



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103642900 B

(45) 授权公告日 2016. 04. 13

(21) 申请号 201310493368. 1

(22) 申请日 2007. 01. 03

(30) 优先权数据

60/756, 585 2006. 01. 05 US

(62) 分案原申请数据

200780005821. 2 2007. 01. 03

(73) 专利权人 俄亥俄州立大学研究基金会

地址 美国俄亥俄

(72) 发明人 C·M·克罗斯 G·A·卡林

S·沃林尼亚

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 李程达

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68(2006. 01)

审查员 张全红

权利要求书1页 说明书72页

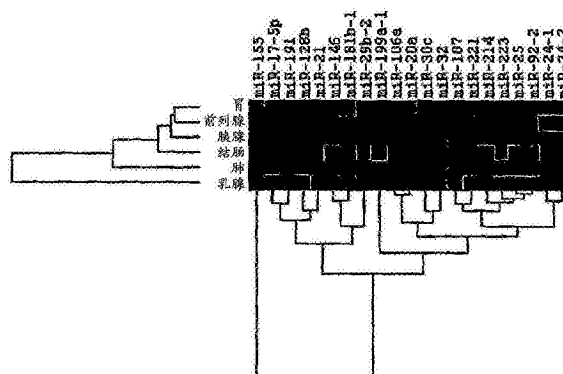
序列表68页 附图8页

(54) 发明名称

用于诊断和治疗实体癌的基于微小 RNA 的方法和组合物

(57) 摘要

本发明提供了用于诊断和治疗实体癌的新的方法和组合物。本发明也提供了鉴定肿瘤发生抑制剂的的方法。



1. 测量 miR 基因产物的水平的试剂在制备用于诊断受试者是否患有结肠癌或处于发生结肠癌的风险的试剂中的用途,所述诊断包括:

a) 将来自受试者的测试样品中的至少 miR-24-1 基因产物的水平与至少一种 miR-24-1 基因产物的对照水平进行比较;和

b) 如果来自受试者的测试样品中的至少 miR-24-1 基因产物的水平高于 miR-24-1 基因产物的对照水平,则诊断该受试者患有结肠癌或处于发生结肠癌的风险。

2. 权利要求 1 的用途,所述诊断进一步包括:将来自受试者的测试样品中的至少一种另外的 miR 基因产物的水平与相应的 miR 基因产物的对照水平进行比较,其中所述至少一种另外的 miR 基因产物选自 miR-29b-2;miR-20a;miR-10a;miR-32;miR-203;miR-106a;miR-17-5p;miR-30c;miR-223;miR-126*;miR-128b;miR-21;miR-24-2;miR-99b prec;miR-155;miR-213;miR-150;miR-107;miR-191;和 miR-221。

3. 包含 miR- 特异性探针寡核苷酸的微阵列在制备用于诊断受试者是否患有结肠癌或处于发生结肠癌的风险中的诊断剂中的用途,其中所述诊断包括:

a) 从获自受试者的测试样品逆转录至少 miR-24-1 基因产物,以提供至少一种相应的 miR 基因产物靶寡脱氧核苷酸;

b) 使至少 miR-24-1 靶寡脱氧核苷酸与包含 miR- 特异性探针寡核苷酸的微阵列杂交,以提供测试样品的杂交谱,所述 miR- 特异性探针寡核苷酸包括至少一种相应的 miR-24-1 特异性探针寡核苷酸;

c) 对比测试样品杂交谱与至少一种对照杂交谱;和

d) 如果来自测试样品的杂交谱中的至少一种 miR 基因产物的水平高于 miR-24-1 基因产物的对照水平,则诊断该受试者患有结肠癌或处于发生结肠癌的风险。

4. 权利要求 3 的用途,所述诊断包括:将来自受试者的测试样品中的至少一种另外的 miR 基因产物的杂交谱与对应的 miR 基因产物的对照杂交谱进行比较,其中所述至少一种另外的 miR 基因产物选自 miR-29b-2;miR-20a;miR-10a;miR-32;miR-203;miR-106a;miR-17-5p;miR-30c;miR-223;miR-126*;miR-128b;miR-21;miR-24-2;miR-99b prec;miR-155;miR-213;miR-150;miR-107;miR-191;和 miR-221。

用于诊断和治疗实体癌的基于微小 RNA 的方法和组合物

[0001] 本申请是申请号为 200780005821.2、申请日为 2007 年 1 月 3 日、发明名称为“用于诊断和治疗实体癌的基于微小 RNA 的方法和组合物”的中国发明专利申请的分案申请。

[0002] 发明人: Carlo M. Croce, George A. Calin 和 Stefano Volinia

[0003] 政府资助

[0004] 本发明全部或部分由来自国立癌症研究所的项目基金 P01CA76259, P01CA81534 和 P30CA56036 资助。政府具有本发明的某些权利。

[0005] 发明背景

[0006] 癌症(恶性细胞的不受控生长)是现代医学纪元的一个主要健康问题,也是发达国家主导死因之一。在美国,四分之一的死亡由癌症造成(Jemal, A. 等人, CA Cancer J. Clin. 52:23-47(2002))。在癌症中,称作实体癌的源自器官和实体组织的癌症(例如结肠癌,肺癌,乳腺癌,胃癌,前列腺癌,胰腺癌)属于最常鉴定的人癌症。

[0007] 例如,前列腺癌是工业化国家男性中最常诊断出的非皮肤恶性肿瘤,在美国,八名男性中有一名会在他的生命中发生前列腺癌(Simard, J. 等人, Endocrinology 143(6):2029-40(2002))。在最近的数十年中,前列腺癌的发病率已经急剧增加,前列腺癌现在是美国和西欧的主导死因(Peschel, R. E. 和 J. W. Colberg, Lancet 4:233-41(2003); Nelson, W. G. 等人, N. Engl. J. Med. 349(4):366-81(2003))。具有前列腺癌的男性的寿命预期平均减少了 40%。如果在转移和局部扩散超过包膜之前早期检测到,前列腺癌经常可以治愈(例如使用手术)。但是,如果在从前列腺扩散和转移后诊断出来,前列腺癌通常是具有低治愈率的致命疾病。尽管基于前列腺特异性抗原(PSA)的筛选已经辅助前列腺癌的早期诊断,它既不是高灵敏度的,也不是特异性的(Punglia 等人, N. Engl. J. Med. 349(4):335-42(2003))。这意味着,该测试伴随着高百分比的假阴性和假阳性诊断。结果是许多情况下癌症被漏诊和对没有癌症的那些人的不必要的随访活检。

[0008] 乳腺癌仍然是妇女中癌症相关性死亡的第二大病因,在美国其每年影响着超过 180,000 名妇女。对于北美的妇女,一生中患乳腺癌的概率现在为八分之一。尽管 BRCA1 和 BRCA2 的发现在鉴定参与乳腺癌的关键遗传因素中是非常重要的步骤,但已逐渐清楚 BRCA1 和 BRCA2 的突变只解释部分对乳腺癌的遗传易感性(Nathanson, K. L., 等人, Human Mol. Gen. 10(7):715-720(2001); Anglican Breast Cancer Study Group. Br. J. Cancer 83(10):1301-08(2000); 和 Syrjakoski, K., 等人, J. Natl. Cancer Inst. 92:1529-31(2000))。尽管对乳腺癌的治疗进行了大量研究,但乳腺癌仍然难以有效地诊断和治疗,并且在乳腺癌患者中观察到的高死亡率表明该疾病的诊断、治疗和预防需要改进。

[0009] 除外皮肤癌,结肠直肠癌是在美国和加拿大第三最常诊断出的癌症(在女性中,位于肺癌和乳腺癌之后,在男性中,位于肺癌和前列腺癌之后)。美国癌症学会估计,在 2005 年美国将有约 145,000 例新诊断出的结肠直肠癌病例(Cancer Facts and Figures 2005. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2005. 可从 www.cancer.org/docroot/STT/stt_0.asp 获得, 2005 年 12 月 19 日访问)。结肠直肠癌是美国和加拿大男

性和女性癌症死亡的第二大原因（次于肺癌）。

[0010] 2004 年美国胰腺癌的年发病率几乎等同于年死亡率，分别估计为 31,860 和 31,270 (Cancer Facts and Figures 2004. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2004. 可从 www.cancer.org/docroot/STT/stt_0_2004.asp 获得, 2005 年 8 月 21 日访问)。具有局部进展和转移性胰腺癌的患者具有较差的预后，诊断通常对于治疗性手术或放疗而言发生得太迟 (Burr, H. A., 等人, The Oncologist 10(3):183-190, (2005))。化疗可以为有些晚期胰腺癌患者提供症状的缓解，但是迄今为止它对存活率的影响不大。

[0011] 在美国，每年有超过 20,000 人被诊断出胃癌。美国癌症学会估计，在 2004 年美国将有 22,710 例新诊断出的胃癌病例 (Cancer Facts and Figures 2004. Atlanta, GA: American Cancer Society, 2004. 可从 www.cancer.org/docroot/STT/stt_0_2004.asp 获得, 2005 年 8 月 21 日访问)。因为胃癌可以无症状地发生，到诊断作出时其可能已经是晚期。那时治疗旨在使患者更舒服和提高生命质量。

[0012] 在世界范围内，肺癌造成比任何其它形式的癌症更多的死亡 (Goodman, G. E., Thorax 57:994-999 (2002))。在美国，肺癌是男性和女性癌症死亡的主要原因。在 2002 年，肺癌死亡率估计是 134,900 例，超过乳腺癌、前列腺癌和结肠癌的总和。相同出处。肺癌也是所有欧洲国家癌症死亡的主要原因，肺癌 - 相关死亡的数目在发展中国家也快速增加。

[0013] 无论在诊断时的疾病阶段，所有肺癌患者的五年生存率仅是约 13%。这与在该疾病仍然在局部时检测出的病例的 46% 的五年生存率形成对比。但是，在该疾病已经扩散之前，仅 16% 的肺癌被发现。早期检测是困难的，因为在该疾病已经达到晚期之前经常观察不到临床症状。尽管对该癌症和其它癌症的治疗进行了研究，肺癌仍然难以有效地诊断和治疗。

[0014] 显然，负责对特定形式的实体癌（例如前列腺癌，乳腺癌，肺癌，胃癌，结肠癌，胰腺癌）的易感性的标记和基因的鉴定，是今天肿瘤学面临的主要挑战之一。需要鉴定早期检测具有对癌症的遗传易感性的个体的方法，以便可以为癌症的早期检测和治疗制定更有力的筛选和干预方案。癌基因也可以揭示可以被操纵的关键分子途径（例如使用小或大分子量药物），且可以导致更有效的治疗，无论在首次诊断出特定癌症时的癌症阶段。

[0015] 微小 RNA 是通过与信使 RNA (mRNA) 靶杂交并引发对它的翻译抑制或较不常见地引起其降解来控制基因表达的一类小的非编码 RNA。miRNA 的发现和研究表明，特定 miRNA 的异常表达可参与人的疾病，例如神经障碍 (Ishizuka, A., 等人, Genes Dev. 16:2497-2508 (2002)) 和癌症。具体地，已在人慢性淋巴细胞性白血病中发现 miR-16-1 和 / 或 miR-15a 的不当表达 (Calin, G. A., 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99:15524-15529 (2002))。

[0016] 显然，本领域非常需要改进的检测和治疗实体癌（例如前列腺癌，乳腺癌，肺癌，胃癌，结肠癌，胰腺癌）的方法。本发明提供了用于诊断和治疗实体癌的新的方法和组合。

[0017] 发明概述

[0018] 本发明部分地基于在特定实体癌中具有改变的表达水平的特定 miRNA 的鉴定。

[0019] 因此，本发明包括诊断受试者是否患有实体癌或处于发生实体癌的风险中的方

法。根据本发明的方法,将受试者的测试样品中至少一种 miR 基因产物的水平与对照样品中的相应的 miR 基因产物的水平相比较。与对照样品中相应的 miR 基因产物的水平相比,测试样品中所述 miR 基因产物的水平的改变(例如增加,降低),指示着受试者患有实体癌或处于发生实体癌的风险中。所述实体癌可以是源自器官和实体组织的任意癌症。在某些实施方案中,所述实体癌是胃癌,乳腺癌,胰腺癌,结肠癌,肺癌或前列腺癌。在具体实施方案中,所述实体癌不是乳腺癌,肺癌,前列腺癌,胰腺癌或胃肠癌。

[0020] 在一个实施方案中,在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物选自:miR-21, miR-191, miR-17-5p 和其组合。在另一个实施方案中,在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物选自:miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a 和其组合。

[0021] 在一个实施方案中,所述实体癌是乳腺癌或肺癌,且在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物选自:miR-210, miR-213 和其组合。

[0022] 在另一个实施方案中,所述实体癌是结肠癌,胃癌,前列腺癌或胰腺癌,且在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物是 miR-218-2。

[0023] 在一个特定实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物选自:miR-125b-1, miR-125b-2, miR-145, miR-21 和其组合。在一个相关实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且测试样品中的至少一种 miR 基因产物选自:miR-21, miR-29b-2, miR-146, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-10b, miR-145, miR-181a, miR-140, miR-213, miR-29a prec, miR-181b-1, miR-199b, miR-29b-1, miR-130a, miR-155, let-7a-2, miR-205, miR-29c, miR-224, miR-100, miR-31, miR-30c, miR-17-5p, miR-210, miR-122a, miR-16-2 和其组合。

[0024] 在另一个实施方案中,所述实体癌是结肠癌,且测试样品中的至少一种 miR 基因产物选自:miR-24-1, miR-29b-2, miR-20a, miR-10a, miR-32, miR-203, miR-106a, miR-17-5p, miR-30c, miR-223, miR-126*, miR-128b, miR-21, miR-24-2, miR-99b prec, miR-155, miR-213, miR-150, miR-107, miR-191, miR-221, miR-9-3 和其组合。

[0025] 在另一个实施方案中,所述实体癌是肺癌,且测试样品中的 miR 基因产物选自:miR-21, miR-205, miR-200b, miR-9-1, miR-210, miR-148, miR-141, miR-132, miR-215, miR-128b, let-7g, miR-16-2, miR-129-1/2prec, miR-126*, miR-142-as, miR-30d, miR-30a-5p, miR-7-2, miR-199a-1, miR-127, miR-34a prec, miR-34a, miR-136, miR-202, miR-196-2, miR-199a-2, let-7a-2, miR-124a-1, miR-149, miR-17-5p, miR-196-1prec, miR-10a, miR-99b prec, miR-196-1, miR-199b, miR-191, miR-195, miR-155 和其组合。

[0026] 在另一个实施方案中,所述实体癌是胰腺癌,且在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物选自:miR-103-1, miR-103-2, miR-155, miR-204 和其组合。在一个相关实施方案中,所述实体癌是胰腺癌,且测试样品中的 miR 基因产物选自:miR-103-2, miR-103-1, miR-24-2, miR-107, miR-100, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-24-1, miR-191, miR-23a, miR-26a-1, miR-125a, miR-130a, miR-26b, miR-145, miR-221, miR-126*, miR-16-2, miR-146, miR-214, miR-99b, miR-128b, miR-155, miR-29b-2, miR-29a, miR-25, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-92-2, miR-199a-1, miR-223, miR-29c, miR-30b,

miR-129-1/2, miR-197, miR-17-5p, miR-30c, miR-7-1, miR-93-1, miR-140, miR-30a-5p, miR-132, miR-181b-1, miR-152prec, miR-23b, miR-20a, miR-222, miR-27a, miR-92-1, miR-21, miR-129-1/2prec, miR-150, miR-32, miR-106a, miR-29b-1 和其组合。

[0027] 在另一个实施方案中,所述实体癌是前列腺癌,且测试样品中的 miR 基因产物选自:let-7d, miR-128a prec, miR-195, miR-203, let-7a-2prec, miR-34a, miR-20a, miR-218-2, miR-29a, miR-25, miR-95, miR-197, miR-135-2, miR-187, miR-196-1, miR-148, miR-191, miR-21, let-7i, miR-198, miR-199a-2, miR-30c, miR-17-5p, miR-92-2, miR-146, miR-181b-1prec, miR-32, miR-206, miR-184prec, miR-29a prec, miR-29b-2, miR-149, miR-181b-1, miR-196-1prec, miR-93-1, miR-223, miR-16-1, miR-101-1, miR-124a-1, miR-26a-1, miR-214, miR-27a, miR-24-1, miR-106a, miR-199a-1 和其组合。

[0028] 在另一个实施方案中,所述实体癌是胃癌,且测试样品中的 miR 基因产物选自:miR-223, miR-21, miR-218-2, miR-103-2, miR-92-2, miR-25, miR-136, miR-191, miR-221, miR-125b-2, miR-103-1, miR-214, miR-222, miR-212prec, miR-125b-1, miR-100, miR-107, miR-92-1, miR-96, miR-192, miR-23a, miR-215, miR-7-2, miR-138-2, miR-24-1, miR-99b, miR-33b, miR-24-2 和其组合。

[0029] 使用本领域技术人员众所周知的众多技术(例如,定量或半定量 RT-PCR, RNA 印迹分析,溶液杂交检测),可以测量至少一种 miR 基因产物的水平。在一个具体的实施方案中,如下测量至少一种 miR 基因产物的水平:从获自受试者的测试样品逆转录 RNA,以提供一组靶寡脱氧核苷酸,使所述靶寡脱氧核苷酸与一种或多种 miRNA- 特异性探针寡核苷酸杂交(例如,与包含几种 miRNA- 特异性探针寡核苷酸的微阵列杂交),以提供测试样品的杂交谱,并对比测试样品杂交谱与从对照样品产生的杂交谱。测试样品中至少一种 miRNA 的信号相对于对照样品的变化指示着受试者患有实体癌或处于发生实体癌的风险中。在一个特定实施方案中,使靶寡核苷酸与包含针对选自下述的一种或多种 miRNA 的 miRNA- 特异性探针寡核苷酸的微阵列杂交:miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a 和其组合。

[0030] 本发明也包括抑制患有或被怀疑患有实体癌(例如前列腺癌,胃癌,胰腺癌,肺癌,乳腺癌,结肠癌)的受试者的肿瘤发生的方法,其中受试者癌细胞中的至少一种 miR 基因产物失调(例如,减量调节,增量调节)。当至少一种分离的 miR 基因产物在癌细胞中减量调节时,该方法包括,施用有效量的分离的 miR 基因产物、分离的变体或 miR 基因产物或变体的生物活性片段,从而抑制受试者中癌细胞的增殖。在另一个实施方案中,所述至少一种分离的 miR 基因产物选自:miR-145, miR-155, miR-218-2 和其组合。在一个特定的实施方案中,所述 miR 基因产物不是 miR-15a 或 miR-16-1。当至少一种分离的 miR 基因产物在癌细胞中增量调节时,该方法包括,给受试者施用有效量的至少一种用于抑制所述至少一种 miR 基因产物的表达的化合物(在本文中称作“抑制 miR 表达的化合物”),从而抑制受试者中癌细胞的增殖。在一个特定的实施方案中,所述至少一种抑制 miR 表达的化合物对选自下述的 miR 基因产物是特异性的:miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a 和其组合。

