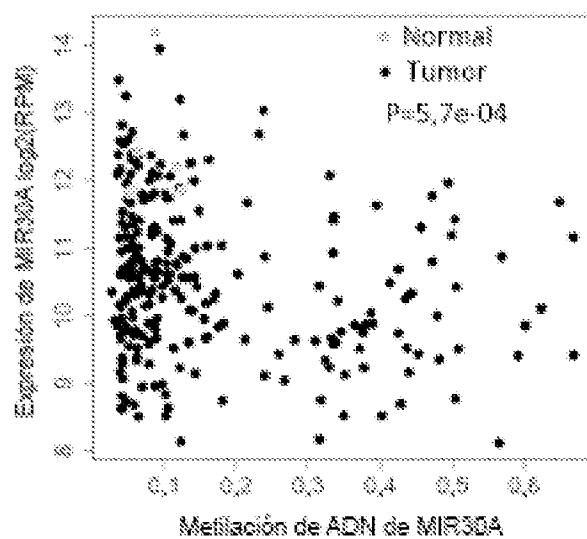


FIG. 11G

Supervivencia específica de
enfermedad de miR-30a-5p

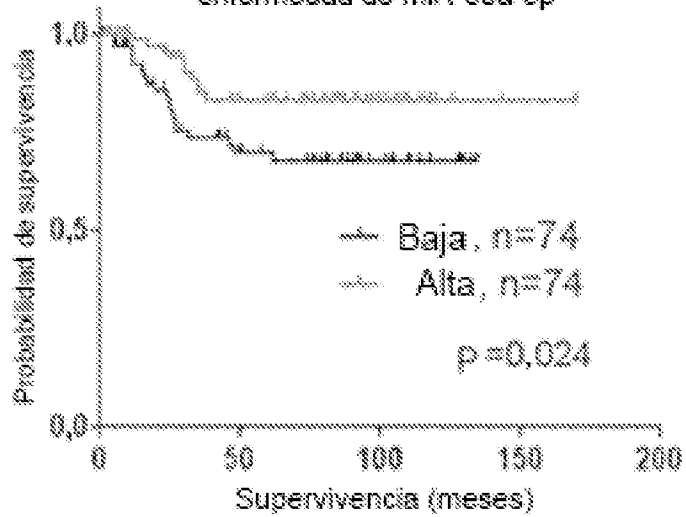


FIG. 11H

Supervivencia específica de
enfermedad de miR-30e-5p

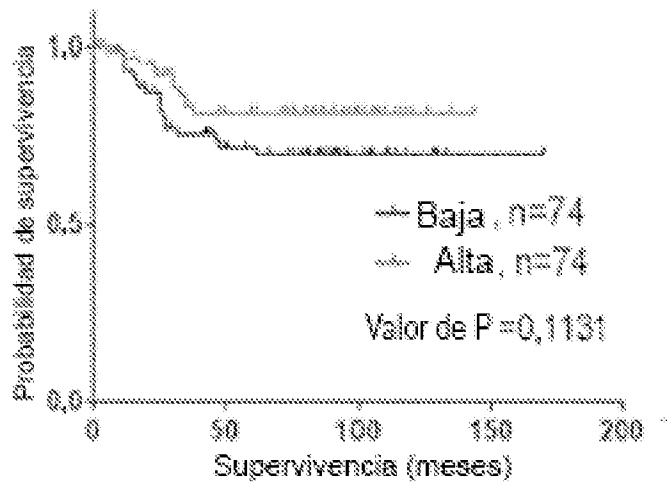
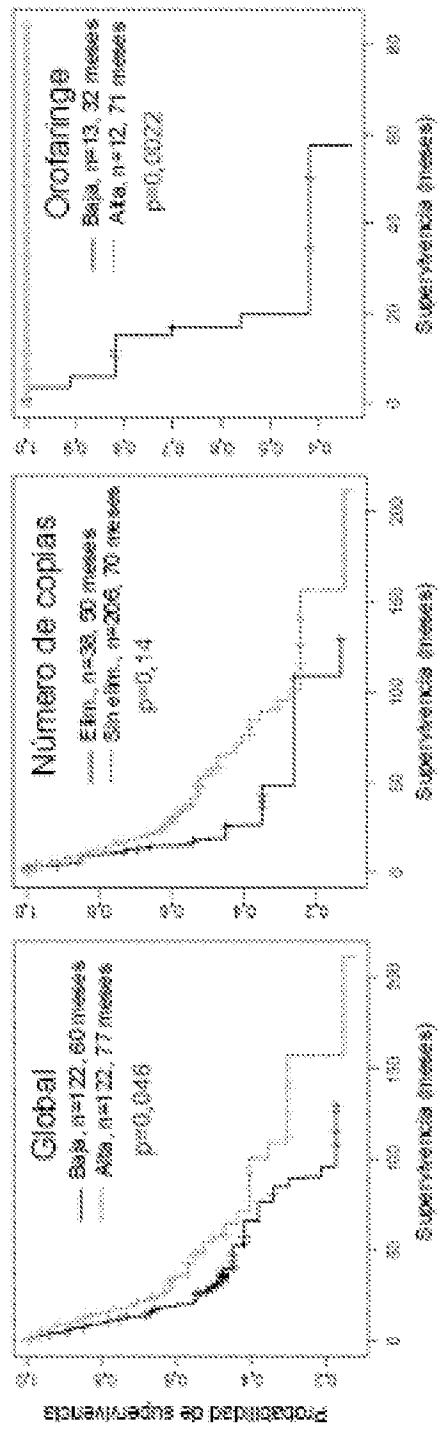