[0031] 在一个相关实施方案中,抑制受试者中肿瘤发生的方法另外包括下述步骤:测定受试者癌细胞中至少一种 miR 基因产物的量,并将细胞中 miR 基因产物的水平与对照细胞中相应的 miR 基因产物的水平相对比。如果癌细胞中 miR 基因产物的表达失调(例如,减量调节,增量调节),该方法另外包括,改变在癌细胞中表达的所述至少一种 miR 基因产物的量。在一个实施方案中,在癌细胞中表达的 miR 基因产物的量小于在对照细胞(例如多个对照细胞)中表达的 miR 基因产物的量,并将有效量的减量调节的 miR 基因产物、分离的变体或 miR 基因产物或变体的生物活性片段施用给受试者。适用于该实施方案的 miR 基因产物包括 miR-145, miR-155, miR-218-2 和其组合,以及其它。在一个特定的实施方案中,所述 miR 基因产物不是 miR-15a 或 miR-16-1。在另一个实施方案中,在癌细胞中表达的 miR 基因产物的量大于在对照细胞(例如多个对照细胞)中表达的 miR 基因产物的量,并将有效量的至少一种用于抑制所述至少一种增量调节的 miR 基因产物的表达的化合物施用给受试者。适用于抑制所述至少一种 miR 基因产物的表达的化合物包括、但不限于,抑制 miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a 和其组合的表达的化合物。

[0032] 本发明另外提供了用于治疗实体癌(例如前列腺癌,胃癌,胰腺癌,肺癌,乳腺癌,结肠癌)的药物组合物。在一个实施方案中,所述药物组合物包含至少一种分离的 miR 基因产物和药学上可接受的载体。在一个特定的实施方案中,所述至少一种 miR 基因产物对应于在癌细胞中的表达水平比在对照细胞中降低的 miR 基因产物。在某些实施方案中,所述分离的 miR 基因产物选自:miR-145, miR-155, miR-218-2 和其组合。

[0033] 在另一个实施方案中,本发明的药物组合物包含至少一种抑制 miR 表达的化合物和药学上可接受的载体。在一个特定的实施方案中,所述至少一种抑制 miR 表达的化合物对在癌细胞中的表达大于在对照细胞中的表达的 miR 基因产物是特异性的。在某些实施方案中,所述抑制 miR 表达的化合物对选自下述的一种或多种 miR 基因产物是特异性的:miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a 和其组合。

[0034] 本发明也包括鉴定肿瘤发生抑制剂的方法,其包括给细胞提供测试试剂,和测量细胞中至少一种 miR 基因产物的水平。在一个实施方案中,该方法包括,给细胞提供测试试剂,和测量与实体癌(例如前列腺癌,胃癌,胰腺癌,肺癌,乳腺癌,结肠癌)中降低的表达水平有关的至少一种 miR 基因产物的水平。与合适的对照细胞相比,所述细胞中所述 miR 基因产物的水平的增加,指示着测试试剂是肿瘤发生抑制剂。在一个特定的实施方案中,所述与实体癌细胞中降低的表达水平有关的至少一种 miR 基因产物选自:miR-145, miR-155, miR-218-2 和其组合。

[0035] 在其它实施方案中,该方法包括,给细胞提供测试试剂,和测量与实体癌中增加的表达水平有关的至少一种 miR 基因产物的水平。与合适的对照细胞相比,所述细胞中所述 miR 基因产物的水平的降低,指示着测试试剂是肿瘤发生抑制剂。在一个特定的实施方案中,所述与实体癌细胞中增加的表达水平有关的至少一种 miR 基因产物选自:miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2,

miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a 和其组合。

[0036] 附图简述

[0037] 本专利或申请文件含有至少一幅彩色附图。含有彩色附图的本专利或专利申请公开的拷贝将在提出请求并支付必要的费用后由官方提供。

[0038] 图 1 描述了代表 6 种实体癌（顶部）和相应的正常组织的 540 个样品的聚类分析。在树中包括的 miRNA (n=137) 代表着其表达水平（减去背景的程度）高于至少 50% 的分析样品中的阈值 (256) 的那些。阵列以中位值为中心，并使用 Gene Cluster2.0 标准化。使用非中心化的关联度量，进行平均关联聚类。颜色指示着每个样品中的微小 RNA 的表达水平与中位值的差异。

[0039] 图 2 描述了微小 RNA 表达数据的非监督分析。过滤涵盖乳腺、结肠、肺、胰腺、前列腺和胃（正常组织和肿瘤）的 540 个样品（在图顶部标明）的微小 RNA 谱，定中心，并对每个特征标准化。在样品（水平方向）和特征（垂直方向）上对数据进行分级聚类，以平均关联和皮尔森关联作为相似性度量。样品名称指示在图的顶部，miRNA 名称在左侧。探针 ID 指示在括号中，因为相同的微小 RNA 可以用不同的寡核苷酸测量。颜色指示着每个样品中的微小 RNA 的表达水平与中位值的差异。

[0040] 图 3 描述了实体癌（顶部）之间差异调节的 miRNA 的表达。代表了在至少 90% 的组织实体癌中存在的 61 种微小 RNA（图右侧）。树显示了在 $\log_2$ 转化后每个列出的微小 RNA 的平均绝对表达值。对来自相同组织或肿瘤组织型的所有样品，计算平均值。以基因的平均值为中心，并使用 Gene Cluster2.0 标准化。使用欧几里德距离法，进行平均关联聚类。

[0041] 图 4 描述了在至少 75% 的实体癌中存在的 miRNA 的表达的倍数变化，其中与正常样品相比，在不同癌样品（顶部）中的至少 1 个肿瘤绝对值高于 2。树显示了平均倍数变化（癌症相对于正常）的 $\log_2$ 转化。对来自相同组织或肿瘤组织型的所有样品，计算平均值。以阵列的平均值为中心，并使用 Gene Cluster2.0 标准化。使用非中心化的关联度量，进行平均关联聚类。

[0042] 图 5 描述了在至少 50% 的实体癌的特征中存在的 miRNA 的表达的倍数变化（癌症相对于正常样品）。树显示了平均倍数变化（癌症相对于正常）的 $\log_2$ 转化。对来自相同组织或肿瘤组织型的所有样品，计算平均值。以阵列的平均值为中心，并使用 Gene Cluster2.0 标准化。使用非中心化的关联度量，进行平均关联聚类。

[0043] 图 6A 描述的条形图指示了编码癌蛋白的不同基因的 3' UTR 使得能通过微小 RNA 实现癌调节。将萤火虫萤光素酶表达的相对阻遏（倍数变化）相对于花萤光素酶对照标准化。PLAG1, 多形腺瘤基因 1; TGFBR2, 转化生长因子 β 受体 II; Rb, 视网膜母细胞瘤基因。pGL-3 (Promega) 用作空载体。miR-20a, miR-26a-1 和 miR-106 寡 RNA（有义，混杂）用于转染。在下图中显示了使用每个靶 mRNA 的突变版本（其缺少 5' miRNA- 末端互补位点 (MUT)）作为对照的第二个实验。所有实验一式三份地进行 2 遍 (n=6)。

[0044] 图 6B 描述的蛋白印迹表明，在某些癌症（例如肺癌，乳腺癌，结肠癌，胃癌）中，RB1 (Rb) 蛋白的水平表现出与 miR-106a 表达水平的负相关。 β -肌动蛋白用作标准化的对照。N1, 正常样品；T1 和 T2, 肿瘤样品。

[0045] 图 7 描述的 RNA 印迹显示了与正常样品相比乳腺癌样品 (P 系列和编号系列) 中 miR-145 的减量调节 (顶部) 和 miR-21 表达的增量调节 (底部)。用 U6- 特异性的探针进行标准化。

[0046] 图 8 描述的 RNA 印迹显示了与正常样品 (K 系列) 相比, 不同内分泌胰腺癌样品 (WDET, 分化良好的胰腺内分泌肿瘤, WDEC, 分化良好的胰腺内分泌癌, 和 ACC, 胰腺腺泡细胞癌) 中 miR-103 的增量调节和 miR-155 的减量调节 (顶部) 表达, 以及与正常样品 (K 系列) 和不分泌的 / 无功能的 (NF- 系列) 样品相比, 胰岛素瘤 (F 系列) 中 miR-204 (底部) 表达的增量调节。使用对 5S RNA 特异性的探针, 进行标准化。

[0047] 发明详述

[0048] 本发明部分地基于, 与正常的对照细胞相比, 在与不同实体癌如结肠癌、胃癌、胰腺癌、肺癌、乳腺癌和前列腺癌有关的癌细胞中的表达发生改变的特定 miRNA 的鉴定。

[0049] 如本文中互换使用的, “miR 基因产物”, “微小 RNA”, “miR”, 或 “miRNA” 是指来自 miR 基因的未加工的 (例如前体) 或加工过的 (例如成熟的) RNA 转录物。由于 miR 基因产物不翻译成蛋白, 术语 “miR 基因产物” 不包括蛋白。未加工的 miR 基因转录物也称作 “miR 前体” 或 “miRprec”, 通常包含长度为约 70-100 个核苷酸的 RNA 转录物。miR 前体可以用 RNA 酶 (例如, Dicer, Argonaut, 或 RNA 酶 III (例如, 大肠杆菌 RNA 酶 III)) 消化加工成有活性的 19-25 个核苷酸的 RNA 分子。该有活性的 19-25 个核苷酸的 RNA 分子也称作 “加工过的” miR 基因产物或 “成熟的” miRNA。

[0050] 所述有活性的 19-25 个核苷酸的 RNA 分子可以通过天然加工途径 (例如, 使用完整细胞或细胞裂解物) 或通过合成加工途径 (例如, 使用分离的加工酶, 例如分离的 Dicer, Argonaut, 或 RNA 酶 III) 从 miR 前体得到。应当理解, 所述有活性的 19-25 个核苷酸的 RNA 分子也可以通过生物或化学合成直接生成, 不从 miR 前体加工。当在本文中用名称提及微小 RNA 时, 该名称对应着前体和成熟形式两者, 除非另有说明。

[0051] 表 1a 和 1b 描述了特定的前体和成熟人微小 RNA 的核苷酸序列。

[0052] 表 1a- 人微小 RNA 前体序列

[0053]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>let-7a-1</i>	CACUGUGGGAUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGGGUCACACCCACCA CUGGGAGAUAAUAUACAAUCUACUGUCUUUCCUAACGUG	1
<i>let-7a-2</i>	AGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUACAUAAGGGAGAUAA UGUACAGCCUCCUAGCUUUCCU	2
<i>let-7a-3</i>	GGGUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUGGGGUCUGCCUGCUAUGGGAUA ACUAUACAAUCUACUGUCUUUCCU	3
<i>let-7a-4</i>	GUGACUGCAUGCUCACAGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUUUAGAAUUA CACAAGGGAGAUAAUCUGUACAGCCUCCUAGCUUUCCUUGGGUCUUGCACU AAACAAC	4

[0054]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>let-7b</i>	GGCGGGGUGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUUUCAGGGCAGUGAUGUUGCCCC UCGGAAGAUAAUAACAACCUACUGCCUCCUG	5
<i>let-7c</i>	GCAUCCGGGUUGAGGUAGUAGGUUGUAGGUUUAGAGUACACCCUGGGA GUUAAUGUACAACCUUCUAGCUUCCUUGGAGC	6
<i>let-7d</i>	CCUAGGAAGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUUUAGGGCAGGGAUUUUGCCCA CAAGGAGGUAACUAUACGACCUGCUGCCUUCUAGG	7
<i>let-7d-v1</i>	CUAGGAAGAGGUAGUAGUUUGCAUAGUUUAGGGCAAAGAUUUUGCCAC AAGUAGUUAGCUAUAACGACCUGCAGCCUUUUGUAG	8
<i>let-7d-v2</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACAUUGCCCGC UGUGGAGAUAAUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUAG	9
<i>let-7e</i>	CCCCGGCUGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUUGAGGAGGACACCCAAGGAGAU CACUAUACGGCCUCCUAGCUUCCCCAGG	10
<i>let-7f-1</i>	UCAGAGUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGUAGUGAUUUUACCCUG UUCAGGAGAUAAUAACAUCUAUUGCCUCCUGA	11
<i>let-7f-2-1</i>	CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUGUGGGUAGUGAUUUUACCC UGUUCAGGAGAUAAUAACAUCUAUUGCCUCCUGA	12
<i>let-7f-2-2</i>	CUGUGGGAUGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUUUAGGGUCAUACCCCAUCUU GGAGAUAAUAUACAGUCUACUGUCUCCCCACGG	13
<i>let-7g</i>	UUGCCUGAUUCCAGGCUGAGGUAGUAGUUUGUACAGUUUGAGGGUCUAUG AUACCACCCGGUACAGGAGAUAAUGUACAGGCCACUGCCUUGCCAGGAA CAGCGCGC	14
<i>let-7i</i>	CUGGCUGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUUGGUCGGGUUGUGACAUUGCCCGC UGUGGAGAUAAUGCGCAAGCUACUGCCUUGCUAG	15
<i>miR-1b-1-1</i>	ACCUACUCAGAGUACAUACUUCUUUAUGUACCCAUAUGAACAUACAAUGC UAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAGGC	16
<i>miR-1b-1-2</i>	CAGCUAAACAUAGUAAUACCUACUCAGAGUACAUACUUCUUUAUGUAC CCAUUGAACAUACAAUGCUAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGU AGGCAAUA	17
<i>miR-1b-2</i>	GCCUGCUUGGGAAACAUACUUCUUUAUUGCCCAUAUGGACCUGCUAAGC UAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUCUCAGGCCGGG	18
<i>miR-1b</i>	UGGGAACAUACUUCUUUAUUGCCCAUAUGGACCUGCUAAGCUAUGGAA UGUAAAGAAGUAUGUAUCUCA	19
<i>miR-1d</i>	ACCUACUCAGAGUACAUACUUCUUUAUGUACCCAUAUGAACAUACAAUGC UAUGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAUUUUUGGUAGGC	20
<i>miR-7-1a</i>	UGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGUUUUUA GAUAAUAAAUCGACAACAAUACAGUCUGCCAUAUGGCACAGGCCAUG CCUCUACA	21
<i>miR-7-1b</i>	UUGGAUGUUGGCCUAGUUCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGUUUUU AGAUAAUAAAUCGACAACAAUACAGUCUGCCAUAUGGCACAGGCCAU GCCUCUACAG	22
<i>miR-7-2</i>	CUGGAUACAGAGUGGACCGGCGGCCCAUCUGGAAGACUAGUGAUUUUG UUGUUGUCUACUGCGCUACAACAAUCCAGUCUACCUAAUGGUGCC AGCCAUCGCA	23

[0055]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-7-3</i>	AGAUUAGAGUGGCUGUGGUCUAGUGCUGUGUGGAAGACUAGUGAUUUUGU UGUUCUGAUGUACUACGACAACAAGUCACAGCCGGCCUCAUAGCCAGAC UCCCUUCGAC	24
<i>miR-9-1</i>	CGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGGUGUGGAGU CUUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAUAAACCCA	25
<i>miR-9-2</i>	GGAAGCGAGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGUAUUGGUCU UCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAAAAACUCCUUA	26
<i>miR-9-3</i>	GGAGGCCCGUUUCUCUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGCCACAGAGC CGUCAUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGUAGAAUGAUUCUA	27
<i>miR-10a</i>	GAUCUGUCUGUCUUCUGUAUAUACCCUGUAGAUCCGAAUUUGUGUAAGGA AUUUUGUGGUCACAAUUCGUUUCUAGGGGAAUUGUAGUUGACAUAAAC ACUCCGCUCU	28
<i>miR-10b</i>	CCAGAGGUUGUAACGUUGUCUAUAUAUACCCUGUAGAACCAGAAUUUGUGU GGUAUCCGUUAUGUCACAGAUUCGAUUCUAGGGGAAUUAUGGUGCAUGC AAAAACUUA	29
<i>miR-15a-2</i>	GCGCGAAUGUGUGUUUAAAAAAAAUAAACCUUGGAGUAAAGUAGCAGCA CAUAAUGGUUUGUGGAUUUUGAAAAGGUGCAGGCCAUUUGUGCUGCCUC AAAAAUAC	30
<i>miR-15a</i>	CCUUGGAGUAAAGUAGCAGCACAUAAUGGUUUGUGGAUUUUGAAAAGGUG CAGGCCAUUUGUGCUGCCUCAAAAAUACAAGG	31
<i>miR-15b-1</i>	CUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAUGCUACAGUCAAGAUGCGAAUCAUU AUUUGCUGCUCUAG	32
<i>miR-15b-2</i>	UUGAGGCCUUAAGUACUGUAGCAGCACAUCAUGGUUUACAUGCUACAGU CAAGAUGCGAAUCAUUAUUGCUGCUCUAGAAUUAAGGAAUUCAU	33
<i>miR-16-1</i>	GUCAGCAGUGCCUAGCAGCAGCUAAAUUUGGCGUUAAGAUCUAAAAU UAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGUAAGGUUGAC	34
<i>miR-16-2</i>	GUUCCACUCUAGCAGCAGCUAAAUUUGGCGUAGUGAAAUUAUUAUAAAA CACCAAUAUACUGUGCUGCUUAGUGUGAC	35
<i>miR-16-13</i>	GCAGUGCCUAGCAGCAGCUAAAUUUGGCGUUAAGAUCUAAAAUUAUC UCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGUAAGGU	36
<i>miR-17</i>	GUCAGAAUAAUGUCAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAUUGUGCAUCU ACUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGAC	37
<i>miR-18</i>	UGUUCUAAAGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAUUAGCAUCUACUG CCCUAAGUGCUCCUUCUGGCA	38
<i>miR-18-13</i>	UUUUUGUUCUAAAGUGCAUCUAGUGCAGAUAGUGAAGUAGAUUAGCAUCU ACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGGCAUAGAA	39
<i>miR-19a</i>	GCAGUCCUCUGUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAAUGUAGUUG UGCAAAUCUAGCAAAACUGAUGGUGGCCUGC	40
<i>miR-19a-13</i>	CAGUCCUCUGUAGUUUUGCAUAGUUGCACUACAAGAAGAAUGUAGUUGU GCAAAUCUAGCAAAACUGAUGGUGGCCUG	41
<i>miR-19b-1</i>	CACUGUUCUAGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUGUGAUUUC UGCUGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGACUGUGGUAGUG	42
<i>miR-19b-2</i>	ACAUUGCUACUUACAUAUUGUUUGCAGGUUUGCAUUCAGCGUAUAU GUUAUUGUGGCUGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGAUUGUGAUAAUGU	43

[0056]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-19b-13</i>	UUCUAUGGUUAGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGCUGUGUGAUUUCUGCUG UGCAAAUCCAUGCAAAACUGACUGUGGUAG	44
<i>miR-19b-X</i>	UUACAAUAGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCAGCGUAUAUAUGUAUAUGUGG CUGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGAUUGUGAU	45
<i>miR-20</i> (<i>miR-20a</i>)	GUAGCACUAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAGUGUUAGUUAUCUACUGCAU UAUGAGCACUUAAGUACUGC	46
<i>miR-21</i>	UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCAUGGCAACA CCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA	47
<i>miR-21-17</i>	ACCUUGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCAUGGC AACACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACAUUUUG	48
<i>miR-22</i>	GGCUGAGCCGCAGUAGUUCUUCAGUGGCAAGCUUAUGUCCUGACCCAGC UAAAGCUGCCAGUUGAAGAACUGUUGCCCUCUGCC	49
<i>miR-23a</i>	GGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUGUCACAAUACACA UUGCCAGGGAUUCCAACCGACC	50
<i>miR-23b</i>	CUCAGGUGCUCUGGCUGCUUGGGUCCUGGCAUGCUGAUUUGUGACUAA GAUUAUUUACAUUUGCCAGGGAUUAACACGCAACACGACCUUGGC	51
<i>miR-23-19</i>	CCACGGCCGGCUGGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUUGCUUCCUGUCACAAU CACAUUGCCAGGGAUUCCAACCGACCCUGA	52
<i>miR-24-1</i>	CUCCGUGCCUACUGAGCUGAUUACAGUUCUCAUUUUACACACUGGCUGA GUUCAGCAGGAACAGGAG	53
<i>miR-24-2</i>	CUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGUUGGUUUGUGUACACU GGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGG	54
<i>miR-24-19</i>	CCCUGGGCUCUGCCUCCCGUGCCUACUGAGCUGAAACACAGUUGGUUUGU GUACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGGG	55
<i>miR-24-9</i>	CCCUCGGGUGCCUACUGAGCUGAUUACAGUUCUCAUUUUACACACUGGCCU CAGUUCAGCAGGAACAGCAUC	56
<i>miR-25</i>	GGCCAGUGUUGAGAGGCGGAGACUUGGGCAAUUGCUGGACGCGCCCGGG GCAUUGCACUUGUCUCGGUCUGACAGUGCCGGCC	57
<i>miR-26a</i>	AGGCCGUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAGGUCCCAAU GGCCUAUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGCGGGCCU	58
<i>miR-26a-1</i>	GUGGCCUCGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUGCAGGUCCCAAUGGGCC UAUUCUUGGUUACUUGCACGGGGACGC	59
<i>miR-26a-2</i>	GGCUGUGGCUGGAUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCUGUUUCCAUCUGUGAG GCCUAUUCUUGAUUACUUGUUUCUGGAGGCAGCU	60
<i>miR-26b</i>	CCGGGACCCAGUUCAAGUAAUCCAGGAUAGGUUGUGUGCUGUCCAGCCUG UUCUCCAUAUACUUGGCUCGGGGACCGG	61
<i>miR-27a</i>	CUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACCAAGUCGUG UUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCCAG	62
<i>miR-27b-1</i>	AGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAGUGAUUGGUUUCGCUUUGUU CACAGUGGCUAAGUUCUGACCU	63
<i>miR-27b-2</i>	ACCUCUCUAAACAAGGUGCAGAGCUUAGCUGAUUGGUGAACAGUGAUUGGU UUCGCUUUGUUCACAGUGGCUAAGUUCUGCACCUGAAGAGAAGGUG	64
<i>miR-27-19</i>	CCUGAGGAGCAGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCAGGGUCCACACCAAGUCGU GUUCACAGUGGCUAAGUUCGCCCCCAGG	65

[0057]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-28</i>	GGUCCUUGCCCUCAAGGAGCUCACAGUCUAUUGAGUUACCUUUCUGACUU UCCCACUAGAUGUGAGCUCCUGGAGGGCAGGCACU	66
<i>miR-29a-2</i>	CCUUCUGUGACCCCUUAGAGGAUGACUGAUUUUUUGGUGUUCAGAGUC AAUUAUUUUUCUAGCACCAUCUGAAAUCGGUUAUAAUGAUUGGGGAAGA GCACCAUG	67
<i>miR-29a</i>	AUGACUGAUUUUUUGGUGUUCAGAGUCAAUUAUUUUUCUAGCACCAU CUGAAAUCGGUUAU	68
<i>miR-29b-1</i>	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUAUGGUGGUUUAGAUUUAAUAGUGAUUGUC UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGG	69
<i>miR-29b-2</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCUUAGAUUUUCCAUCUUUGUUAU CUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUUAGGAG	70
<i>miR-29c</i>	ACCACUGGCCCCAUCUCUUACACAGGCUGACCGAUUUCUCCUGGUGUUCAG AGUCUGUUUUUGUCUAGCACCAUUUGAAAUCGGUUAUGAUGUAGGGGAA AAGCAGCAGC	71
<i>miR-30a</i>	GCGACUGUAAACAUCUCCGACUGGAAGCUGUGAAGCCACAGAUGGGCUUU CAGUCGGAUGUUUGCAGCUGC	72
<i>miR-30b-1</i>	AUGUAAACAUCUACACUCAGCUGUAAUACAUGGAUUGGUGGGAGGUGG AUGUUUACGU	73
<i>miR-30b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUCAGUAAACAUCUACACUCAGCUGUAAUACAUGGA UUGGUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACUUGGA	74
<i>miR-30c</i>	AGAUACUGUAAACAUCUACACUCAGCUGUGGAAAGUAAGAAAGCUGG GAGAAGGCUGUUUACUCUUUCU	75
<i>miR-30d</i>	GUUGUUGUAAACAUCUCCGACUGGAAGCUGUAAAGACACAGCUAAGCUUUC AGUCAGAUUUUGCUGCUAC	76
<i>miR-30e</i>	CUGUAAACAUCUUGACUGGAAGCUGUAAAGGUGUUCAGAGGAGCUUUCAG UCGGAUGUUUACAG	77
<i>miR-31</i>	GGAGAGGAGGCAAGAUGCUGGCAUAGCUGUUGAACUGGGAACCGCUAUG CCAACAUAUUGCCAUCUUCC	78
<i>miR-32</i>	GGAGAUUUGCACAUAUAAGUUGCAUGUUGUCACGGCCUCAAUGCAAU UUAGUGUGUGUGAUUUUUC	79
<i>miR-33b</i>	GGGGGCCGAGAGAGGCGGGCGGGCCCGGUGCAUUGCUGUUGCAUUGCA CGUGUGAGGGCGGUGCAGUGCCUGGCAGUCAGCCGGAGCCGGCCC CUGGCACCAC	80
<i>miR-33b-2</i>	ACCAAGUUUCAGUUCAGUAAACAUCUACACUCAGCUGUAAUACAUGGA UUGGUGGGAGGUGGAUGUUUACUUCAGCUGACUUGGA	81
<i>miR-33</i>	CUGUGGUGCAUUGUAGUUGCAUUGCAUGUUCUGGUGGUACCCAUGCAAUG UUUCCACAGUGCAUCACAG	82
<i>miR-34-a</i>	GGCCAGCUGUGAGUGUUUCUUUGGCAGUGUCUUAGCUGGUUGUUGAGC AAUAGUAAGGAAGCAAUCAGCAAGUAUACUGCCCUAGAAGUGCUGCAGCU UGUGGGGCCC	83
<i>miR-34-b</i>	GUGCUCGGUUUGUAGGCAGUGUCAUUAAGCUGAUUGUACUGUGGUGGUUAC AAUCACUAAUCUCCACUGCCAUAUAAACAAGGCAC	84

[0058]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-34-c</i>	AGUCUAGUUACUAGGCAGUGUAGUUAGCUGAUUGC UAAUAGUACCAAUCA CUAACACACGGCCAGGUAAAAAGAUU	85
<i>miR-91-13</i>	UCAGAAUAAUGUCAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGUGAUUGUGCAUCUA CUGCAGUGAAGGCACUUGUAGCAUUAUGGUGA	86
<i>miR-92-1</i>	CUUUCUACACAGGUUGGGAUCGGUUGCAAUGCUGUGUUUCUGUAUGGUAU UGCACUUGUCCCCGGCCUGUAGAUUUGG	87
<i>miR-92 -2</i>	UCAUCCUGGGUGGGGAUUGUUGCAUUAUUGUGUUCUAAUAAAGUAU UGCACUUGUCCCCGGCCUGUGGAAGA	88
<i>miR-93-1</i> (<i>miR-93-2</i>)	CUGGGGGCUCCAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAGUGAUUACCCAACCUA CUGCUGAGCUAGCACUUCGCCAGCCCCGG	89
<i>miR-95-4</i>	AACACAGUGGGCACUCAUAAAUUGUCUGUUGAAUUGAAAUGCGUUAUUAU CAACGGGUAAUUUAUUGAGCACCCACUCUGUG	90
<i>miR-96-7</i>	UGGCCGAUUUUGGCACUAGCACAUUUUUGCUUGUGUCUCUCCGCUCUGAG CAAUCAUGUGCAGUGCCAAUUAUGGGAA	91
<i>miR-97-6</i> (<i>miR-30*</i>)	GUGAGCGACUGUAAACAUCUUGACUGGAAGCUGUGAAGCCACAGAUGGG CUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGCUGCCUACU	92
<i>miR-98</i>	GUGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUUGUGGGUAGGGAUAAUAGGCCCAAUU AGAAGAUAAUACAACUUAUACUUAUCC	93
<i>miR-99b</i>	GGCACCCACCCGUAGAACCGACCUUGCGGGGCCUUCGCCGCACACAAGCU CGUGUCUGUGGGUCCGUGUC	94
<i>miR-99a</i>	CCCAUUGGCAUAAACCCGUAGAUCGGAUCUUGUGGUGAAGUGGACCGCAC AAGCUCGCUUCUAUUGGGUCUGUGUCAGUGUG	95
<i>miR-100-1/2</i>	AAGAGAGAAGAUUUGAGGCCUGUUGCCACAAACCCGUAGAUCGGAACUU GUGGUAAUAGUCCGCACAAGCUUGUAUCUAUAGGUAUGUGUCUGUAGGC AAUCUCAC	96
<i>miR-100-11</i>	CCUGUUGCCACAAACCCGUAGAUCGGAACUUGUGGUAAUAGUCCGCACAA GCUUGUAUCUAUAGGUAUGUGUCUGUAGG	97
<i>miR-101-1 /2</i>	AGGUGCCCGUGGUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCUAUUCUAAAGG UACAGUACUGUGAAACUGAAGGAUGGCAGCCAUCUUAACCUCCAUCAGA GGAGCCUCAC	98
<i>miR-101</i>	UCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCCAUUCUAAAGGUACAGUACUGUGA UAACUGA	99
<i>miR-101-1</i>	UGCCUGGCCUCAGUUAUCACAGUGCUGAUGCUGUCUAUUCUAAAGGUACA GUACUGUGAUAAACUGAAGGAUGGCA	100
<i>miR-101-2</i>	ACUGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUAUCUGAAAGGUA CAGUACUGUGAUAAACUGAAGAAUGGUGGU	101
<i>miR-101-9</i>	UGUCCUUUUUCGGUUAUCAUGGUACCGAUGCUGUAUAUCUGAAAGGUA GUACUGUGAUAAACUGAAGAAUGGUG	102
<i>miR-102-1</i>	CUUCUGGAAGCUGGUUUCACAUGGUGGCUUAGAUUUUCCAUCUUUGUAU CUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUUAGGAG	103
<i>miR-102-7.1</i> (<i>miR-102-7.2</i>)	CUUCAGGAAGCUGGUUUCAUUAGGUGGUUUAGAUUUAAUAGUGAUUGUC UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUCUUGGGGG	104

[0059]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-103-2</i>	UUGUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGUAGCAUUCAGGUCAAGC AACAUUGUACAGGGCUAUGAAAGAACCA	105
<i>miR-103-1</i>	UACUGCCCUCGGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGUUGCAUAUGGAUCAAGC AGCAUUGUACAGGGCUAUGAAGGCAUUG	106
<i>miR-104-17</i>	AAAUGUCAGACAGCCCAUCGACUGGUGUUGCCAUGAGAUUCAACAGUCAA CAUCAGUCUGAUAAGCUACCCGACAAGG	107
<i>miR-105-1</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCUCUAGCACC ACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUACGGUGUCUA	108
<i>miR-105-2</i>	UGUGCAUCGUGGUCAAAUGCUCAGACUCCUGUGGUGGCUGCUUAGCACC ACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUAUGGUGUCUA	109
<i>miR-106-a</i>	CCUUGGCCAUGUAAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAGCUUUUUGAGAUCUAC UGCAAUGUAAGCACUUCUUACAUAUACCAUGG	110
<i>miR-106-b</i>	CCUGCCGGGGCUAAAAGUGCUGACAGUGCAGAUAGUGGUCCUCUCCGUGCU ACCGCACUGUGGGUACUUGCUGCUCAGCAGG	111
<i>miR-107</i>	CUCUCUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGUUGCCUUGUGGCAUGGAGUUCAA GCAGCAUUGUACAGGGCUAUCAAAGCACAGA	112
<i>miR-108-1-小</i>	ACACUGCAAGAACAUAAGGAUUUUAGGGGCAUUAUGACUGAGUCAGAA AACACAGCUGCCCCUGAAAGUCCCUCAUUUUUCUUGCUGU	113
<i>miR-108-2-小</i>	ACUGCAAGAGCAUAUAGGAUUUUAGGGGCAUUAUGAUAGUGGAAUGGAA ACACAUCUGCCCCCAAAGUCCCUCAUUUU	114
<i>miR-122a-1</i>	CCUUAGCAGAGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCUAAACUAUCA AACGCCAUUAUCACACUAAAUAGCUACUGCUAGGC	115
<i>miR-122a-2</i>	AGCUGUGGAGUGUGACAAUGGUGUUUGUGUCCAAACUAUCAAAACGCCAUU AUCACACUAAAUAGCU	116
<i>miR-123</i>	ACAUAUAUACUUUUGGUACGCGCUGUGACACUCAAACUCGUACCGUGAG UAAUAAUGCGC	117
<i>miR-124a-1</i>	AGGCCUCUCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAAUGUCCAUACA AUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAAUGGGGCGUG	118
<i>miR-124a-2</i>	AUCAAGAUUAGAGGCUCUGCUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAA UGUCAUACAUAUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAGCGGAGCCUACGGCU GCACUUGAAG	119
<i>miR-124a-3</i>	UGAGGGCCCCUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCUAUACA AUUAAGGCACGCGGUGAAUGCCAAGAGAGGCGCCUCC	120
<i>miR-124a</i>	CUCUGCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCUAUACAUAUUAAGGCA CGCGGUGAAUGCCAAGAG	121
<i>miR-124b</i>	CUCUCCGUGUUCACAGCGGACCUUGAUUUAAUGUCAUACAUAUUAAGGCAC GCGGUGAAUGCCAAGAG	122
<i>miR-125a-1</i>	UGCCAGUCUCUAGGUCCUGAGACCCUUUAACUGUGAGGACAUCCAGGG UCACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCCUGGCGUCUGGCC	123
<i>miR-125a-2</i>	GGUCCUGAGACCCUUUAACUGUGAGGACAUCCAGGGUCACAGGUGAGG UUCUUGGGAGCCUGG	124
<i>miR-125b-1</i>	UGCGUCCUCUCAGUCCUGAGACCCUAACUUGUGAUGUUUACCGUUUAA AUCCACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCUGCGAGUCGUGCU	125

[0060]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-125b-2</i>	ACCAGACUUUUCUAGUCCUGAGACCCUAAACUUGUGAGGUUUUUAGUA ACAUCACAAGUCAGGCUCUUGGGACCUAGGCCGAGGGGA	126
<i>miR-126-1</i>	CGCUGGGGACGGGACAUUAUUACUUUUGGUACGGCGUGUGACACUUCAAA CUCGUACCGUGAGUAAUAAUGCGCCGUCCACGGCA	127
<i>miR-126-2</i>	ACAUUAUUACUUUUGGUACGGCGUGUGACACUUCAAAACUCGUACCGUGAG UAAUAAUGCCG	128
<i>miR-127-1</i>	UGUGAUCACUGUCUCCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAA AGAUCAUCCGAUCCGUCUGAGCUUGGCUGGUCGGAAGUCUCAUCAUC	129
<i>miR-127-2</i>	CCAGCCUGCUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAUUCAGAAAAGAUCAUCGGAUCC GUCUGAGCUUGGCUGGUCGG	130
<i>miR-128a</i>	UGAGCUGUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUUACAUUUCU CACAGUGAACCGGUCUCUUUUUCAGCUGCUUC	131
<i>miR-128b</i>	GCCCCGAGCCACUGUGCAGUGGGAAGGGGGGCCGAUACACUGUACGAGA GUGAGUAGCAGGUCUCACAGUGAACCGGUCUCUUUCCCUACUGUGUCACA CUCCUAAUGG	132
<i>miR-128</i>	GUUGGAUUCGGGGCCGUAGCACUGUCUGAGAGGUUUACAUUUCUCACAGU GAACCGGUCUCUUUUUCAGC	133
<i>miR-129-1</i>	UGGAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGUCCUCUCAACAGUAGUCAGGA AGCCCUUACCCCAAAAAGUAUCUA	134
<i>miR-129-2</i>	UGCCCUUCGCGAAUCUUUUUGCGGUCUGGGCUUGCUGUACAUAAUCUAAU AGCCGGAAGCCCUUACCCCAAAAAGCAUUGCGGAGGGCG	135
<i>miR-130a</i>	UGCUGCUGGCCAGAGCUCUUUCACAUUGUGCUACUGUCUGCACCUGUCA CUAGCAGUGCAAUGUAAAAGGGCAUUGGCCGUGUAGUG	136
<i>miR-131-1</i>	GCCAGGAGGCGGGGUUGGUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUG GUGUGGAGUCUUCAUAAAGCUAGAUAAACGAAAGUAAAAUAACCCCAUA CACUGCCGAG	137
<i>miR-131-3</i>	CACGGCGCGGCAGCGGCACUGGCUAAGGGAGGCCCGUUUCUCUCUUUGGU UAUCUAGCUGUAUGAGUGCCACAGAGCCGUCAUAAAGCUAGAUAAACGAA AGUAGAAAUG	138
<i>miR-131</i>	GUUGUUAUCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGAGUGUAUUGGUCUUCAUAAAG CUAGAUAAACGAAAGUAAAAAC	139
<i>miR-132-1</i>	CCGCCCCCGGUCUCCAGGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUAUCUGUGGA ACUGGAGGUAAACAGUCUACAGCCAUGGUCGCCCCGAGCACGCCACGCG C	140
<i>miR-132-2</i>	GGGCAACCGUGGCUUUCGAUUGUUAUCUGUGGGAACUGGAGGUAAACAGUCU ACAGCCAUGGUCGCCC	141
<i>miR-133a-1</i>	ACAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAAUCGCCUCUUCAAUG GAUUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGCUAUGCAUUGA	142
<i>miR-133a-2</i>	GGGAGCCAAAUGCUUUGCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAAUCGACUGU CCAAUGGAUUUGGUCCCCUUAACCAGCUGUAGCUGUGCAUUGAUGGCGC CG	143
<i>miR-133</i>	GCUAGAGCUGGUAAAAUGGAACCAAAUCGCCUCUUCAAUGGAUUUGGUCC CCUUCACCAGCUGUAGC	144