FIG. 12A



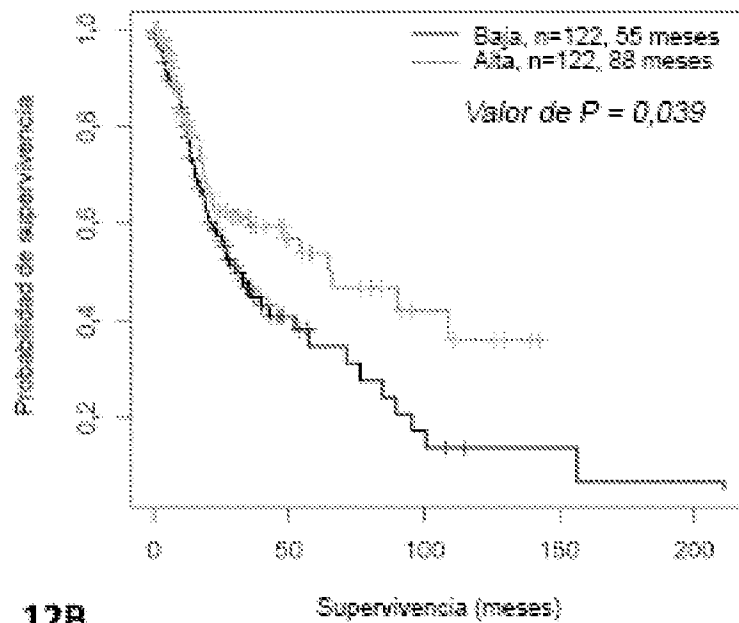


FIG. 12B

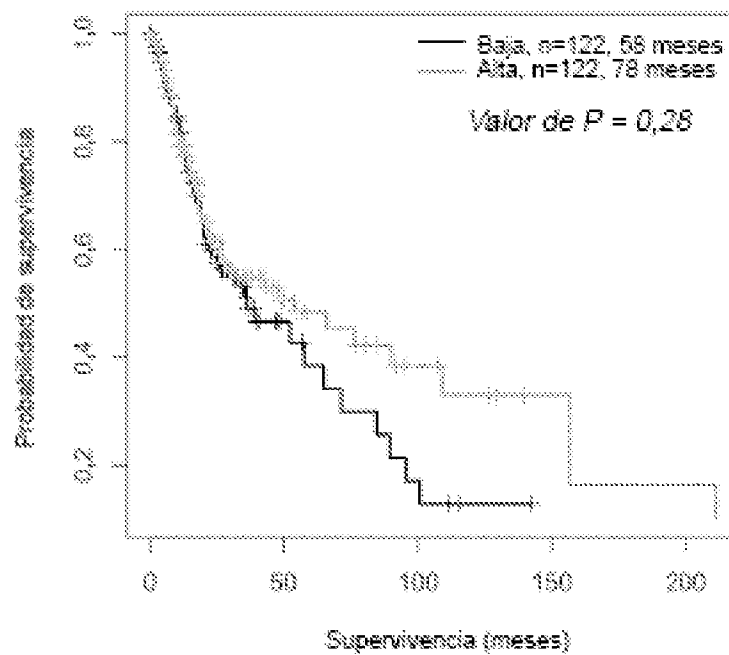


FIG. 13

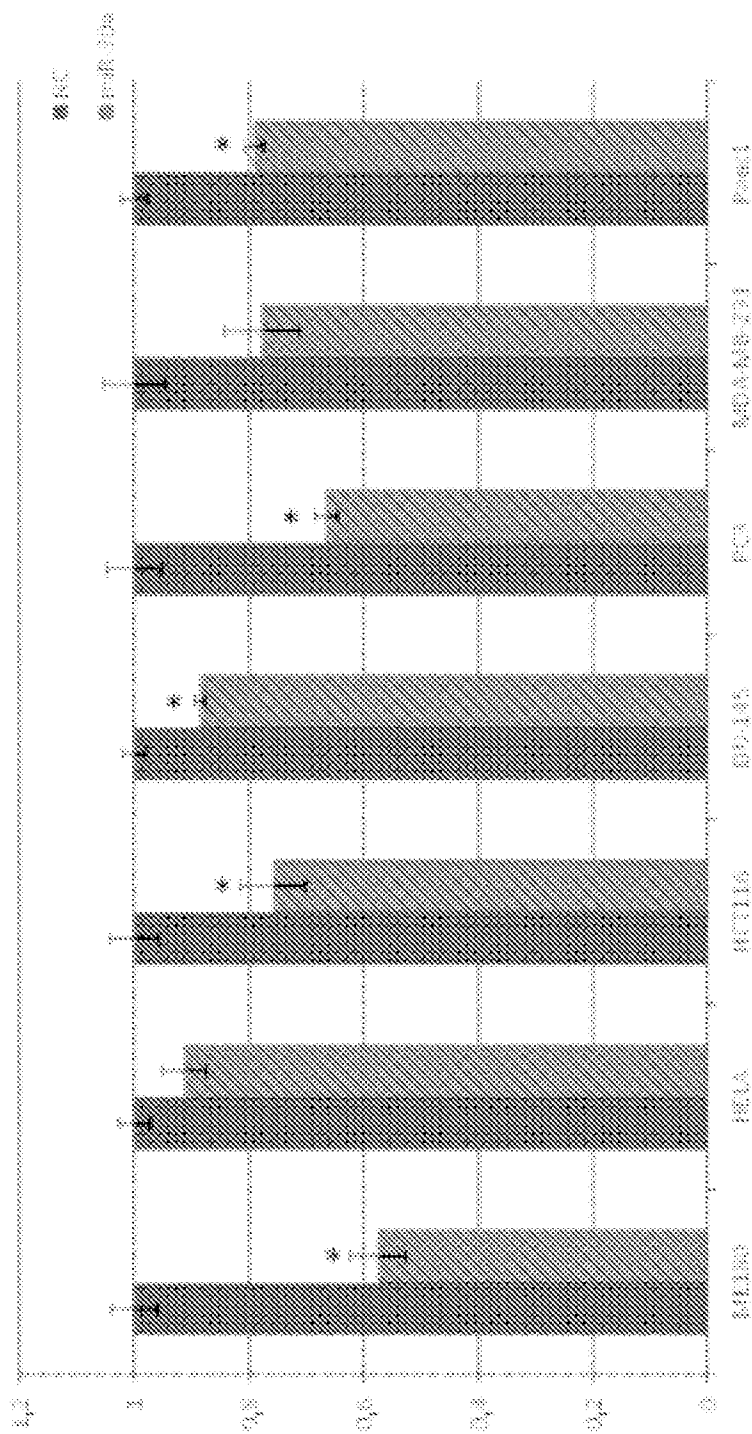


FIG. 14A

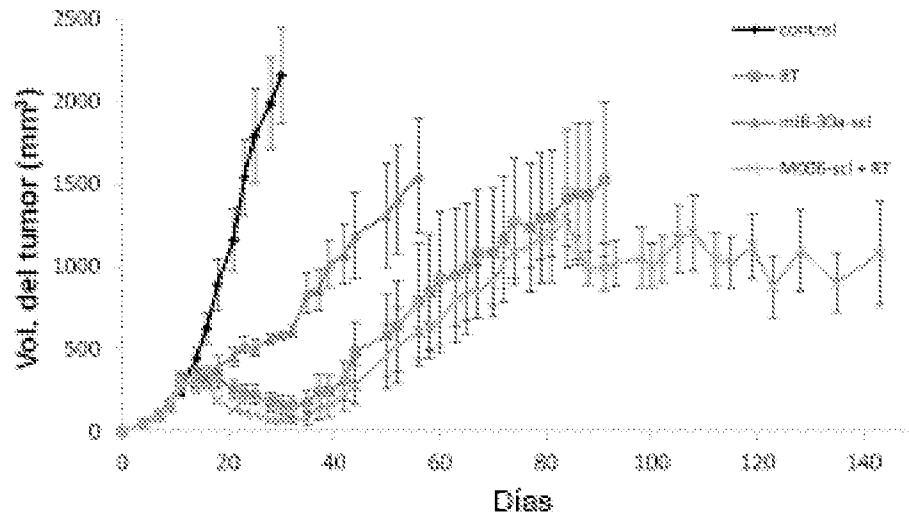
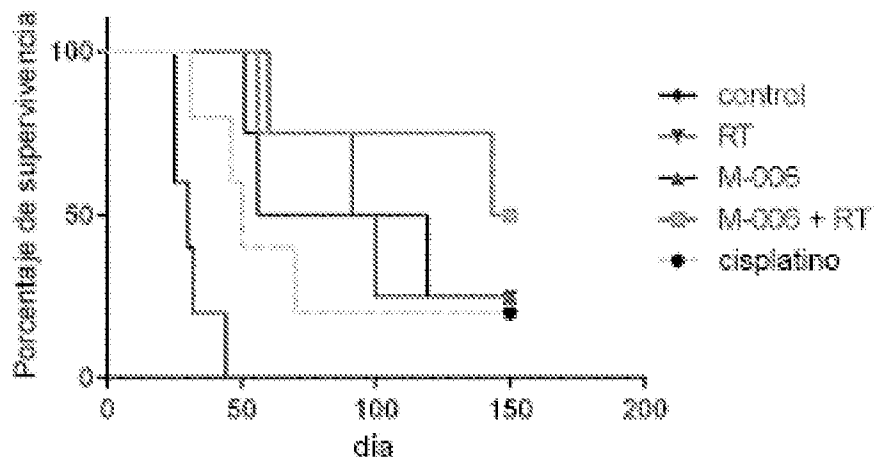