[0061]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-133b</i>	CCUCAGAAGAAAGAUGCCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUC CGUCUUCUGAGAGGUUUGGUCCCCUUAACCAGCUACAGCAGGGCUGGC AAUGCCCAGUCCUUGGAGA	145
<i>miR-133b-1</i>	GCCCCUGCUCUGGCUGGUCAAACGGAACCAAGUCCGUCUUCUGAGAGG UUUGGUCCCCUUAACCAGCUACAGCAGGG	146
<i>miR-134-1</i>	CAGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACUGUGUUCACCCUGU GGGCCACCUAGUCACCAACCCUC	147
<i>miR-134-2</i>	AGGGUGUGUGACUGGUUGACCAGAGGGGCAUGCACUGUGUUCACCCUGUG GGCCACCUAGUCACCAACCCU	148
<i>miR-135a-1</i>	AGGCCUCGCUGUUCUCUAUGGCUUUUUAUCCUAUGUGAUUCUACUGCUC ACUCAUAUAGGGAUUGGAGCCGUGGCGCACGGCGGGACA	149
<i>miR-135a-2</i> (<i>miR-135-2</i>)	AGAUAUUUACUCUAGUGCUUUAUGGCUUUUUAUCCUAUGUGAUAGUA AUAAAGUCUCAUGUAGGGAUGGAAGCCAUGAAAUACAUGUGAAAAAUA	150
<i>miR-135</i>	CUAUGGCUUUUUAUCCUAUGUGAUUCUACUGCUCACUCAUAUAGGGAU GGAGCCGUGG	151
<i>miR-135b</i>	CACUCUGCUGUGGCCUAUGGCUUUUAUCCUAUGUGAUUGCUGUCCCAA ACUCAUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGGCUACAGUGAGGGGCGAGCUCC	152
<i>miR-136-1</i>	UGAGCCUCGAGGACUCCAUUUGUUUGAUGAUGGAUUCUUAUGCUCCA UCAUCGUCUCAAUGAGUCUUCAGAGGGUUCU	153
<i>miR-136-2</i>	GAGGACUCCAUUUGUUUGAUGAUGGAUUCUUAUGCUCCAUCAUCGUCUC AAUAGAGUCUUC	154
<i>miR-137</i>	CUUCGGUGACGGGUAUUCUUGGGUGGAUAAUACGGAUUACGUUGUUAUUG CUUAAGAAUACGCGUAGUCGAGG	155
<i>miR-138-1</i>	CCCUGGCAUGGUGUGGUGGGGACGUGGUGUUGUGAAUACAGGCCGUGCC AAUCAGAGAACGGCUACUUCACAACACCAGGGCCACACCACUACAGG	156
<i>miR-138-2</i>	CGUUGCUGCAGCUGGUGUUGUGAAUACAGGCCGACGAGCAGCGCAUCCUCU UACCCGGCUAUUUCACGACACCAGGGUUGCAUA	157
<i>miR-138</i>	CAGCUGGUGUUGUGAAUACAGGCCGACGAGCAGCGCAUCCUCUACCCGGC UAUUUCACGACACCAGGGUUG	158
<i>miR-139</i>	GUGUAUUCUACAGUGCAGGUGUCUCCAGUGUGGCUCGGAGGCUGGAGACG CGGCCUGUUGGAGUAAC	159
<i>miR-140</i>	UGUGUCUCUCUGUGUCCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACG UCAUGCUGUUCUACCACAGGGUAGAACCACGGACAGGAUACCGGGGCACC	160
<i>miR-140as</i>	UCCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUGUUCUACCA CAGGGUAGAACCACGGACAGGA	161
<i>miR-140s</i>	CCUGCCAGUGGUUUUACCCUAUGGUAGGUUACGUCAUGCUGUUCUACCAC AGGGUAGAACCACGGACAGG	162
<i>miR-141-1</i>	CGGCCGGCCUGGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUCUAAUUGU GAAGCUCCUAAACACUGUCUGGUAAAAGAUGGCUCGCCGGGUGGUUC	163
<i>miR-141-2</i>	GGGUCCAUCUCCAGUACAGUGUUGGAUGGUCUAAUUGUGAAGCUCCUAA CACUGUCUGGUAAAAGAUGGCC	164
<i>miR-142</i>	ACCCAUAAGUAGAAAGCACUACUAAACAGCACUGGAGGGUGUAGUGUUUC CUACUUUAUGGAUG	165

[0062]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-143-1</i>	GCGCAGCGCCCGUGUCUCCAGCCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUGA GUUGGGAGUCUGAGAUGAAGCACUGUAGCUCAGGAAGAGAGAAGUUGUUC UGCAGC	166
<i>miR-143-2</i>	CCUGAGGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGUCAGUUGGGAGUCUGAGAUGAAGC ACUGUAGCUCAGG	167
<i>miR-144-1</i>	UGGGGCCCGUGGCGGGAUAUCAUCAUAUACUGUAAGUUUGCGAUGAGACA CUACAGUAUAGAUGAUGUACUAGUCCGGGCACCCCC	168
<i>miR-144-2</i>	GGCUGGGAUAUCAUCAUAUACUGUAAGUUUGCGAUGAGACACUACAGUAU AGAUGAUGUACUAGUC	169
<i>miR-145-1</i>	CACCUUGUCCUCACGGUCCAGUUUCCAGGAAUCCCUAGAUGCUAAGA UGGGGAUUCUGGAAUACUGUUCUUGAGGUC AUGGUU	170
<i>miR-145-2</i>	CUCACGGUCCAGUUUCCAGGAAUCCCUAGAUGCUAAGAUGGGGAUUC CUGGAAUACUGUUCUUGAG	171
<i>miR-146-1</i>	CCGAUGUGUAUCCUCAGCUUUGAGAACUGAAUCCAUGGGUUGUGUCAGU GUCAGACCUCUGAAUUCAGUUCUUCAGCUGGGAUAUCUCUGUCAUCGU	172
<i>miR-146-2</i>	AGCUUUGAGAACUGAAUCCAUGGGUUGUGUCAGUGUCAGACCUGUGAAA UUCAGUUCUUCAGCU	173
<i>miR-147</i>	AAUCUAAAGACAACAUUUCUGCACACACACCAGACUAUGGAAGCCAGUGU GUGGAAUUGCUUCUGCUAGAUU	174
<i>miR-148a</i> (<i>miR-148</i>)	GAGGCAAAGUUCUGAGACACUCCGACUCUGAGUAUGAUAGAAGUCAGUGC ACUACAGAAAUUUGUCUC	175
<i>miR-148b</i>	CAAGCACGAUUAAGCAUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUCAGGCUGUG GCUCUCUGAAAGUCAGUGCAUCACAGAACUUUGUCUGGAAAGCUUUCUA	176
<i>miR-148b-小</i>	AAGCACGAUUAAGCAUUGAGGUGAAGUUCUGUUAUACACUCAGGCUGUGG CUCUCUGAAAGUCAGUGCAU	177
<i>miR-149-1</i>	GCCCGCGCCCGAGCUCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCCGUGCUUGUCCGAG GAGGGAGGGAGGGACGGGGCUGUGCUGGGGCAGCUGGA	178
<i>miR-149-2</i>	GCUCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCCGUGCUUGUCCGAGGAGGGAGGGAGG GAC	179
<i>miR-150-1</i>	CUCCCCAUGGCCCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAUGUCUGGGCUCAGACC CUGGUACAGGCCUGGGGACAGGGACCUGGGGAC	180
<i>miR-150-2</i>	CCUGUCUCCCAACCCUUGUACCAUGUCUGGGCUCAGACCCUGGUACAGG CCUGGGGACAGGG	181
<i>miR-151</i>	UUUCCUGCCCUCGAGGAGCUCACAGUCUAGUAUGUCUCAUCCCCUACUAG ACUGAAGCUCCUUGAGGACAGG	182
<i>miR-151-2</i>	CCUGUCCUCAAGGAGCUUCAGUCUAGUAGGGGAUGAGACAUACUAGACUG UGAGCUCCUCGAGGGCAGG	183
<i>miR-152-1</i>	UGUCCCCCGGGCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGCUCUGGAG CAGUCAGUGCAUGACAGAACUUGGGCCCGGAAGGACC	184
<i>miR-152-2</i>	GGCCAGGUUCUGUGAUACACUCCGACUCGGGCUCUGGAGCAGUCAGUGC AUGACAGAACUUGGGCCCGG	185
<i>miR-153-1-1</i>	CUCACAGCUGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUCUGCAGCUAGUAUUCACUC CAGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGCAGGUGUGG	186

[0063]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-153-1-2</i>	UCUCUCUCUCCUCACAGCUGCCAGUGUCAUUGUCACAAAAGUGAUCAUU GGCAGGUGUGGCUGCUGCAUG	187
<i>miR-153-2-1</i>	AGCGGUGGCCAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAUUGAGCCC AGUUGCAUAGUCACAAAAGUGAUCAUUGGAAACUGUG	188
<i>miR-153-2-2</i>	CAGUGUCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCUAGUAAUUGAGCCCAGUUGCAUA GUCACAAAAGUGAUCAUUG	189
<i>miR-154-1</i>	GUGGUACUUGAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUAUUUGUGACG AAUCAUACACGGUUGACCUAUUUUUCAGUACCAA	190
<i>miR-154-2</i>	GAAGAUAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCGCUUUAUUUGUGACGAAUCAUACA CGGUUGACCUAUUUUU	191
<i>miR-155</i>	CUGUUAAGUCUAAUCGUGAUAGGGGUUUUUGCCUCCAACUGACUCCUACA UAUUAGCAUUAACAG	192
<i>miR-156 - miR-157-重 叠 miR-141</i>	CCUAACACUGUCUGGUAAGAUGGCUCGCCGGGUGGGUUCUCUCGGCAGUA ACCUUCAGGGAGCCCUGAAGACCAUGGAGGAC	193
<i>miR-158-小- miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAGCCAGUGCU CUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUCCAUAGGUCACAGGUAUGUUCGCCU CAAUGCCAGC	194
<i>miR-159-1- 小</i>	UCCCGCCCCUGUAACAGCAACUCCAUGUGGAAGUGCCACUGGUUCCAG UGGGGCUGCUGUUAUCUGGGGCGAGGGCCA	195
<i>miR-161-小</i>	AAAGCUGGGUUGAGAGGGCGAAAAAGGAUGAGGUGACUGGUCUGGGCUAC GCUAUGCUGCGGGCGUCGGG	196
<i>miR-163-1b- 小</i>	CAUUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCACCCGGGGUAA AGAAAGGCCGAAU	197
<i>miR-163-3- 小</i>	CCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCACCUGGGGUAGAGGUGAAAG UUCUUUUACGGAUUUUUU	198
<i>miR-162</i>	CAAUGUCAGCAGUGCCUAGCAGCACGUAAAUAUUGCGUUAAGAUCUA AAAUUAUCUCCAGUAUUAACUGUGCUGCUGAAGUAAGGUUGACCAUACUC UACAGUUG	199
<i>miR-175-小- miR-224</i>	GGGCUUUCAGUCACUAGUGGUUCCGUUUAAGUAGAUGAUUGGCAUUGUU UCAAAAUGGUGCCCUAGUGACUACAAAGCCC	200
<i>miR-177-小</i>	ACGCAAGUGUCCUAAGGUGAGCUCAGGGAGCACAGAAACCUCACUGGAA CAGAAGGGCAAAAGCUCAUU	201
<i>miR-180-小</i>	CAUGUGACAUUUCAGGUGGAGUUUCAAGAGUCCCUUCCUGGUUACCGU CUCCUUUGCUCUCCACAAC	202
<i>miR-181a</i>	AGAAGGGCUAUCAGGCCAGCCUUCAGAGGACUCCAAGGAACAUUCAACGC UGUCGGUGAGUUUGGGAUUUGAAAAACCACUGACCGUUGACUGUACCUU GGGGUCCUUA	203
<i>miR-181b-1</i>	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUUAAAAGGUCACAAUCAACAUUCUUGCUGU CGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAACAAUGAAUGCAACUGU GGCCCCGCUU	204
<i>miR-181b-2</i>	CUGAUGGCUGCACUCAACAUCUUGCUGUCGGUGGGUUUGAGUCUGAAU CAACUCACUGAUCAAUGAAUGCAAACUGCGGACCAAAACA	205

[0064]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-181c</i>	CGGAAAAUUUGCCAAGGGUUUGGGGAACA <u>UUAACCUGUCGGUGAGUUU</u> GGGCAGCUCAGGCAAACCAUCGACCGUAGUGGACCCUGAGGCCUGGAA UUGCCAUCCU	206
<i>miR-182-as</i>	GAGCUGCUUGCCUCCCCCGUUUUUGGCAAUGGUAGAACUCACACUGGUG AGGUAACAGGAUCCGGUGGUUCUAGACUUGCCAACUAUGGGGGCAGGACU CAGCCGGCAC	207
<i>miR-182</i>	UUUUUGGCAAUGGUAGAACUCACACUGGUGAGGUAACAGGAUCCGGUGGU UCUAGACUUGCCAACUAUGG	208
<i>miR-183</i>	CCGCAGAGUGUGACUCCUGUUCUGUGUAUGGCACUGGUAGAAUUCACUGU GAACAGUCUCAGUCAGUAAUUAACGAAGGGCCAUAACAGAGCAGAGAC AGAUCCACGA	209
<i>miR-184-1</i>	CCAGUCACGUCCCCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGACUGUAAGU GUUGGACGGAGAACUGAUAAAGGUAGGUGAUUGA	210
<i>miR-184-2</i>	CCUUAUCACUUUCCAGCCCAGCUUUGUGACUGUAAGUGUUGGACGGAGA ACUGAUAAAGGUAGG	211
<i>miR-185-1</i>	AGGGGGCGAGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUCCUGAUGGUCCCCUCCCCA GGGGCUGGCUUCCUCUGGUCCUCCCUCCCCA	212
<i>miR-185-2</i>	AGGGAUUGGAGAGAAAGGCAGUCCUGAUGGUCCCCUCCCCAGGGGCUGG CUUCCUCUGGUCCU	213
<i>miR-186-1</i>	UGCUGUAACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGGUUUUAUUU UAAGCCCAAAGGUGAAUUUUUUGGAAGUUUGAGCU	214
<i>miR-186-2</i>	ACUUUCCAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCUUUCUGGUUUUAUUUAAGCCCA AAGGUGAAUUUUUGGGAAGU	215
<i>miR-187</i>	GGUCGGGCUACCAUGACACAGUGUGAGACUCGGGCUACAACACAGGACC CGGGGGCUGCUCUGACCCUCCUGUCUUGUGUUGCAGCCGGAGGGACGC AGGUCCGCA	216
<i>miR-188-1</i>	UGCUCUCCUCUCACAUCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUUUCUGAAAA CCCCUCCACAUGCAGGGUUUGCAGGAUGGCGAGCC	217
<i>miR-188-2</i>	UCUCACAUCCUUGCAUGGUGGAGGGUGAGCUUUCUGAAAACCCUCCCA CAUGCAGGGUUUGCAGGA	218
<i>miR-189-1</i>	CUGUCGAUUGGACCCGCCUCCGGUGCCUACUGAGCUGAU <u>AUCAGUUCUC</u> AUUUUACACACUGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGGAGUCGAGCCUUGAGC AA	219
<i>miR-189-2</i>	CUCCGGUGCCUACUGAGCUGAU <u>AUCAGUUCU</u> CAUUUUACACACUGGCUCA GUUCAGCAGGAACAGGAG	220
<i>miR-190-1</i>	UGCAGGCCUCUGUGUGAUUGUUUGAUUAUUAAGGUUGUUAUUUAAUCCA ACUUAUAUCAAACAUUCCUACAGUGUCUUGCC	221
<i>miR-190-2</i>	CUGUGUGAUUGUUUGAUUAUUAAGGUUGUUAUUUAAUCCAACUAUAUAU CAACAUAUCCUACAG	222
<i>miR-191-1</i>	CGGCUGGACAGCGGGCAACGGAAUCCAAAAGCAGCUGUUGUCUCCAGAG CAUCCAGCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCUCUCCUGCCU	223
<i>miR-191-2</i>	AGCGGGCAACGGAAUCCAAAAGCAGCUGUUGUCUCCAGAGCAUCCAGC UGCGCUUGGAUUUCGUCCCCUGCU	224

[0065]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-192-2/3</i>	CCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAGCCAGUGCUC UCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUCCAAGGUCACAGGUAUGUUCGCCUC AAUGCCAG	225
<i>miR-192</i>	GCCGAGACCGAGUGCACAGGGCUCUGACCUAUGAAUUGACAGCCAGUGCUC CUCGUCUCCCCUCUGGCUGCCAAUCCAAGGUCACAGGUAUGUUCGCCUC CAAUGCCAGC	226
<i>miR-193-1</i>	CGAGGAUGGGAGCUGAGGGCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCG GAUCAAUCUGGCCUACAAAGUCCCAGUUCUCGGCCCCCG	227
<i>miR-193-2</i>	GCUGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGAGGGUGUCGGAUCAACUGGCCUACAAA GUCCCAGU	228
<i>miR-194-1</i>	AUGGUGUUAUCAAGUGUAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAAUUU CCAGUGGAGAUGCUGUUAUUUGAUGGUUACCAA	229
<i>miR-194-2</i>	GUGUAAACAGCAACUCCAUGUGGACUGUGUACCAAUUCCAGUGGAGAUGC UGUUAUUUUUGAU	230
<i>miR-195-1</i>	AGCUUCCCUGGCUCUAGCAGCACAGAAUUAUUGGCACAGGGAAGCGAGUC UGCCAAUAUUGGCUGUGCUGCUCCAGGCAGGGUGGUG	231
<i>miR-195-2</i>	UAGCAGCACAGAAUUAUUGGCACAGGGAAGCGAGUCUGCCAAUAUUGGCU GUGCUGCU	232
<i>miR-196-1</i>	CUAGAGCUUGAAUUGGAACUGCUGAGUGAAUAGGUAGUUUCAUGUUGUU GGGCCUGGGUUUCUGAACACAACAUAUAAACCACCCGAUUCACGGCAG UUACUGCUCC	233
<i>miR-196a-1</i>	GUGAAUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAACACAACAA CAUUAACCACCCGAUUCAC	234
<i>miR-196a-2</i> (<i>miR-196-2</i>)	UGCUCGCUCAGCUGAUCUGUGGCUUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGAUUG AGUUUUGAACUCGGCAACAAGAAACUGCCUGAGUUAUACAGUCGGUUUU CGUCGAGGGC	235
<i>miR-196</i>	GUGAAUAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGGCCUGGGUUUCUGAACACAACAA CAUUAACCACCCGAUUCAC	236
<i>miR-196b</i>	ACUGGUCGGUGAUUUAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGGAUCCACCUUUCUCU CGACAGCACGACACUGCCUUAUUACUUCAGUUG	237
<i>miR-197</i>	GGCUGUGCCGGUAGAGAGGGCAGUGGGAGGUAAGAGCUCUUCACCCUUC ACCACCUUCUCCACCCAGCAUGGCC	238
<i>miR-197-2</i>	GUGCAUGUGUAUGUAUGUGUGCAUGUGCAUGUGUAUGUGUAUGAGUGCAU GCGUGUGUGC	239
<i>miR-198</i>	UCAUUGGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUCCUGUGAUUUUCCUUCUUCUUA UAGAAUAAAUGA	240
<i>miR-199a-1</i>	GCCAAACCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAUUGUGUACAG UAGUCUGCACAUGGUUAGGC	241
<i>miR-199a-2</i>	AGGAAGCUUCUGGAGAUCCUGCUCGCCCCAGUGUUCAGACUACCUG UUCAGGACAAUGCCGUUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGACUGGGCA AGGGAGAGCA	242
<i>miR-199b</i>	CCAGAGGACACCUCACUCCGUCUACCCAGUGUUUAGACUAUCUGUUCAG GACUCCCAAUUGUACAGUAGUCUGCACAUUGGUUAGGCUGGGCUGGGUU AGACCCUCGG	243