FIG. 14B



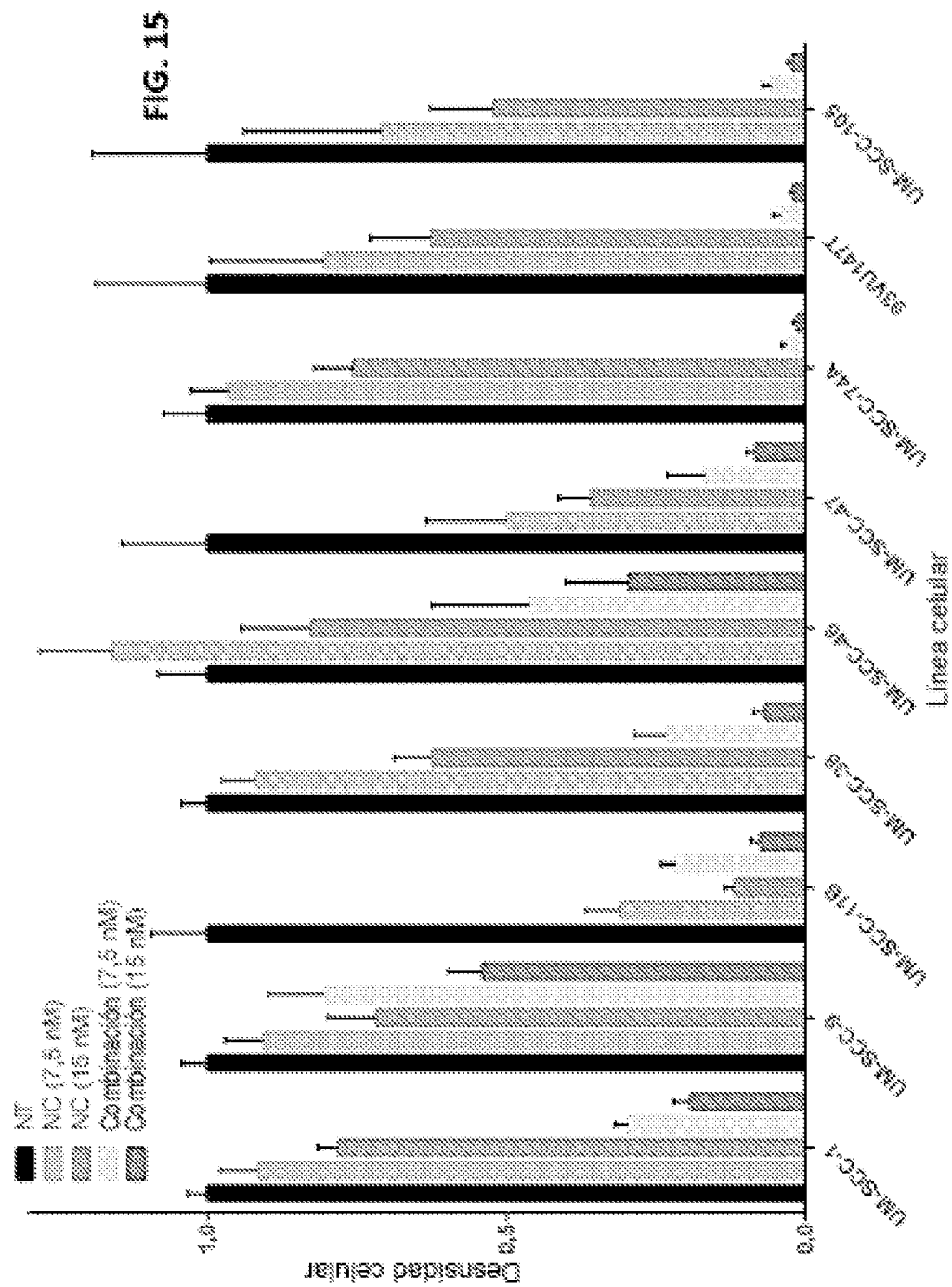


FIG. 16A

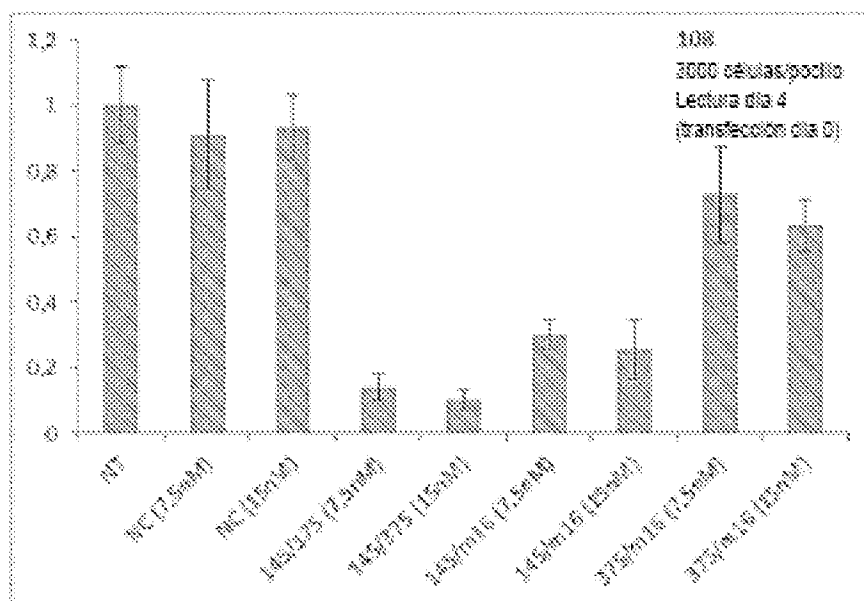
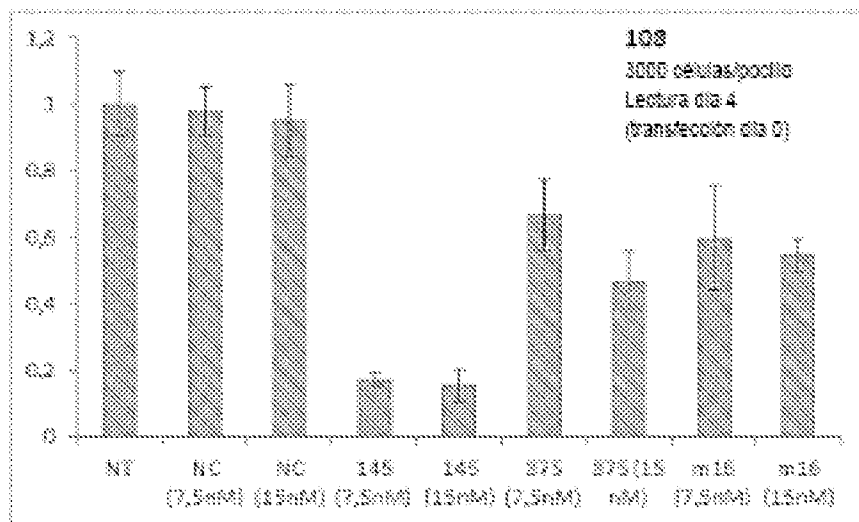


FIG. 16B

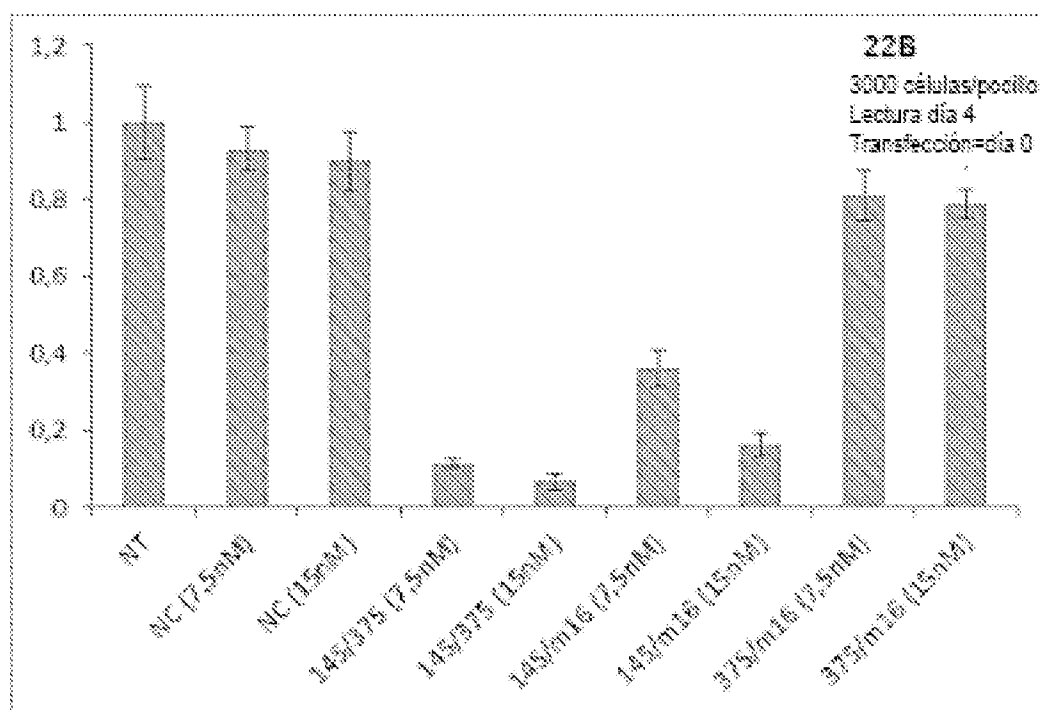
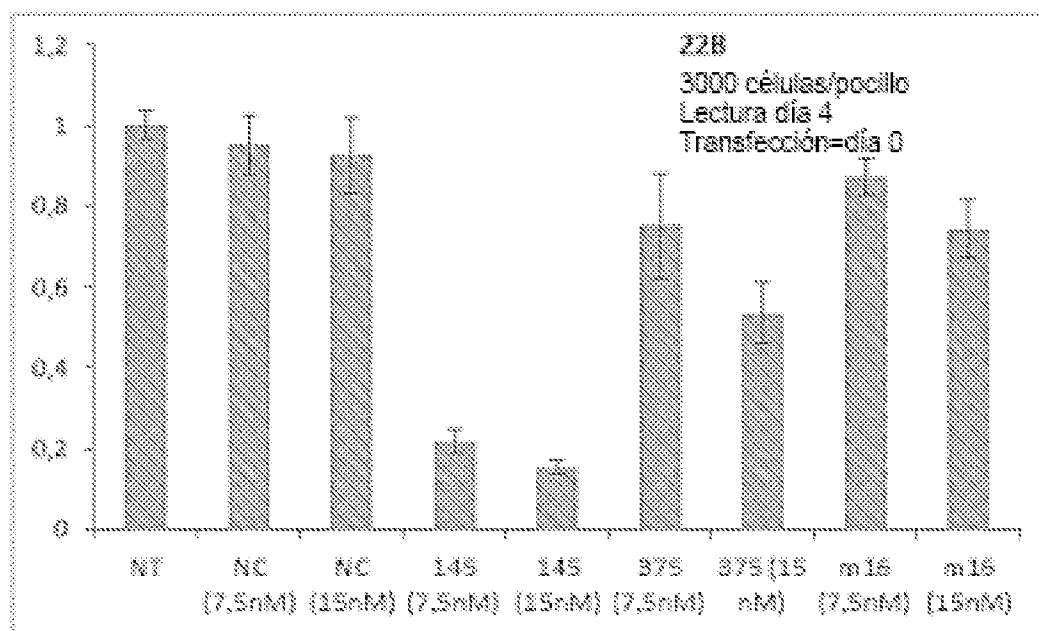