[0066]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-199s</i>	GCCAAACCAGUGUUCAGACUACCUGUUCAGGAGGCUCUCAUUGUGUACAG UAGUCUGCACAUGGUUAGGC	244
<i>miR-200a</i>	GCCUGGCCAUCUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCAGGUCUCUAAUAC UGCCUGGUAUAUGAUGACGGC	245
<i>miR-200b</i>	CCAGCUCGGGCAGCCGUGGCCAUCUACUGGGCAGCAUUGGAUGGAGUCA GGUCUCUAAUACUGCCUGGUAUAUGAUGACGGCGGAGCCUGCAGC	246
<i>miR-200c</i>	CCCUCGUCUACCCAGCAGUGUUUGGGUGCGGUUGGGAGUCUCUAAUACU GCCGGGUAUAUGAUGGAGG	247
<i>miR-202</i>	GUUCCUUUUUCCUAUGCAUAUACUUCUUUGAGGAUCUGGCCUAAAGAGGU AUAGGGCAUGGGAAGAUGGAGC	248
<i>miR-203</i>	GUGUUGGGGACUCGCGCGCUGGGUCCAGUGGUUCUUAACAGUUCAACAGU UCUGUAGCGCAAUUGUGAAAUGUUUAGGACCACUAGACCCGGCGGGCGCG GCGACAGCGA	249
<i>miR-204</i>	GGCUACAGUCUUUCUUCAGUGACUCGUGGACUCCCCUUGUCAUCCUUAU GCCUGAGAAUAUAUGAAGGAGGCUGGGAAGGCAAAGGACGUUCAAUUGU CAUCACUGGC	250
<i>miR-205</i>	AAAGAUCUCAGACAAUCCAUGUGCUUCUCUUGUCCUUAUCCACCGGA GUCUGUCUCAUACCCAACCAGAUUUCAGUGGAGUGAAGUUCAGGAGGCAU GGAGCUGACA	251
<i>miR-206-1</i>	UGCUCCCGAGGCCACAUGCUUCUUUAUACCCCAUAUGGAUUAUUCUUGC UAUGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGGUUUCGGCAAGUG	252
<i>miR-206-2</i>	AGGCCACAUGCUUCUUUAUACCCCAUAUGGAUUAUUCUUGCUAUGGAAUG UAAGGAAGUGUGUGGUUUU	253
<i>miR-208</i>	UGACGGGCGAGCUUUUGGCCCGGGUUAUACCUGAUGCUCACGUUAUAGAC GAGCAAAAAGCUUGUUGGUCA	254
<i>miR-210</i>	ACCCGGCAGUGCCUCCAGGCGCAGGGCAGCCCCUGCCCACCGCACACUGC GCUGCCCCAGACCCACUGUGCGUGAGACAGCGGCUGAUCUGUGCCUGGGC AGCGCGACCC	255
<i>miR-211</i>	UCACCUGGCCAUGUGACUUGUGGGCUUCCCUUUGUCAUCCUUCGCCUAGG GCUCUGAGCAGGGCAGGGACAGCAAAGGGGUGUCUAGUUGUCACUCCCCA CAGCACGGAG	256
<i>miR-212</i>	CGGGGCACCCCGCCCGGACAGCGCGCCGGCACCUUGGCUCUAGACUGCUU ACUGCCCGGGCCGCCUCAGUAAACAGUCUCCAGUCACGGCCACCGACGCC UGGCCCCGCC	257
<i>miR-213-2</i>	CCUGUGCAGAGAUUAUUUUUUAAGGUCACAAUCAACAUUCAUUGCUGU CGGUGGGUUGAACUGUGUGGACAAGCUCACUGAACAUAUGAAUGCAACUGU GGCCCCGCUU	258
<i>miR-213</i>	GAGUUUUGAGGUUGCUUCAGUGAACAUAACGUGUCGGUGAGUUUGGA AUUAAAAUCAAAACCAUCGACCGUUGAUUGUACCCUAUGGCUAACCAUCA UCUACUCC	259
<i>miR-214</i>	GGCCUGGCUGGACAGAGUUGUCAUGUGUCUGCCUGUCUACACUUGCUGUG CAGAACAUCGCGUCACCUGUACAGCAGGCACAGACAGGCAGUCACAUGAC AACCAGCCU	260

[0067]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-215</i>	AUCAUUCAGAAAUGGUAUACAGGAAAAUGACCUAUGAAUUGACAGACAAU AUAGCUGAGUUUGUCUGUCAUUUCUUUAGGCCAAUAUUCUGUAUGACUGU GCUACUCAA	261
<i>miR-216</i>	GAUGGCUGUGAGUUGGCUUAAUCUCAGCUGGCAACUGUGAGAUGUUCAUA CAAUCCUCACAGUGGUCUCUGGGAUUAUGCUAAACAGAGCAAUUUCCUA GCCUCACGA	262
<i>miR-217</i>	AGUAUAAUUAUACAUAGUUUUGAUGUCGCAGAUACUGCAUCAGGAACU GAUUGGAUAAGAUCAGUCACCAUCAGUCCUAAUGCAUUGCCUUCAGCA UCUAAACAAG	263
<i>miR-218-1</i>	GUGAUAAUGUAGCGAGAUUUUCUGUUGUCUUGAUCUAACCAUGUGGUUG CGAGGUAUGAGUAAAACAUGGUUCCGUAAGCACCAUGGAACGUCACGCA GCUUUCUACA	264
<i>miR-218-2</i>	GACCAGUCGCUGCGGGGCUUCCUUGUGCUUGAUCUAACCAUGUGGUGG AACGAUGGAAACGGAACAUGGUUCUGUCAAGCACCGCGGAAAGCACCGUG CUCUCCUGCA	265
<i>miR-219</i>	CCGCCCCGGGCGCGGCCUCCUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCGAGUCUAU GGCUCGCGCGGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAGCCGCGCCCCCAAAC CUCGAGCGGG	266
<i>miR-219-1</i>	CCGCCCCGGGCGCGGCCUCCUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUCGAGUCUAU GGCUCGCGCGGAGAGUUGAGUCUGGACGUCCCGAGCCGCGCCCCCAAAC CUCGAGCGGG	267
<i>miR-219-2</i>	ACUCAGGGGUUCGCCACUGAUUGUCCAAACGCAAUUCUUGUACGAGUCU GCGGCCAACCGAGAAUUGGGCUGGACAUCUGUGGCUGAGCUCGGG	268
<i>miR-220</i>	GACAGUGUGGCAUUGUAGGGCUCCACACCGUAUCUGACACUUUGGGCGAG GGACCAUGCUGAAGGUGUUAUGAUGCGGUCUGGGAACUCCUCACGGAU CUUACUGAUG	269
<i>miR-221</i>	UGAACAUCCAGGUCUGGGGCAUGAACCGCAUACAAUGUAGAUAUUCUGU GUUCGUUAGGCAACAGCUACAUAUGUCUGCUGGGUUUCAGGCUACCUGGAA ACAUGUUCUC	270
<i>miR-222</i>	GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCAUUGGCUCAGUAGCCAGUGUAGAUC CUGUCUUUCGUAUUCAGCAGCUACAUCUGGCUACUGGGUCUCUGAUGGCA UCUUCUAGCU	271
<i>miR-223</i>	CCUGGCCUCCUGCAGUGCCACGCUCGUGUAUUUGACAAGCUGAGUUGGA CACUCCAUGUGGUAGAGUGUCAGUUUGUCAAUACCCCAAGUGCGGCACA UGC UACCAAG	272
<i>miR-224</i>	GGGCUUUAAGUCACUAGUGGUUCCGUUAGUAGAUGAUUGUGCAUUGUU UCAAAAUGGUGCCCUAGUGACUACAAAGCCC	273

[0068]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-294-1</i> (<i>chr16</i>)	CAAUCUCCUUUAUCAUGGUAUUGAUUUUCAGUGCUUCCCUUUUGUGUGAGAG AAGUA	274
<i>miR-296</i>	AGGACCCUCCAGAGGGCCCCCCCCUCAAUCCUGUUGUGCCUAAUUCAGAGGGUU GGGUGGAGGCUCUCCUGAAGGGCUCU	275
<i>miR-299</i>	AAGAAUUGUUUACCGUCCACAUACAUUUUGAAUAUGUAUGUGGAUGGUA CCGCUUCU	276
<i>miR-301</i>	ACUGCUAACGAAUGCUCUGACUUUAUUGCACUACUGUACUUUACAGCUAGCAGU GCAAUAGUAUUGUCAAAAGCAUCGAAAGCAGG	277
<i>miR-302a</i>	CCACCACUAAACUGGAUGUACUUGCUUUGAAACUAAAGAAGUAAGUGCUUCC AUGUUUUGGUGAUGG	278
<i>miR-302b</i>	GCUCUUCAACUUUAACAUGGAAGUGCUUUCUGUGACUUUAAAAGUAAGUGCU UCCAUGUUUAGUAGGAGU	279
<i>miR-302c</i>	CCUUUGCUUUAACAUGGGGUACCUGCUGUGUGAAAACAAAGUAAGUGCUUCCA UGUUUCAGUGGAGG	280
<i>miR-302d</i>	CCUCUACUUUAACAUGGAGGCACUUGCUGUGACAUGACAAAAUAAGUGCUUCC AUGUUUGAGUGUGG	281
<i>miR-320</i>	GCUUCGCUCUCCCGCCUUCUCUUCUCCGGUUCUUCUCCGGAGUCGGGAAAAGCU GGGUUGAGAGGGCGAAAAGGAUGAGGU	282
<i>miR-321</i>	UUGGCCUCCUAAGCCAGGGAUUGUGGGUUCGAGUCCACCCGGGGUAAAGAAAG GCCGA	283
<i>miR-323</i>	UUGGUACUUGGAGAGAGGUGGUGCCGUGGGCGUUCGCUUUAUUUAUGGCGCACA UUACACGGUCGACCUCUUUGCAGUAUCUAAUC	284
<i>miR-324</i>	CUGACUAGGCCUCCCGCAUCCCUAGGGCAUUGGUGUAAAGCUGGAGACCCAC UGCCCCAGGUGCUGCUGGGGGUUGUAGUC	285
<i>miR-325</i>	AUACAGUGCUUGGUUCCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGUUUGUGACAUAAUUUGU UUAUUGAGGACCUCUUAUCAUCAAGCACUGUGCUAGGCUCUGG	286
<i>miR-326</i>	CUCAUCUGUCUGUUGGGCUGGAGGCAGGGCCUUUGUGAAGGCGGGUGGUCUCA GAUCGCCUCUGGGCCUUCUCCAGCCCCGAGGCGGAUUA	287
<i>miR-328</i>	UGGAGUGGGGGGCAGGAGGGGCUCAGGGAGAAAGUGCAUACAGCCCUGGGCC UCUCUGCCCUUCUGUCCUG	288
<i>miR-330</i>	CUUUGGCGAUCACUGCCUCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGCUCUGCAAGAUCAACC GAGCAAAGCACACGCCUGCAGAGAGGCAGGCUCUGCCC	289
<i>miR-331</i>	GAGUUUGGUUUUGUUUGGGUUUGUUCUAGGUAUGGUCCAGGGAUCCAGAUCA AACCAGGCCCUUGGGCCUUAUCCUAGAACCAACCUAAGCUC	290
<i>miR-335</i>	UGUUUUGAGCGGGGUCAAGAGCAAUAACGAAAAUGUUUGUCAUAAACCGUUU UUCAUUAUUGCUCCUGACCUCUCUUAUUGCUAUAUUA	291
<i>miR-337</i>	GUAGUCAGUAGUUGGGGGUGGGAACGGCUUCAUACAGGAGUUGAUGCACAGUU AUCCAGCUCCUUAUUGAUGCCUUUCUUAUCCCUUCAA	292
<i>miR-338</i>	UCUCCAACAUAUCCUGGUGCUGAGUGAUGACUCAGGCGACUCCAGCAUCAGUG AUUUUGUUGAAGA	293
<i>miR-339</i>	CGGGGCGGCCUCUCCCUUGUCCUCCAGGAGCUCACGUGGCCUGCCUGUGAGC GCCUCGACGACAGACCGGCGCCUGCCCCAGUGUCUGCGC	294

[0069]

前体名称	序列 (5' 至 3')*	SEQ ID NO.
<i>miR-340</i>	UUGU <u>ACCUGGUGAUU</u> AUAAAGCAAUGAGACUGAUUGUCAU <u>UGUCGUUUGUG</u> GGAU <u>CCGUCUCAGUU</u> ACUUUAUAGCCAUACCUGGUAUCUUA	295
<i>miR-342</i>	GAAACUGGGCUCAGGUGAGGGGUGCUAUCUGUGAUUGAGGGACAUGGUAAUG GAAUUGUCUCACACAGAAAU <u>CGCACCCGUCACCU</u> UGGCCUACUUA	296
<i>miR-345</i>	ACCCAAACCCUAGGUC <u>UGCUGACUCCU</u> AGUCCAGGGCUCGUGAUGGCUGGUGGG CCUGAACGAGGGGUCUGGAGGCCUGGGUUUGAAUAUCGACAGC	297
<i>miR-346</i>	GUCUGUCUGCCCGCAUGCCUGCCUCUCUGUUGCUCUGAAGGAGGCAGGGCUGG GCCUGCAGCUGCCUGGGCAGAGCGGCUC <u>CCUGC</u>	298
<i>miR-367</i>	CCAUAUCUGUUGCUAAUAUGCAACUCUGUUGAAUAUAAAUUGGAAUUGCACUUU AGCAAUGGUGAUGG	299
<i>miR-368</i>	AAAAGGUGGAUAUUC <u>CUUAUGUUUAUGUU</u> AUUAUGGUAAACAUAGAGGAA AUCCACGUUUU	300
<i>miR-369</i>	UUGAAGGGAGAUCCGACCGUGUUUAU <u>UUCGUUU</u> AUUGACUCCGAUAUAACAUG GUUGAUCUUUUCUCAG	301
<i>miR-370</i>	AGACAGAGAAGCCAGGUCAGCUCUCGAGUUACACAGCUCACGAGUGCCUGCU GGGGUGGAACCUGGUCUGUCU	302
<i>miR-371</i>	GUGGCACUCAAAUCUGGGGGCACUUUCUGCUCUCUGGUGAAAGUGCCGCCAUC UUUGAGUGUAC	303
<i>miR-372</i>	GUGGGCCUCAAAUGUGGAGCACUAUUCUGAUGUCCAAGUGGAAAGUGCUGCGAC AUUGAGCGUCAC	304
<i>miR-373</i>	GGGAUACUCAAAAUUGGGGGCGUUCCUUUUUGUCUGUACUGGGAAGUGCUUCG AUUUUGGGGUGUCCC	305
<i>miR-374</i>	UACAUCGGCCAUUAUAUAACAACCUGAUAAGUGUUUAUAGCACUUAUCAGAUUGU AUUGUAAUUGUCUGUGUA	306
<i>miR-hes1</i>	AUGGAGCUGCUCACCCUGUGGGCCUCAA <u>UUGUGGAGGA</u> CUAUUCUGAUGUCCA AGUGGAAAGUGCUGCGACA <u>UUUGAGCGUCACCGUGACG</u> CCCAUAUCA	307
<i>miR-hes2</i>	GCAUCCCCUCAGCCUGUGGCACUAAACUGUGGGGGCACUUUCUGCUCUCUGGU GAAAGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGUUACCGCUAGAGAAGACUCAACC	308
<i>miR-hes3</i>	CGAGGAGCUCAUACUGGGAUACUAAAAUGGGGGCGUUCCUUUUUGUCUGUU ACUGGGAAGUGCUUCGAUUUUGGGGUGUCCUGUUUGAGUAGGGCAUC	309

[0070] *前体序列中加下划线的序列对应着成熟的加工过的 miR 转录物 (参见表 1b)。有些前体序列具有 2 个加下划线的序列,它们表示源自相同前体的 2 种不同的成熟 miR。所有序列都是人的。

[0071] 表 1b- 人成熟微小 RNA 序列

[0072]

成熟 miRNA 名称	成熟 miRNA 序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO.	相应的前体微小 RNA; 参见表 1a
<i>let-7a</i>	ugagguaguagguuguauaguu	310	<i>let-7a-1</i> ; <i>let-7a-2</i> ; <i>let-7a-3</i> ; <i>let-7a-4</i>
<i>let-7b</i>	ugagguaguagguuguguguu	311	<i>let-7b</i>

[0073]

成熟 miRNA 名称	成熟 miRNA 序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO.	相应的前体微小 RNA; 参见表 1a
<i>let-7c</i>	ugagguaguagguuguaugguu	312	<i>let-7c</i>
<i>let-7d</i>	agagguaguagguugcauagu	313	<i>let-7d; let-7d-v1</i>
<i>let-7e</i>	ugagguaggagguuguauagu	314	<i>let-7e</i>
<i>let-7f</i>	ugagguaguagauguauagu	315	<i>let-7f-1; let-7f-2-1; let-7f-2-2</i>
<i>let-7g</i>	ugagguaguaguuguacagu	316	<i>let-7g</i>
<i>let-7i</i>	ugagguaguaguugugcu	317	<i>let-7i</i>
<i>miR-1</i>	uggaauguaaagaagua	318	<i>miR-1b; miR-1b-1; miR-1b-2</i>
<i>miR-7</i>	uggaagacuagugauuuuguu	319	<i>miR-7-1; miR-7-1a; miR-7-2; miR-7-3</i>
<i>miR-9</i>	ucuuugguuauacuagcuguauga	320	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-9*</i>	uaaagcuagauaacgaaagu	321	<i>miR-9-1; miR-9-2; miR-9-3</i>
<i>miR-10a</i>	uaccugugagaucgaaauugug	322	<i>miR-10a</i>
<i>miR-10b</i>	uaccugugagaaccgaaauugu	323	<i>miR-10b</i>
<i>miR-15a</i>	uagcagcacauaaugguuuugug	324	<i>miR-15a; miR-15a-2</i>
<i>miR-15b</i>	uagcagcacaucaugguuuaca	325	<i>miR-15b</i>
<i>miR-16</i>	uagcagcacguaaaauuggcg	326	<i>miR-16-1; miR-16-2; miR-16-13</i>
<i>miR-17-5p</i>	caaagugcuuacagucagguagu	327	<i>miR-17</i>
<i>miR-17-3p</i>	acugcagugaaggcacuugu	328	<i>miR-17</i>
<i>miR-18</i>	uaaggugcaucuagucagaua	329	<i>miR-18; miR-18-13</i>
<i>miR-19a</i>	ugugcaaaucuaugcaaaacuga	330	<i>miR-19a; miR-19a-13</i>
<i>miR-19b</i>	ugugcaaauccaugcaaaacuga	331	<i>miR-19b-1; miR-19b-2</i>
<i>miR-20</i>	uaaagugcuuauagucaggua	332	<i>miR-20 (miR-20a)</i>
<i>miR-21</i>	uagcuuauacagacugauguuga	333	<i>miR-21; miR-21-17</i>
<i>miR-22</i>	aagcugccagugaagaacugu	334	<i>miR-22</i>

[0074]