FIG. 16C

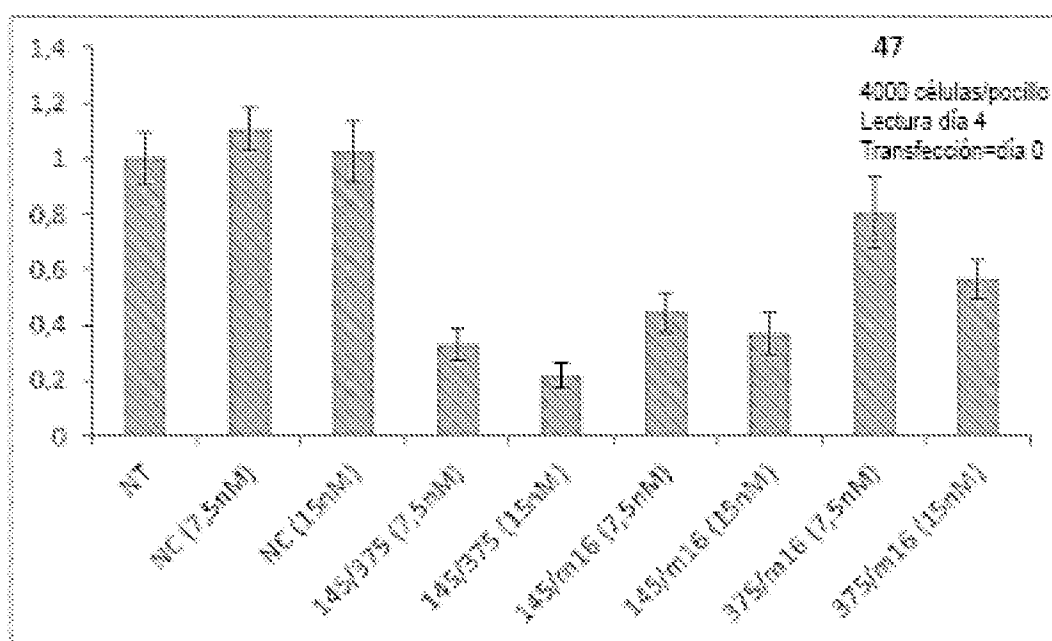
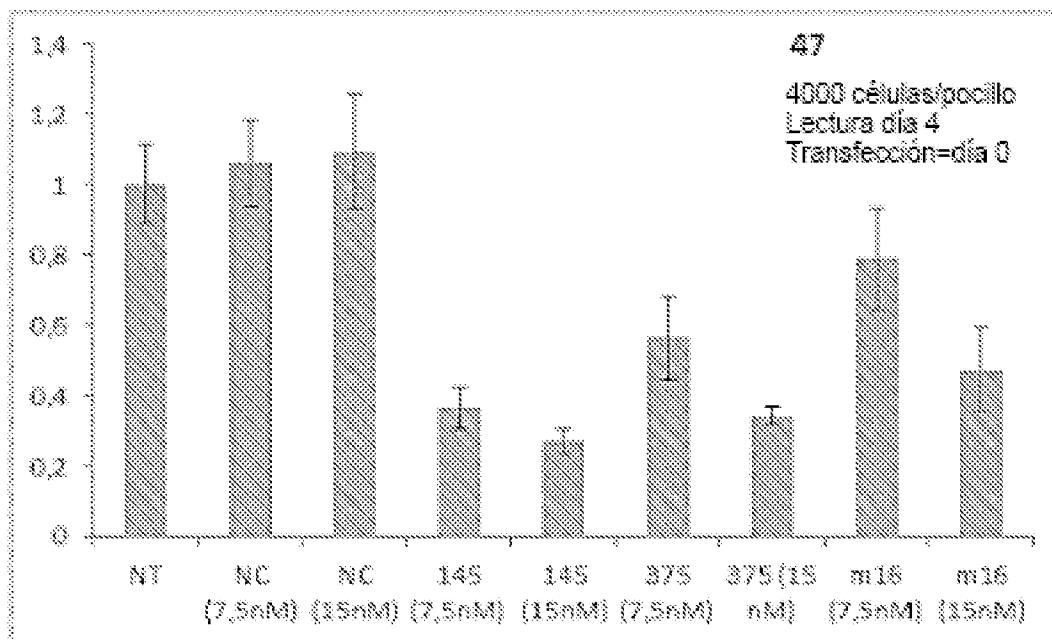


FIG. 16D

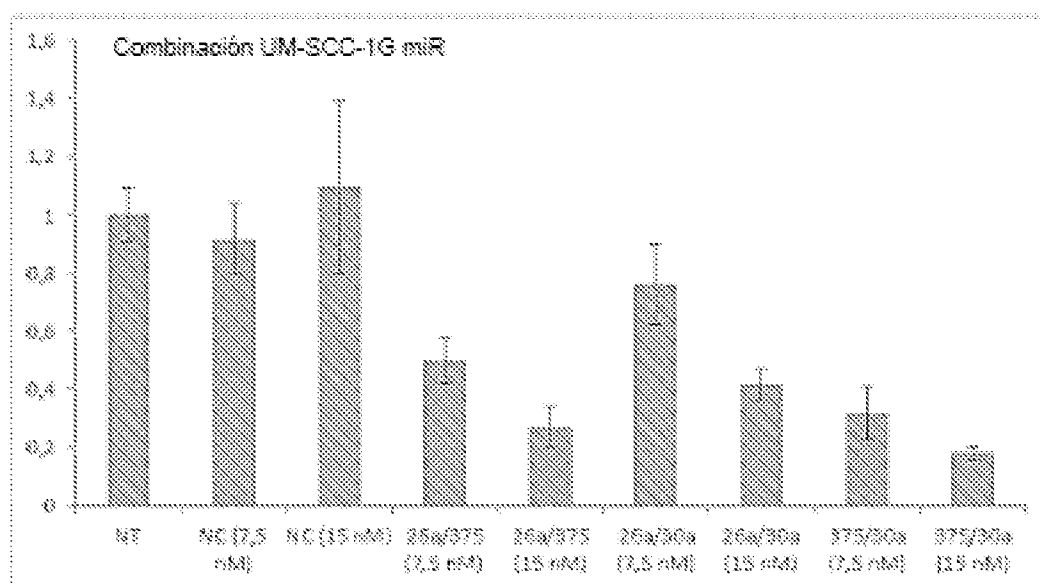
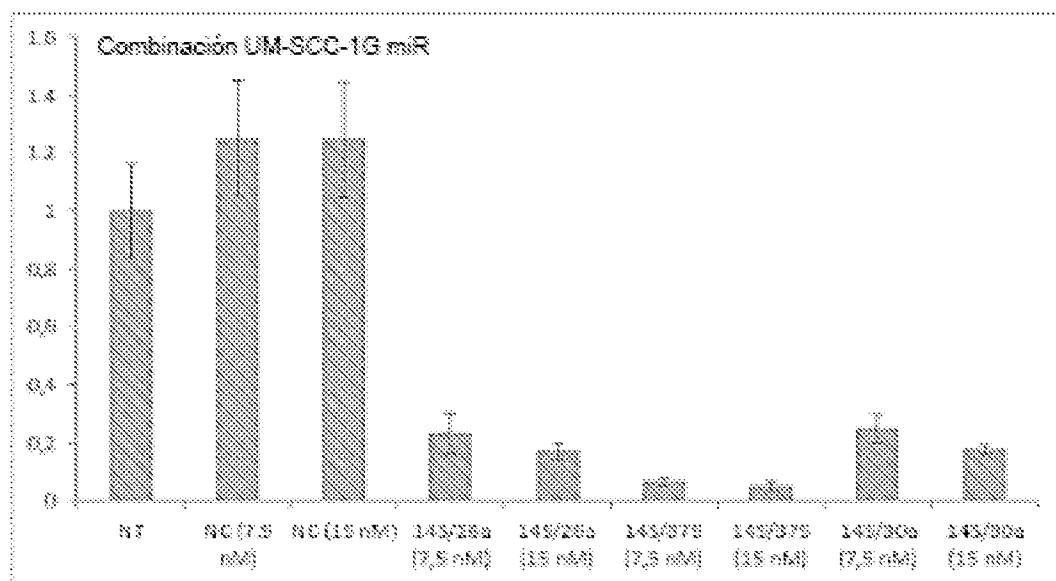