成熟 miRNA 名称	成熟 miRNA 序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO.	相应的前体微小 RNA; 参见表 1a
<i>miR-23a</i>	aucacauugccagggaauuucc	335	<i>miR-23a</i>
<i>miR-23b</i>	aucacauugccagggaauaccac	336	<i>miR-23b</i>
<i>miR-24</i>	uggcucaguuucagcaggaacag	337	<i>miR-24-1</i> ; <i>miR-24-2</i> ; <i>miR-24-19</i> ; <i>miR-24-9</i>
<i>miR-25</i>	cauugcacuugucucggucuga	338	<i>miR-25</i>
<i>miR-26a</i>	uucaaguaauccaggauaggcu	339	<i>miR-26a</i> ; <i>miR-26a-1</i> ; <i>miR-26a-2</i>
<i>miR-26b</i>	uucaaguaauccaggauaggu	340	<i>miR-26b</i>
<i>miR-27a</i>	uucacaguggcuaaguuccgcc	341	<i>miR-27a</i>
<i>miR-27b</i>	uucacaguggcuaaguucug	342	<i>miR-27b-1</i> ; <i>miR-27b-2</i>
<i>miR-28</i>	aaggagcucacagucuaauugag	343	<i>miR-28</i>
<i>miR-29a</i>	cuagcaccaucugaaaucgguu	344	<i>miR-29a-2</i> ; <i>miR-29a</i>
<i>miR-29b</i>	uagcaccauuugaaaucagu	345	<i>miR-29b-1</i> ; <i>miR-29b-2</i>
<i>miR-29c</i>	uagcaccauuugaaaucgguua	346	<i>miR-29c</i>
<i>miR-30a-5p</i>	uguaaacauccucgacuggaagc	347	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30a-3p</i>	cuuucagucggauuuugcagc	348	<i>miR-30a</i>
<i>miR-30b</i>	uguaaacauccuacacucagc	349	<i>miR-30b-1</i> ; <i>miR-30b-2</i>
<i>miR-30c</i>	uguaaacauccuacacucucagc	350	<i>miR-30c</i>
<i>miR-30d</i>	uguaaacaucuccgacuggaag	351	<i>miR-30d</i>
<i>miR-30e</i>	uguaaacauccuugacugga	352	<i>miR-30e</i>
<i>miR-31</i>	ggcaagaucuggcauagcug	353	<i>miR-31</i>
<i>miR-32</i>	uauugcacauuacuaaguugc	354	<i>miR-32</i>
<i>miR-33</i>	gugcauuguaguugcauug	355	<i>miR-33</i> ; <i>miR-33b</i>
<i>miR-34a</i>	uggcagugucuuaugcugguugu	356	<i>miR-34a</i>
<i>miR-34b</i>	aggcagugucauuagcugauug	357	<i>miR-34b</i>
<i>miR-34c</i>	aggcaguguaguuaugcugauug	358	<i>miR-34c</i>
<i>miR-92</i>	uauugcacuugucccgccugu	359	<i>miR-92-2</i> ; <i>miR-92-1</i>
<i>miR-93</i>	aaagugcuguucgugcagguag	360	<i>miR-93-1</i> ; <i>miR-93-2</i>
<i>miR-95</i>	uucaacggguauuuuauugagca	361	<i>miR-95</i>

[0075]

成熟 miRNA 名称	成熟 miRNA 序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO.	相应的前体微小 RNA; 参见表 1a
<i>miR-96</i>	uuuggcacuaagcacaauuuugc	362	<i>miR-96</i>
<i>miR-98</i>	ugagguaguaaguuguauuguu	363	<i>miR-98</i>
<i>miR-99a</i>	aacccguagaucggaucuuugug	364	<i>miR-99a</i>
<i>miR-99b</i>	cacccguagaaccgaccuugcg	365	<i>miR-99b</i>
<i>miR-100</i>	uacaguacugugauaacugaag	366	<i>miR-100</i>
<i>miR-101</i>	uacaguacugugauaacugaag	367	<i>miR-101-1; miR-101-2</i>
<i>miR-103</i>	agcagcauuguacagggcuaua	368	<i>miR-103-1</i>
<i>miR-105</i>	ucaaauugcucagacuccugu	369	<i>miR-105</i>
<i>miR-106-a</i>	aaaagugcuuacagugcagguagc	370	<i>miR-106-a</i>
<i>miR-106-b</i>	uaaagugcugacagugcagau	371	<i>miR-106-b</i>
<i>miR-107</i>	agcagcauuguacagggcuaua	372	<i>miR-107</i>
<i>miR-122a</i>	uggagugugacaaugguguuugu	373	<i>miR-122a-1; miR-122a-2</i>
<i>miR-124a</i>	uuuaggcacgcggugaaugcca	374	<i>miR-124a-1; miR-124a-2; miR-124a-3</i>
<i>miR-125a</i>	ucccugagaccuuuaaccugug	375	<i>miR-125a-1; miR-125a-2</i>
<i>miR-125b</i>	ucccugagaccuuuaaccuguga	376	<i>miR-125b-1; miR-125b-2</i>
<i>miR-126*</i>	cauuuuuacuuuugguacgcg	377	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-126</i>	ucguaccgugaguuuaaagc	378	<i>miR-126-1; miR-126-2</i>
<i>miR-127</i>	ucggaucgucugagcuuggcu	379	<i>miR-127-1; miR-127-2</i>
<i>miR-128a</i>	ucacagugaaccggucucuuuu	380	<i>miR-128; miR-128a</i>
<i>miR-128b</i>	ucacagugaaccggucucuuuc	381	<i>miR-128b</i>
<i>miR-129</i>	cuuuuugcggucugggcuugc	382	<i>miR-129-1; miR-129-2</i>
<i>miR-130a</i>	cagugcaauguuuaaagggc	383	<i>miR-130a</i>

[0076]

成熟 miRNA 名称	成熟 miRNA 序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO.	相应的前体微小 RNA; 参见表 1a
<i>miR-130b</i>	cagugcaaugaugaaagggcau	384	<i>miR-130b</i>
<i>miR-132</i>	uaacagucuaacagccauggucg	385	<i>miR-132-1</i>
<i>miR-133a</i>	uugguccccuuaaccagcugu	386	<i>miR-133a-1; miR-133a-2</i>
<i>miR-133b</i>	uugguccccuuaaccagcua	387	<i>miR-133b</i>
<i>miR-134</i>	ugugacugguugaccagaggg	388	<i>miR-134-1; miR-134-2</i>
<i>miR-135a</i>	uauggcuuuuuauuccuauguga	389	<i>miR-135a; miR-135a-2</i> (<i>miR-135-2</i>)
<i>miR-135b</i>	uauggcuuuucauuccuaugug	390	<i>miR-135b</i>
<i>miR-136</i>	acuccauuuguuuugaugaugga	391	<i>miR-136-1; miR-136-2</i>
<i>miR-137</i>	uaauugcuuaagaauacgcguag	392	<i>miR-137</i>
<i>miR-138</i>	agcugguguugugaauc	393	<i>miR-138-1; miR-138-2</i>
<i>miR-139</i>	ucuaacagucacgugucu	394	<i>miR-139</i>
<i>miR-140</i>	agugguuuuacccuaugguag	395	<i>miR-140; miR-140as;</i> <i>miR-140s</i>
<i>miR-141</i>	aacacugucugguaaagaugg	396	<i>miR-141-1; miR-141-2</i>
<i>miR-142-3p</i>	uguaguguuuccuacuuuaugga	397	<i>miR-142</i>
<i>miR-142-5p</i>	cauaaaguagaaagcacuac	398	<i>miR-142</i>
<i>miR-143</i>	ugagaugaagcacuguagcuca	399	<i>miR-143-1</i>
<i>miR-144</i>	uacagauagaugauguacuag	400	<i>miR-144-1; miR-144-2</i>
<i>miR-145</i>	guccaguuuuuccaggaaucccuu	401	<i>miR-145-1; miR-145-2</i>
<i>miR-146</i>	ugagaacugaaauccauggguu	402	<i>miR-146-1; miR-146-2</i>
<i>miR-147</i>	guguguggaaaugcuucugc	403	<i>miR-147</i>
<i>miR-148a</i>	ucagugcacuacagaacuuugu	404	<i>miR-148a (miR-148)</i>
<i>miR-148b</i>	ucagugcaucacagaacuuugu	405	<i>miR-148b</i>
<i>miR-149</i>	ucuggcuccgugucuucacucc	406	<i>miR-149</i>

[0077]

成熟 miRNA 名称	成熟 miRNA 序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO.	相应的前体微小 RNA; 参见表 1a
<i>miR-150</i>	ucucccaacccuuguaccagug	407	<i>miR-150-1; miR-150-2</i>
<i>miR-151</i>	acuagacugaagcuccuugagg	408	<i>miR-151</i>
<i>miR-152</i>	ucagugcaugacagaacuugg	409	<i>miR-152-1; miR-152-2</i>
<i>miR-153</i>	uugcauagucacaaaaguga	410	<i>miR-153-1-1;</i> <i>miR-153-1-2;</i> <i>miR-153-2-1;</i> <i>miR-153-2-2</i>
<i>miR-154</i>	uagguuauccguguugccuucg	411	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-154*</i>	aaucauacacggugaccuauu	412	<i>miR-154-1; miR-154-2</i>
<i>miR-155</i>	uuauugcuaaucgugauagggg	413	<i>miR-155</i>
<i>miR-181a</i>	aacauucaacgcugucggugagu	414	<i>miR-181a</i>
<i>miR-181b</i>	aacauucauugcugucgguggguu	415	<i>miR-181b-1; miR-181b-2</i>
<i>miR-181c</i>	aacauucaaccugucggugagu	416	<i>miR-181c</i>
<i>miR-182</i>	uuuggcaaugguagaacucaca	417	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-182*</i>	ugguucuaagacuugccaacua	418	<i>miR-182; miR-182as</i>
<i>miR-183</i>	uauggcacugguagaauucacug	419	<i>miR-183</i>
<i>miR-184</i>	uggacggagaacugauaaggu	420	<i>miR-184-1; miR-184-2</i>
<i>miR-185</i>	uggagagaaaggcaguuc	421	<i>miR-185-1; miR-185-2</i>
<i>miR-186</i>	caaagaauucuccuuuugggcuu	422	<i>miR-186-1; miR-186-2</i>
<i>miR-187</i>	ucgugucuuguguugcagccg	423	<i>miR-187</i>
<i>miR-188</i>	caucccuugcaugguggaggggu	424	<i>miR-188</i>
<i>miR-189</i>	gugccuacugagcugauaucagu	425	<i>miR-189-1; miR-189-2</i>
<i>miR-190</i>	ugauauguuugauauuuaggu	426	<i>miR-190-1; miR-190-2</i>
<i>miR-191</i>	caacggaaucccaaaagcagcu	427	<i>miR-191-1; miR-191-2</i>

[0078]

成熟 miRNA 名称	成熟 miRNA 序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO.	相应的前体微小 RNA; 参见表 1a
<i>miR-192</i>	cugaccuaugaaugacagcc	428	<i>miR-192</i>
<i>miR-193</i>	aacuggccuacaaaguuccag	429	<i>miR-193-1</i> ; <i>miR-193-2</i>
<i>miR-194</i>	uguaacagcaacuccaugugga	430	<i>miR-194-1</i> ; <i>miR-194-2</i>
<i>miR-195</i>	uagcagcacagaaauuuggc	431	<i>miR-195-1</i> ; <i>miR-195-2</i>
<i>miR-196a</i>	uagguaguuucauguuguugg	432	<i>miR-196a</i> ; <i>miR-196a-2</i> (<i>miR196-2</i>)
<i>miR-196b</i>	uagguaguuuuccuguuguugg	433	<i>miR-196b</i>
<i>miR-197</i>	uucaccaccuucuccaccagc	434	<i>miR-197</i>
<i>miR-198</i>	gguccagaggggagauagg	435	<i>miR-198</i>
<i>miR-199a</i>	cccaguguucagacuaccuguuc	436	<i>miR-199a-1</i> ; <i>miR-199a-2</i>
<i>miR-199a*</i>	uacaguagucugcacauugguu	437	<i>miR-199a-1</i> ; <i>miR-199a-2</i> ; <i>miR-199s</i> ; <i>miR-199b</i>
<i>miR-199b</i>	cccaguguuuagacuucuguuc	438	<i>miR-199b</i>
<i>miR-200a</i>	uaacacugucugguaacgaugu	439	<i>miR-200a</i>
<i>miR-200b</i>	cucuaauacugccugguaaugaug	440	<i>miR-200b</i>
<i>miR-200c</i>	aaucugccgguaaugaugga	441	<i>miR-200c</i>
<i>miR-202</i>	agagguaugggcaugggaaga	442	<i>miR-202</i>
<i>miR-203</i>	gugaauguuuaggaccacuag	443	<i>miR-203</i>
<i>miR-204</i>	uuccuuugucauccuugccu	444	<i>miR-204</i>
<i>miR-205</i>	uccuucanuccaccggagucug	445	<i>miR-205</i>
<i>miR-206</i>	uggaauguaaggaagugugugg	446	<i>miR-206-1</i> ; <i>miR-206-2</i>
<i>miR-208</i>	auaagacgagcaaaaagcuugu	447	<i>miR-208</i>
<i>miR-210</i>	cugugcgugugacagcggcug	448	<i>miR-210</i>
<i>miR-211</i>	uucccuuugucauccuucgccu	449	<i>miR-211</i>

[0079]

成熟 miRNA 名称	成熟 miRNA 序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO.	相应的前体微小 RNA; 参见表 1a
<i>miR-212</i>	uaacagucuccagucacggcc	450	<i>miR-212</i>
<i>miR-213</i>	accaucgaccguugauuguacc	451	<i>miR-213</i>
<i>miR-214</i>	acagcaggcacagacaggcag	452	<i>miR-214</i>
<i>miR-215</i>	augaccuaugaaugacagac	453	<i>miR-215</i>
<i>miR-216</i>	uaaucucagcuggcaacugug	454	<i>miR-216</i>
<i>miR-217</i>	uacugcaucaggaacugauuggau	455	<i>miR-217</i>
<i>miR-218</i>	uugugcuugaucuaaccaugu	456	<i>miR-218-1</i> ; <i>miR-218-2</i>
<i>miR-219</i>	ugauuguccaaacgcaauucu	457	<i>miR-219</i> ; <i>miR-219-1</i> ; <i>miR-219-2</i>
<i>miR-220</i>	ccacaccguaucugacacuuu	458	<i>miR-220</i>
<i>miR-221</i>	agcuacauugucugcuggguuuc	459	<i>miR-221</i>
<i>miR-222</i>	agcuacaucuggcuacugggucuc	460	<i>miR-222</i>
<i>miR-223</i>	ugucaguuuugcaaaauacccc	461	<i>miR-223</i>
<i>miR-224</i>	caagucacuagugguuccguua	462	<i>miR-224</i>
<i>miR-296</i>	agggcccccccucaauccugu	463	<i>miR-296</i>
<i>miR-299</i>	ugguuuaccguccacauacau	464	<i>miR-299</i>
<i>miR-301</i>	cagugcaauaguaauugcaaaagc	465	<i>miR-301</i>
<i>miR-302a</i>	uaagugcuuccauguuuugguga	466	<i>miR-302a</i>
<i>miR-302b*</i>	acuuuaacauggaagugcuuucu	467	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302b</i>	uaagugcuuccauguuuaguag	468	<i>miR-302b</i>
<i>miR-302c*</i>	uuuaacauggggguaccugcug	469	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302c</i>	uaagugcuuccauguuucagugg	470	<i>miR-302c</i>
<i>miR-302d</i>	uaagugcuuccauguuugagugu	471	<i>miR-302d</i>
<i>miR-320</i>	aaaagcuggguugagaggcgaa	472	<i>miR-320</i>
<i>miR-321</i>	uaagccagggaauuguggguuc	473	<i>miR-321</i>
<i>miR-323</i>	gcacauuacacggucgaccucu	474	<i>miR-323</i>
<i>miR-324-5p</i>	cgcauccccuagggcauuggugu	475	<i>miR-324</i>
<i>miR-324-3p</i>	ccacugccccaggugcugcugg	476	<i>miR-324</i>
<i>miR-325</i>	ccuaguaagguguccaguaagu	477	<i>miR-325</i>
<i>miR-326</i>	ccucuggggcccuuccuccag	478	<i>miR-326</i>
<i>miR-328</i>	cuggcccucucugcccuuccgu	479	<i>miR-328</i>

[0080]

成熟 miRNA 名称	成熟 miRNA 序列 (5' 至 3')	SEQ ID NO.	相应的前体微小 RNA; 参见表 1a
<i>miR-330</i>	gcaaagcacacggccugcagaga	480	<i>miR-330</i>
<i>miR-331</i>	gccccugggccuauccuagaa	481	<i>miR-331</i>
<i>miR-335</i>	ucaagagcaauaacgaaaaugu	482	<i>miR-335</i>
<i>miR-337</i>	uccagcuccuauaugaugccuuu	483	<i>miR-337</i>
<i>miR-338</i>	uccagcaucagugauuuuguuga	484	<i>miR-338</i>
<i>miR-339</i>	ucccuguccuccaggagcuca	485	<i>miR-339</i>
<i>miR-340</i>	uccgucucaguuacuuuauagcc	486	<i>miR-340</i>
<i>miR-342</i>	ucucacacagaaaucgcacccguc	487	<i>miR-342</i>
<i>miR-345</i>	ugcugacuccuaguccagggc	488	<i>miR-345</i>
<i>miR-346</i>	ugucugcccgaugccugccucu	489	<i>miR-346</i>
<i>miR-367</i>	aauugcacuuuagcaaugguga	490	<i>miR-367</i>
<i>miR-368</i>	acauagaggaaaauccacguuu	491	<i>miR-368</i>
<i>miR-369</i>	aaauaauacaugguugaucuuu	492	<i>miR-369</i>
<i>miR-370</i>	gccugcugggguggaaccugg	493	<i>miR-370</i>
<i>miR-371</i>	gugccgccaucuuuugagugu	494	<i>miR-371</i>
<i>miR-372</i>	aaagugcugcgacauuugagcgu	495	<i>miR-372</i>
<i>miR-373*</i>	acucaaaaugggggcgcuucc	496	<i>miR-373</i>
<i>miR-373</i>	gaagugcuucgauuuuggggugu	497	<i>miR-373</i>
<i>miR-374</i>	uuauaauacaaccugauaagug	498	<i>miR-374</i>

[0081] 本发明包括诊断受试者是否患有实体癌或处于发生实体癌的风险中的方法，该方法包括测量来自受试者的测试样品中的至少一种 miR 基因产物的水平，和将测试样品中的 miR 基因产物的水平与对照样品中相应的 miR 基因产物的水平进行比较。如本文所用的，“受试者”可以是患有或怀疑患有实体癌的任何哺乳动物。在一个优选的实施方案中，受试者是患有或怀疑患有实体癌的人。

[0082] 在一个实施方案中，在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物选自：miR-21，miR-17-5p，miR-191，miR-29b-2，miR-223，miR-128b，miR-199a-1，miR-24-1，miR-24-2，miR-146，miR-155，miR-181b-1，miR-20a，miR-107，miR-32，miR-92-2，miR-214，miR-30c，miR-25，miR-221，miR-106a 和其组合。在一个特定的实施方案中，所述 miR 基因产物是 miR-21，miR-191 或 miR-17-5p。在另一个实施方案中，所述 miR 基因产物不是 miR-15a 或 miR-16-1。在另一个实施方案中，所述 miR 基因产物不是 miR159-1 或 miR-192。在另一个实施方案中，所述 miR 基因产物不是 miR-186，miR-101-1，miR-194，miR-215，miR-106b，miR-25，miR-93，miR-29b，miR-29a，miR-96，miR-182s，miR-182as，miR-183，miR-129-1，let-7a-1，let-7d，let-7f-1，miR-23b，miR-24-1，miR-27b，miR-32，miR-159-1，miR-192，miR-125b-1，let-7a-2，miR-100，miR-196-2，miR-148b，miR-190，miR-21，miR-301，miR-142s，miR-142as，miR-105-1，或 miR-175。在另一个实施方案中，所述 miR 基因产物不是 miR-21，miR-301，miR-142as，miR-142s，miR-194，miR-215，或 miR-32。在另一个实施方案中，所述 miR 基因产物不是 miR-148，miR-10a，miR-196-1，miR-152，miR-196-2，miR-148b，miR-10b，miR-129-1，miR-153-2，miR-202，miR-139，let-7a，let-7f，或 let-7d。在另一个实施方案中，所述 miR 基因产物不是 miR-15a，miR-16-1，miR-182，miR-181，

miR-30, miR-15a, miR-16-1, miR-15b, miR-16-2, miR-195, miR-34, miR-153, miR-21, miR-217, miR-205, miR-204, miR-211, miR-143, miR-96, miR-103, miR-107, miR-129, miR-9, miR-137, miR-217, miR-186。

[0083] 所述实体癌可以是源自器官和实体组织的任意癌症。这样的癌症通常伴随肿瘤块的形成和/或存在,可以是癌、肉瘤和淋巴瘤。要通过本发明的方法诊断的实体癌的特定实例包括、但不限于,结肠癌,直肠癌,胃癌,胰腺癌,乳腺癌,肺癌,前列腺癌,支气管癌,睾丸癌,卵巢癌,子宫癌,阴茎癌,黑素瘤和其它皮肤癌,肝癌,食道癌,口腔和咽癌(例如舌癌,口腔癌),消化系统癌(例如肠癌,胆囊癌),骨和关节癌,内分泌系统癌(例如甲状腺癌),脑癌,眼癌,泌尿系统癌(例如肾癌,膀胱癌),霍奇金病和非霍奇金淋巴瘤。在具体实施方案中,所述实体癌不是下述的一种或多种:乳腺癌,肺癌,前列腺癌,胰腺癌或胃肠癌。

[0084] 在一个实施方案中,所述实体癌是乳腺癌或肺癌,且在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物选自:miR-210, miR-213 和其组合。

[0085] 在另一个实施方案中,所述实体癌是结肠癌,胃癌,前列腺癌或胰腺癌,且在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物是 miR-218-2。

[0086] 在本发明的一个特定实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物选自:miR-125b-1, miR-125b-2, miR-145, miR-21 和其组合。在一个相关实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且测试样品中的至少一种 miR 基因产物选自:miR-21, miR-29b-2, miR-146, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-10b, miR-145, miR-181a, miR-140, miR-213, miR-29a prec, miR-181b-1, miR-199b, miR-29b-1, miR-130a, miR-155, let-7a-2, miR-205, miR-29c, miR-224, miR-100, miR-31, miR-30c, miR-17-5p, miR-210, miR-122a, miR-16-2 和其组合。在一个相关实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且所述至少一种 miR 基因产物不是 miR-15a 或 miR-16-1。在另一个实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且所述至少一种 miR 基因产物不是 miR-145, miR-21, miR-155, miR-10b, miR-125b-1, miR-125b-2, let7a-2, let7a-3, let-7d, miR-122a, miR-191, miR-206, miR-210, let-7i, miR-009-1(miR131-1), miR-34(miR-170), miR-102(miR-29b), miR-123(miR-126), miR-140-as, miR-125a, miR-194, miR-204, miR-213, let-7f-2, miR-101, miR-128b, miR-136, miR-143, miR-149, miR-191, miR-196-1, miR-196-2, miR-202, miR-103-1, 或 miR-30c。在另一个实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-21, miR-125b-1, let-7a-2, let-7i, miR-100, let-7g, miR-31, miR-32a-1, miR-33b, miR-34a-2, miR-101-1, miR-135-1, miR-142as, miR-142s, miR-144, miR-301, miR-29c, miR-30c, miR-106a, 或 miR-29b-1。在另一个实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-159-1 或 miR-192。在另一个实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1, 或 miR-175。在另一个实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215, 或 miR-32。在另一个实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-148, miR-10a, miR-196-1,

miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f, 或 let-7d。在另一个实施方案中,所述实体癌是乳腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 或 miR-137。

[0087] 在另一个实施方案中,所述实体癌是结肠癌,且测试样品中的至少一种 miR 基因产物选自:miR-24-1, miR-29b-2, miR-20a, miR-10a, miR-32, miR-203, miR-106a, miR-17-5p, miR-30c, miR-223, miR-126*, miR-128b, miR-21, miR-24-2, miR-99b prec, miR-155, miR-213, miR-150, miR-107, miR-191, miR-221, miR-9-3 和其组合。在另一个实施方案中,所述实体癌是结肠癌,且所述 miR 基因产物不是 miR159-1 或 miR-192。在另一个实施方案中,所述实体癌是结肠癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1, 或 miR-175。在另一个实施方案中,所述实体癌是结肠癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215, 或 miR-32。在另一个实施方案中,所述实体癌是结肠癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f, 或 let-7d。在另一个实施方案中,所述实体癌是结肠癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 或 miR-137。

[0088] 在另一个实施方案中,所述实体癌是肺癌,且测试样品中的 miR 基因产物选自:miR-21, miR-205, miR-200b, miR-9-1, miR-210, miR-148, miR-141, miR-132, miR-215, miR-128b, let-7g, miR-16-2, miR-129-1/2prec, miR-126*, miR-142-as, miR-30d, miR-30a-5p, miR-7-2, miR-199a-1, miR-127, miR-34a prec, miR-34a, miR-136, miR-202, miR-196-2, miR-199a-2, let-7a-2, miR-124a-1, miR-149, miR-17-5p, miR-196-1prec, miR-10a, miR-99b prec, miR-196-1, miR-199b, miR-191, miR-195, miR-155 和其组合。在一个相关实施方案中,所述实体癌是肺癌,且所述至少一种 miR 基因产物不是 miR-15a 或 miR-16-1。在另一个实施方案中,所述实体癌是肺癌,且所述至少一种 miR 基因产物不是 miR-21, miR-191, miR-126*, miR-210, miR-155, miR-143, miR-205, miR-126, miR-30a-5p, miR-140, miR-214, miR-218-2, miR-145, miR-106a, miR-192, miR-203, miR-150, miR-220, miR-192, miR-224, miR-24-2, miR-212, miR-9, miR-17, miR-124a-1, miR-95, miR-198, miR-216, miR-219-1, miR-197, miR-125a, miR-26a-1, miR-146, miR-199b, let7a-2, miR-27b, miR-32, miR-29b-2, miR-33, miR-181c, miR-101-1, miR-124a-3, miR-125b-1 或 let7f-1。在另一个实施方案中,所述实体癌是肺癌,且所述至少一种 miR 基因产物不是 miR-21, miR-182, miR-181, miR-30, miR-15a, miR-143, miR-205, miR-96, miR-103, miR-107, miR-129, miR-137, miR-186, miR-15b, miR-16-2, miR-195, miR-34, miR-153, miR-217, miR-204, miR-211, miR-9, miR-217, let-7a-2 或 miR-32。在另一个实施方案中,所述实体癌是肺癌,且所述 miR 基因产物不是 let-7c, let-7g, miR-7-3, miR-210, miR-31, miR-34a-1,

miR-a-2, miR-99a, miR-100, miR-125b-2, miR-132, miR-135-1, miR-195, miR-34, miR-123, miR-203。在另一个实施方案中,所述实体癌是肺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR159-1 或 miR-192。在另一个实施方案中,所述实体癌是肺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1, 或 miR-175。在另一个实施方案中,所述实体癌是肺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215, 或 miR-32。在另一个实施方案中,所述实体癌是肺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f, 或 let-7d。在另一个实施方案中,所述实体癌是肺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 或 miR-137。

[0089] 在另一个实施方案中,所述实体癌是胰腺癌,且在测试样品中测量的至少一种 miR 基因产物选自:miR-103-1, miR-103-2, miR-155, miR-204 和其组合。在一个相关实施方案中,所述实体癌是胰腺癌,且测试样品中的 miR 基因产物选自:miR-103-2, miR-103-1, miR-24-2, miR-107, miR-100, miR-125b-2, miR-125b-1, miR-24-1, miR-191, miR-23a, miR-26a-1, miR-125a, miR-130a, miR-26b, miR-145, miR-221, miR-126*, miR-16-2, miR-146, miR-214, miR-99b, miR-128b, miR-155, miR-29b-2, miR-29a, miR-25, miR-16-1, miR-99a, miR-224, miR-30d, miR-92-2, miR-199a-1, miR-223, miR-29c, miR-30b, miR-129-1/2, miR-197, miR-17-5p, miR-30c, miR-7-1, miR-93-1, miR-140, miR-30a-5p, miR-132, miR-181b-1, miR-152prec, miR-23b, miR-20a, miR-222, miR-27a, miR-92-1, miR-21, miR-129-1/2prec, miR-150, miR-32, miR-106a, miR-29b-1 和其组合。在一个实施方案中,所述实体癌是胰腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-15a 或 miR-16-1。在另一个实施方案中,所述实体癌是胰腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR159-1 或 miR-192。在另一个实施方案中,所述实体癌是胰腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1, 或 miR-175。在另一个实施方案中,所述实体癌是胰腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215, 或 miR-32。在另一个实施方案中,所述实体癌是胰腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f, 或 let-7d。在另一个实施方案中,所述实体癌是胰腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 或 miR-137。

[0090] 在另一个实施方案中,所述实体癌是前列腺癌,且测试样品中的 miR 基因产物

选自:let-7d, miR-128a prec, miR-195, miR-203, let-7a-2prec, miR-34a, miR-20a, miR-218-2, miR-29a, miR-25, miR-95, miR-197, miR-135-2, miR-187, miR-196-1, miR-148, miR-191, miR-21, let-7i, miR-198, miR-199a-2, miR-30c, miR-17-5p, miR-92-2, miR-146, miR-181b-lprec, miR-32, miR-206, miR-184prec, miR-29a prec, miR-29b-2, miR-149, miR-181b-1, miR-196-lprec, miR-93-1, miR-223, miR-16-1, miR-101-1, miR-124a-1, miR-26a-1, miR-214, miR-27a, miR-24-1, miR-106a, miR-199a-1 和其组合。在一个相关实施方案中,所述实体癌是前列腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-15a 或 miR-16-1。在另一个实施方案中,所述实体癌是前列腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR159-1 或 miR-192。在另一个实施方案中,所述实体癌是前列腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1, 或 miR-175。在另一个实施方案中,所述实体癌是前列腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215, 或 miR-32。在另一个实施方案中,所述实体癌是前列腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f, 或 let-7d。在另一个实施方案中,所述实体癌是前列腺癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 或 miR-137。

[0091] 在另一个实施方案中,所述实体癌是胃癌,且测试样品中的 miR 基因产物选自: miR-223, miR-21, miR-218-2, miR-103-2, miR-92-2, miR-25, miR-136, miR-191, miR-221, miR-125b-2, miR-103-1, miR-214, miR-222, miR-212prec, miR-125b-1, miR-100, miR-107, miR-92-1, miR-96, miR-192, miR-23a, miR-215, miR-7-2, miR-138-2, miR-24-1, miR-99b, miR-33b, miR-24-2 和其组合。在一个相关实施方案中,所述实体癌是胃癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-15a 或 miR-16-1。在另一个实施方案中,所述实体癌是胃癌,且所述 miR 基因产物不是 miR159-1 或 miR-192。在另一个实施方案中,所述实体癌是胃癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1, 或 miR-175。在另一个实施方案中,所述实体癌是胃癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215, 或 miR-32。在另一个实施方案中,所述实体癌是胃癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f, 或 let-7d。在另一个实施方案中,所述实体癌是胃癌,且所述 miR 基因产物不是 miR-181b, miR-181c, miR-181d, miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-153-1, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-129-2, miR-9 或 miR-137。

[0092] 可以测量从受试者得到的生物样品(例如细胞,组织)中的至少一种 miR 基因产

物的水平。例如,通过常规活组织检查技术,可以从被怀疑患有实体癌的受试者取出组织样品(例如来自肿瘤)。在另一个实施方案中,可以从受试者取出血液样品,并可通过标准技术,分离血细胞(例如白细胞)用于DNA提取。优选地,在放疗、化疗或其它治疗性处理开始之前,从受试者得到血液或组织样品。相应的对照组织或血液样品可以从受试者的未受影响的组织、从正常人个体或正常个体的群体、或从与受试者样品中大多数细胞相对应的培养细胞得到。然后与来自受试者的样品一起,加工处理对照组织或血液样品,从而可以将来自受试者样品的细胞中从给定miR基因产生的miR基因产物的水平与来自对照样品的细胞的相应miR基因产物水平相对比。也可以将生物样品的参照miR表达标准用作对照。

[0093] 与对照样品中的相应的miR基因产物的水平相比,从受试者得到的样品中miR基因产物的水平的改变(即,增加或降低),指示着在受试者中存在实体癌。在一个实施方案中,测试样品中至少一种miR基因产物的水平大于对照样品中的相应的miR基因产物的水平(即,miR基因产物的表达被“增量调节”)。如本文使用的,当来自受试者的细胞或组织样品中miR基因产物的量大于对照细胞或组织样品中相同基因产物的量时,该miR基因产物的表达被“增量调节”。在另一个实施方案中,测试样品中至少一种miR基因产物的水平小于对照样品中的相应的miR基因产物的水平(即,miR基因产物的表达被“减量调节”)。如本文使用的,当从来自受试者的细胞或组织样品的基因产生的miR基因产物的量小于从对照细胞或组织样品中相同基因产生的量时,该miR基因产物的表达被“减量调节”。可以想对于一种或多种RNA表达标准,测定对照和正常样品中的相对miR基因表达。所述标准包含,例如,零miR基因表达水平,标准细胞系中的miR基因表达水平,受试者的未受影响的组织中miR基因表达水平,或以前对正常人对照群体得到的miR基因表达的平均水平。

[0094] 使用适用于检测生物样品中的RNA表达水平的任意技术,可以测量样品中miR基因产物的水平。用于测定生物样品(例如,细胞,组织)中RNA表达水平的合适技术(例如,RNA印迹分析,RT-PCR,原位杂交)是本领域技术人员众所周知的。在一个具体的实施方案中,使用RNA印迹分析,检测至少一种miR基因产物的水平。例如,可以如下从细胞纯化总细胞RNA:在有核酸提取缓冲液存在下匀浆,随后离心。沉淀核酸,通过用DNA酶处理和沉淀,去除DNA。然后根据标准技术,通过琼脂糖凝胶上的凝胶电泳分离RNA分子,并转移至硝酸纤维素滤膜。然后通过加热,将RNA固定化在滤膜上。使用与目标RNA互补的适当标记的DNA或RNA探针,进行对特定RNA的检测和定量。参见,例如,Molecular Cloning:A Laboratory Manual, J. Sambrook等人编,第2版,Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Chapter7,其所有公开内容通过参考引用并入本文。

[0095] 从表1a和表1b中提供的核酸序列,可以生成用于给定miR基因产物的RNA印迹杂交的合适探针,包括、但不限于,与目标miR基因产物具有至少约70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%或完全互补性的探针。标记的DNA和RNA探针的制备方法,和其与靶核苷酸序列的杂交的条件,描述在Molecular Cloning:A Laboratory Manual, J. Sambrook等人编,第2版,Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, Chapters10和11,其所有公开内容都通过参考引用并入本文。

[0096] 例如,核酸探针用下述物质标记,例如,放射性核素,例如 ^3H , ^{32}P , ^{33}P , ^{14}C , 或 ^{35}S ; 重金属;能起到标记配体的特异性结合对成员功能的配体(例如,生物素,抗生物素蛋白或抗体);荧光分子;化学发光分子;酶等。

[0097] 通过 Rigby 等人 (1977), J. Mol. Biol. 113:237-251 的切口平移方法, 或通过 Fienberg 等人 (1983), Anal. Biochem. 132:6-13 的随机引物法, 可以将探针标记成高比放射性, 所述文献的所有公开内容都通过参考引用并入本文。后者是从单链 DNA 或从 RNA 模板合成高比放射性的 ^{32}P - 标记的探针的选择方法。例如, 通过根据切口平移方法用高放射性的核苷酸替换现有的核苷酸, 可以制备比放射性大大超过 10^8cpm/微克 的 ^{32}P - 标记的核酸探针。然后通过使杂交的滤膜曝光于照相胶片, 可以进行杂交的放射自显影检测。对杂交的滤膜曝光的照相胶片的光密度扫描, 会提供 miR 基因转录物水平的精确测量。使用另一个方案, 通过计算机化成像系统, 例如可从 Amersham Biosciences, Piscataway, NJ 得到的 Molecular Dynamics400-B2D 磷光计, 可以定量 miR 基因转录物水平。

[0098] 当 DNA 或 RNA 探针的放射性核素标记不可行时, 随机 - 引物方法可以用于将类似物例如 dTTP 类似物 5-(N-(N-生物素基 - ϵ - 氨基己酰基) - 3- 氨基烯丙基) 脱氧尿苷三磷酸掺入探针分子中。通过与生物素 - 结合蛋白 (例如抗生物素蛋白、链霉抗生物素和抗体 (例如, 抗 - 生物素抗体), 其偶联到荧光染料或产生颜色反应的酶上) 的反应, 可以检测生物素化的探针寡核苷酸。

[0099] 除了 RNA 印迹和其它 RNA 杂交技术以外, 使用原位杂交技术, 可以测定 RNA 转录物的水平。该技术需要比 RNA 印迹技术更少的细胞, 包括将整个细胞放置在显微镜盖玻片上, 用含有放射性的或其它标记的核酸 (例如, cDNA 或 RNA) 探针的溶液探测细胞的核酸内容物。该技术特别适用于分析来自受试者的组织活检样品。原位杂交技术的实践更详细地描述在美国专利号 5, 427, 916, 其全部公开内容通过参考引用并入本文。从表 1a 和表 1b 中提供的核酸序列, 可以生成适用于给定 miR 基因产物的原位杂交的探针, 包括、但不限于, 与目标 miR 基因产物具有至少约 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99% 或完全互补性的探针, 如上所述。

[0100] 通过逆转录 miR 基因转录物, 随后通过聚合酶链式反应 (RT-PCR) 扩增逆转录的转录物, 也可以测定细胞中 miR 基因转录物的相对数目。可通过与内部标准例如来自存在于相同样品中的“管家”基因的 mRNA 的水平比较, 来定量 miR 基因转录物的水平。用作内部标准的合适的“管家”基因包括例如肌球蛋白或甘油醛 - 3- 磷酸脱氢酶 (G3PDH)。用于定量和半 - 定量 RT-PCR 的方法和其变化形式, 是本领域技术人员众所周知的。

[0101] 在一些情况下, 可能希望同时测定样品中许多不同 miR 基因产物的表达水平。在其它情况下, 可能希望测定所有已知的与癌症相关的 miR 基因的转录物的表达水平。评估数百个 miR 基因或基因产物的癌症特异性表达水平是非常耗时的, 并且需要大量总 RNA (对于每个 RNA 印迹至少 $20\mu\text{g}$) 和需要放射性同位素的放射自显影技术。

[0102] 为克服这些限制, 可构建微芯片形式 (即, 微阵列) 的寡物文库, 其包含对于一组 miR 基因特异性的一组寡核苷酸 (例如, 寡脱氧核苷酸) 探针。通过使用该微阵列, 可通过逆转录 RNA 以产生一组靶寡脱氧核苷酸, 然后使其与微阵列上的探针寡脱氧核苷酸杂交, 从而产生杂交或表达谱, 来测定生物样品中多种微小 RNA 的表达水平。然后可将测试样品的杂交谱与对照样品进行比较, 以确定在实体癌细胞中具有改变的表达水平的微小 RNA。如本文所用的, “探针寡核苷酸”或“探针寡脱氧核苷酸”是指能够与靶寡核苷酸杂交的寡核苷酸。“靶寡核苷酸”或“靶寡脱氧核苷酸”是指待检测 (例如通过杂交) 的分子。“miR- 特异性的探针寡核苷酸”或“对 miR 特异性的探针寡核苷酸”是指具有经选择与特定 miR 基因产