FIG. 17A

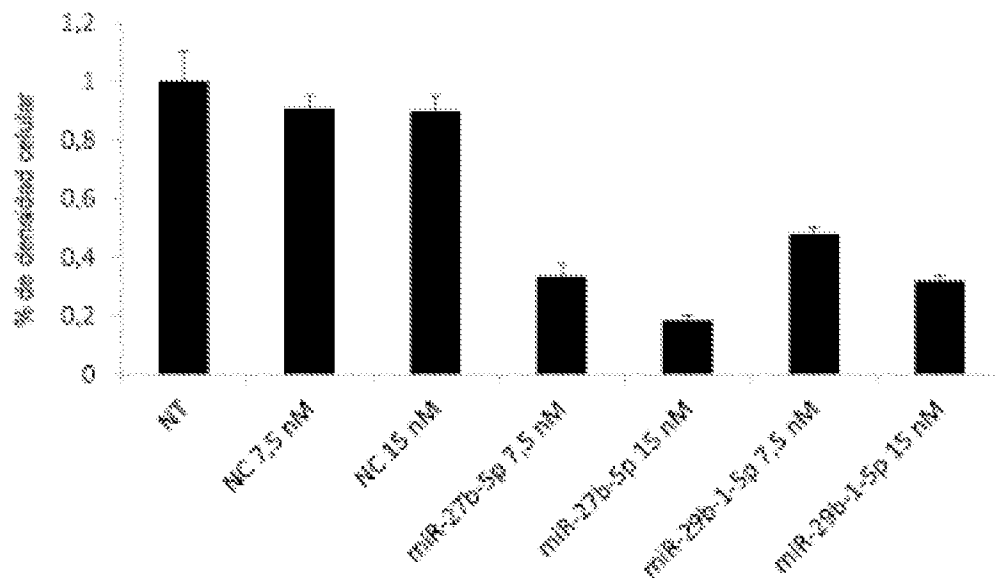


FIG. 17B

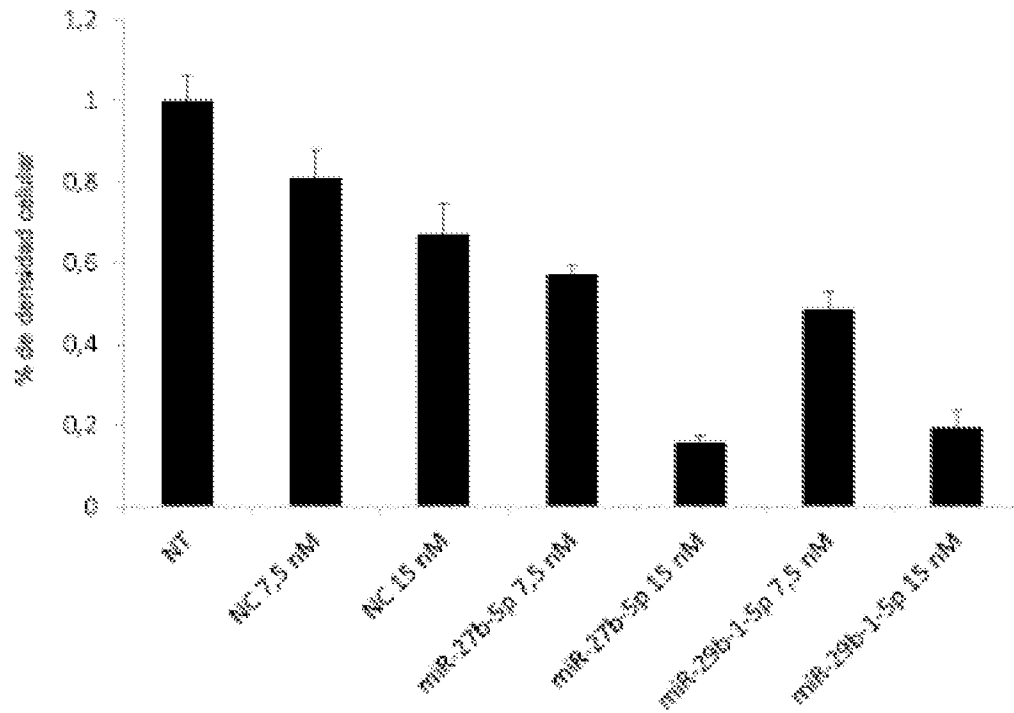


FIG. 18

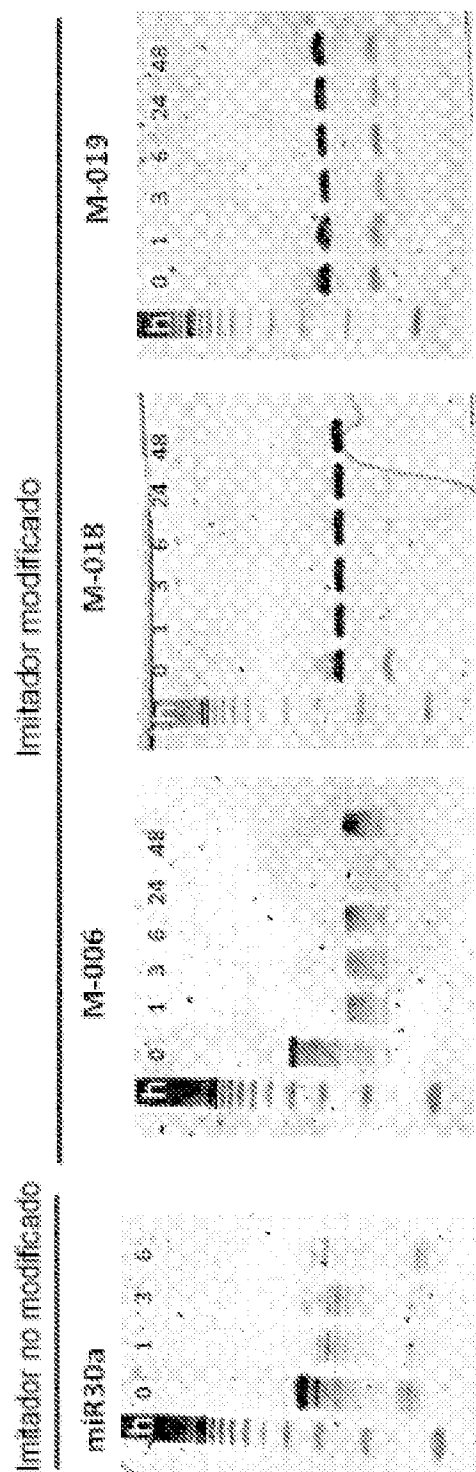


FIG. 19