物杂交或与该特定 miR 基因产物的逆转录物杂交的序列的探针寡核苷酸。

[0103] 特定样品的“表达谱”(expression profile)或“杂交谱”(hybridization profile)基本上是样品的状态的指纹图谱;尽管两种状态可具有相似表达的任何特定基因,但同时评估多个基因可允许产生对于细胞状态独特的基因表达谱。即,正常组织可与癌(例如肿瘤)组织区别,并且在癌组织内,可确定不同的预后状态(例如,良好的或较差的长期存活希望)。通过比较不同状态中的实体癌组织的表达谱,可获得关于哪些基因在这些状态每一种中是重要的(包括基因的增量调节和减量调节)信息。在实体癌组织中差异表达的序列的鉴定以及导致不同的预后结果的差异表达的鉴定,允许以许多方式使用该信息。例如,可评价特定的治疗方案(例如,以确定化疗药物是否起着改善特定患者的长期预后的作用)。类似地,可通过将患者的样品与已知的表达谱比较来进行或确认诊断。此外,这些基因表达谱(或个别基因)允许筛选抑制实体癌表达谱或将不良预后谱转变成更好的预后谱的药物候选品。

[0104] 因此,本发明提供了诊断受试者是否患有实体癌或处于发生实体癌的风险中的方法,其包括从获自受试者的测试样品逆转录 RNA,以提供一组靶寡脱氧核苷酸,使所述靶寡脱氧核苷酸与包含 miRNA-特异性探针寡核苷酸的微阵列杂交,以提供测试样品的杂交谱,并对比测试样品杂交谱与从对样品或参照标准产生的杂交谱,其中至少一种 miRNA 的信号的改变指示着受试者患有实体癌或处于发生实体癌的风险中。在一个实施方案中,所述微阵列包含针对所有已知人 miRNA 的实质部分的 miRNA-特异性探针寡核苷酸。在一个特定的实施方案中,所述微阵列包含针对选自下述的一种或多种 miRNA 的 miRNA-特异性探针寡核苷酸:miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a 和其组合。

[0105] 可以从由已知的 miRNA 序列产生的基因特异性寡核苷酸探针制备微阵列。微阵列可包含对于每种 miRNA 的两种不同的寡核苷酸探针,一种包含活性的成熟序列,另一种对于该 miRNA 的前体是特异性的。微阵列还可以包含对照,例如一个或多个与人直系同源物相异仅少数碱基的小鼠序列,该序列可用作杂交严格性条件的对照。还可将来自两个物种的 tRNA 和其它 RNA(例如, rRNA, mRNA) 印在微芯片上,为特异性杂交提供内部的、相对稳定的阳性对照。还可在微芯片上包含非特异性杂交的一个或多个合适的对照。为此,基于与任何已知的 miRNA 不存在任何同源性来选择序列。

[0106] 可使用本领域内已知的技术制造微阵列。例如,在位置 C6 上对合适长度例如 40 个核苷酸的探针寡核苷酸进行 5'-胺修饰,然后使用可商购获得的微阵列系统例如 GeneMachine OmniGrid™100Microarrayer 和 Amersham CodeLink™活化载玻片进行印制。通过用标记的引物逆转录靶 RNA 来制备相应于靶 RNA 的标记的 cDNA 寡物。在第一链合成后,使 RNA/DNA 杂交体变性以降解 RNA 模板。然后将所制备的标记的靶 cDNA 在杂交条件下与微阵列芯片杂交,所述条件是例如在 25℃ 下在 6X SSPE/30% 甲酰胺中进行 18 小时,然后在 37℃ 下在 0.75XTNT(Tris HCl/NaCl/吐温 20)中洗涤 40 分钟。杂交在阵列上在固定的探针 DNA 识别样品中的互补靶 cDNA 的位置上发生。标记的靶 cDNA 标记了阵列上发生结合的确切位置,从而允许自动检测和定量。输出由一系列杂交事件组成,其显示了特定 cDNA 序列的相对丰度,从而显示患者样品中相应的互补 miR 的相对丰度。根据一个实施方案,标记

的 cDNA 寡物是从生物素标记的引物制备的生物素标记的 cDNA。然后通过使用例如链霉抗生物素 -Alexa647 缀合物直接检测含生物素的转录物来处理微阵列和使用常规的扫描方法扫描微阵列。阵列上各点的图像强度与患者样品中相应的 miR 的丰度成比例。

[0107] 阵列的使用对于 miRNA 表达检测具有几个有利方面。第一,可在一个时间点在相同的样品中鉴定数百个基因的整体表达。第二,通过对寡核苷酸探针的仔细设计,可鉴定成熟和前体分子的表达。第三,与 RNA 印迹分析相比,芯片需要少量的 RNA,并且使用 2.5 μ g 的总 RNA 可提供可重复的结果。相对有限数量的 miRNA(每个物种数百个)允许构建几个物种的共同微阵列,对于各物种具有不同的寡核苷酸探针。该工具允许对多种不同条件下各已知 miR 的跨物种表达进行分析。

[0108] 除了用于特定 miR 的定量表达水平测定外,包含相应于相当大部分的 miRNome(优选整个 miRNome)的 miRNA 特异性探针寡核苷酸的微芯片可用于确定 miR 基因表达谱,从而进行 miR 表达模式的分析。不同的 miR 特征谱可与已建立的疾病标记或直接与疾病状态相关联。

[0109] 根据本文描述的表达谱确定分析法,定量逆转录来自获自怀疑具有癌症(例如,实体癌)的受试者的样品的总 RNA,以提供一组与样品中的 RNA 互补的标记的靶寡脱氧核苷酸。然后使所述靶寡脱氧核苷酸与包含 miRNA 特异性探针寡核苷酸的微阵列杂交,从而提供样品的杂交谱。结果是展示样品中 miRNA 的表达模式的样品的杂交谱。杂交谱包含来自样品的靶寡脱氧核苷酸与微阵列中的 miRNA 特异性探针寡核苷酸结合产生的信号。该谱可记录为结合的存在或不存在(信号相对于零信号)。更优选,记录的谱包括来自各杂交的信号强度。将谱与从正常即非癌性的对照样品产生的杂交谱进行比较。信号的改变指示着受试者中存在癌症或发生癌症的倾向。

[0110] 用于测量 miR 基因表达的其它技术也在本领域技术人员的技能范围之内,并且包括用于测量 RNA 转录和降解的速率的各种技术。

[0111] 本发明也提供了确定患有实体癌的受试者的预后的方法,其包括测量来自受试者的测试样品中与实体癌的特定预后(例如,好的或积极的预后,差的或不良的预后)有关的至少一种 miR 基因产物的水平。根据这些方法,与对照样品中相应的 miR 基因产物的水平相比,测试样品中与特定预后有关的 miR 基因产物的水平的改变,指示着受试者患有具有特定预后的实体癌。在一个实施方案中,所述 miR 基因产物与不良(即,差)预后有关。不良预后的实例包括、但不限于,低生存率和快速疾病进展。在某些实施方案中,如下测量至少一种 miR 基因产物的水平:从获自受试者的测试样品逆转录 RNA,以提供一组靶寡脱氧核苷酸,使所述靶寡脱氧核苷酸与包含 miRNA- 特异性探针寡核苷酸的微阵列杂交,以提供测试样品的杂交谱,并对比测试样品杂交谱与从对照样品产生的杂交谱。

[0112] 不希望受任何一种理论的束缚,认为细胞中一种或多种 miR 基因产物的水平的变化可导致这些 miR 的一个或多个目标靶失调,这可导致实体癌的形成。因此,改变 miR 基因产物的水平(例如,通过减少在实体癌细胞中被增量调节的 miR 基因产物的水平,通过增加在实体癌细胞中被减量调节的 miR 基因产物的水平)可成功地治疗实体癌。

[0113] 因此,本发明包括抑制患有或被怀疑患有实体癌的受试者的肿瘤发生的方法,其中在受试者的癌细胞中至少一种 miR 基因产物失调(例如,减量调节,增量调节)。当癌细胞中的至少一种分离的 miR 基因产物被减量调节(例如 miR-145, miR-155, miR-218-2)

时,该方法包括,施用有效量的所述至少一种分离的 miR 基因产物、或其分离的变体或生物活性片段,从而抑制受试者中癌细胞的增殖。在一个实施方案中,施用的分离的 miR 基因产物不是 miR-15a 或 miR-16-1。在另一个实施方案中,所述 miR 基因产物不是 miR159-1 或 miR-192。在另一个实施方案中,所述 miR 基因产物不是 miR-186, miR-101-1, miR-194, miR-215, miR-106b, miR-25, miR-93, miR-29b, miR-29a, miR-96, miR-182s, miR-182as, miR-183, miR-129-1, let-7a-1, let-7d, let-7f-1, miR-23b, miR-24-1, miR-27b, miR-32, miR-159-1, miR-192, miR-125b-1, let-7a-2, miR-100, miR-196-2, miR-148b, miR-190, miR-21, miR-301, miR-142s, miR-142as, miR-105-1, 或 miR-175。在另一个实施方案中,所述 miR 基因产物不是 miR-21, miR-301, miR-142as, miR-142s, miR-194, miR-215, 或 miR-32。在另一个实施方案中,所述 miR 基因产物不是 miR-148, miR-10a, miR-196-1, miR-152, miR-196-2, miR-148b, miR-10b, miR-129-1, miR-153-2, miR-202, miR-139, let-7a, let-7f, 或 let-7d。在另一个实施方案中,所述 miR 基因产物不是 miR-30, miR-15b, miR-16-2, miR-217, miR-205, miR-204, miR-103, miR-107, miR-9, 和 miR-137。在另一个实施方案中,所述 miR 基因产物不是 miR-145, miR-21, miR-155, miR-10b, miR-125b-1, miR-125b-2, let7a-2, let7a-3, let-7d, miR-122a, miR-191, miR-206, miR-210, let-7i, miR-009-1(miR131-1), miR-34(miR-170), miR-102(miR-29b), miR-123(miR-126), miR-140-as, miR-125a, miR-194, miR-204, miR-213, let-7f-2, miR-101, miR-128b, miR-136, miR-143, miR-149, miR-191, miR-196-1, miR-196-2, miR-202, miR-103-1, 或 miR-30c。在另一个实施方案中,所述 miR 基因产物不是 miR-21, miR-125b-1, let-7a-2, let-7i, miR-100, let-7g, miR-31, miR-32a-1, miR-33b, miR-34a-2, miR-101-1, miR-135-1, miR-142as, miR-142s, miR-144, miR-301, miR-29c, miR-30c, miR-106a, 或 miR-29b-1。

[0114] 例如,当受试者癌细胞中的 miR 基因产物被减量调节时,给受试者施用有效量的分离的 miR 基因产物可以抑制癌细胞的增殖。施用给受试者的分离的 miR 基因产物可以与在癌细胞中减量调节的内源野生型 miR 基因产物(例如,表 1a 或表 1b 所示的 miR 基因产物)相同,或可以是其变体或生物活性片段。如本文所定义的,miR 基因产物的“变体”是指与相应的野生型 miR 基因产物具有小于 100% 同一性、且具有相应的野生型 miR 基因产物的一种或多种生物活性的 miRNA。这样的生物活性的实例包括、但不限于,抑制靶 RNA 分子的表达(例如,抑制靶 RNA 分子的翻译,调控靶 RNA 分子的稳定性,抑制靶 RNA 分子的加工)和抑制与实体癌有关的细胞过程(例如,细胞分化,细胞生长,细胞死亡)。这些变体包括物种变体和作为 miR 基因中的一个或多个突变(例如,置换,缺失,插入)的结果的变体。在某些实施方案中,所述变体与相应的野生型 miR 基因产物至少约 70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% 或 99% 相同。

[0115] 如本文所定义的,miR 基因产物的“生物活性片段”是指具有相应的野生型 miR 基因产物的一种或多种生物活性的 miR 基因产物的 RNA 片段。如上所述,这样的生物活性的实例包括、但不限于,抑制靶 RNA 分子的表达和抑制与实体癌有关的细胞过程。在某些实施方案中,所述生物活性片段的长度是至少约 5, 7, 10, 12, 15, 或 17 个核苷酸。在一个具体的实施方案中,可以与一种或多种其它的抗癌治疗相组合,将分离的 miR 基因产物施用给受试者。合适的抗癌治疗包括、但不限于,化疗,放疗和其组合(例如,放化疗)。

[0116] 当至少一种分离的 miR 基因产物在癌细胞中增量调节时,该方法包括,给受试者

施用有效量的至少一种抑制所述至少一种 miR 基因产物的表达的化合物(在本文中称作抑制 miR 基因表达的化合物),从而抑制实体癌细胞的增殖。在一个特定的实施方案中,所述至少一种抑制 miR 表达的化合物对选自下述的 miR 基因产物是特异性的:miR-21,miR-17-5p,miR-191,miR-29b-2,miR-223,miR-128b,miR-199a-1,miR-24-1,miR-24-2,miR-146,miR-155,miR-181b-1,miR-20a,miR-107,miR-32,miR-92-2,miR-214,miR-30c,miR-25,miR-221,miR-106a 和其组合。抑制 miR 基因表达的化合物可以与一种或多种其它抗癌治疗组合施用给受试者。合适的抗癌治疗包括、但不限于,化疗,放疗和其组合(例如,放化疗)。

[0117] 如本文所用的,术语“治疗”、“医治”和“医疗”是指改善与疾病或病症例如实体癌相关的症状,包括阻止或延迟疾病症状的发作和/或减少疾病或病症的症状的严重度或频率。术语“受试者”、“患者”和“个体”在本文定义为包括动物例如哺乳动物,包括但不限于,灵长类动物、牛、绵羊、山羊、马、狗、猫、兔子、豚鼠、大鼠、小鼠或其它牛族动物、羊科动物、马科动物、犬科动物、猫科动物、啮齿类动物或鼠类物种。在优选实施方案中,动物是人。

[0118] 如本文所用的,分离的 miR 基因产物的“有效量”是足以抑制罹患实体癌的受试者中癌细胞增殖的量。通过考虑诸如受试者的身材大小和体重、疾病侵入的程度、受试者的年龄、健康和性别、给药途径以及给药是局部的还是全身性的等因素,本领域技术人员可容易地确定对给定受试者施用的 miR 基因产物的有效量。

[0119] 例如,分离的 miR 基因产物的有效量可基于被治疗的肿瘤块的近似重量。可通过计算团块的近似体积确定肿瘤块的近似重量,其中 1 立方厘米的体积大致相当于 1 克。基于肿瘤块的重量分离的 miR 基因产物的有效量可以在约 10-500 微克/克的肿瘤块的范围内。在某些实施方案中,肿瘤块可以是至少约 10 微克/克的肿瘤块,至少约 60 微克/克的肿瘤块或至少约 100 微克/克的肿瘤块。

[0120] 分离的 miR 基因产物的有效量还可基于被治疗的受试者的近似或估计的体重。优选,如本文所描述的,通过胃肠外或肠内给药施用该有效量。例如,对受试者施用的分离的 miR 基因产物的有效量可在约 5 至 3000 微克/kg 的体重,约 700 至 1000 微克/kg 的体重的范围内变动,或大于约 1000 微克/kg 的体重。

[0121] 本领域技术人员也可容易地确定对给定的受试者施用分离的 miR 基因产物的合适的给药方案。例如,可对受试者施用 miR 基因产物一次(例如,作为单次注射或沉积(deposition))。或者,可每天对受试者施用 miR 基因产物 1 次或 2 次,进行约 3 至约 28 天,更特别地约 7 至约 10 天的时期。在特定的给药方案中,每天 1 次施用 miR 基因产物,进行 7 天。当给药方案包括多次施用时,要理解对受试者施用的 miR 基因产物的有效量可包括在整个给药方案中施用的基因产物的总量。

[0122] 如本文所用的,“分离的”miR 基因产物是合成的或通过人干预从天然状态改变的或取出的产物。例如,合成的 miR 基因产物或部分地或完全地与其天然状态的共存材料分离的 miR 基因产物被认为是“分离的”。分离的 miR 基因产物可以基本上纯化的形式存在,或可存在于已递送了该 miR 基因产物的细胞中。因此,有意递送至细胞或有意在细胞中表达的 miR 基因产物被认为是“分离的”miR 基因产物。在细胞内从 miR 前体分子产生的 miR 基因产物也被认为是“分离的”分子。根据本发明,本文所述的分离的 miR 基因产物可以用于生产治疗受试者(例如,人)的实体癌的药物。

[0123] 可使用许多标准技术获得分离的 miR 基因产物。例如,可使用本领域内已知的方

法化学合成或重组产生 miR 基因产物。在一个实施方案中,使用适当保护的核糖核苷亚磷酸酰胺和常规的 DNA/RNA 合成仪,化学合成 miR 基因产物。合成的 RNA 分子或合成试剂的商业提供商包括例如 Proligo (Hamburg, Germany)、Dharmacon Research (Lafayette, CO, U. S. A.)、Pierce Chemical (part of Perbio Science, Rockford, IL, U. S. A.)、Glen Research (Sterling, VA, U. S. A.)、ChemGenes (Ashland, MA, U. S. A.) 和 Cruachem (Glasgow, UK)。

[0124] 或者,可使用任何合适的启动子从重组环状或线性 DNA 质粒表达 miR 基因产物。用于从质粒表达 RNA 的合适的启动子包括例如 U6 或 H1RNA pol III 启动子序列或巨细胞病毒启动子。其它合适的启动子的选择在本领域技术人员的技能范围之内。本发明的重组质粒还可包含用于在癌细胞中表达 miR 基因产物的诱导型或调控型启动子。

[0125] 可通过标准技术从培养细胞表达系统分离从重组质粒表达的 miR 基因产物。也可将从重组质粒表达的 miR 基因产物递送至和直接在癌细胞中表达。下面更详细地讨论重组质粒用于将 miR 基因产物递送至癌细胞的用途。

[0126] 可从分开的重组质粒表达 miR 基因产物,或可从相同的重组质粒表达它们。在一个实施方案中,miR 基因产物从单个质粒表达为 RNA 前体分子,然后前体分子通过合适的加工系统(包括但不限于存在于癌细胞内的加工系统)加工成功能性 miR 基因产物。其它合适的加工系统包括,例如,体外果蝇细胞裂解物系统(lysate system)(例如,如属于 Tuschl 等人的美国公开专利申请号 2002/0086356 中描述的,其全部公开内容通过参考引用并入本文)和大肠杆菌 RNA 酶 III 系统(例如,如属于 Yang 等人的美国公开专利申请号 2004/0014113 中描述的,其全部公开内容通过参考引用并入本文)。

[0127] 适合用于表达 miR 基因产物的质粒的选择,用于将核酸序列插入质粒以表达基因产物的方法和将重组质粒递送入目的细胞的方法在本领域技术人员的技能范围之内。参见,例如,Zeng 等人(2002),Molecular Cell 9:1327-1333;Tuschl(2002),Nat. Biotechnol. 20:446-448;Brummelkamp 等人(2002),Science 296:550-553;Miyagishi 等人(2002),Nat. Biotechnol. 20:497-500;Paddison 等人(2002),Genes Dev. 16:948-958;Lee 等人(2002),Nat. Biotechnol. 20:500-505;和 Paul 等人(2002),Nat. Biotechnol. 20:505-508,其全部公开内容通过参考引用并入本文。

[0128] 在一个实施方案中,表达 miR 基因产物的质粒包含在 CMV 即早期启动子控制之下的编码 miR 前体 RNA 的序列。如本文所用的,“在启动子控制之下”意指编码 miR 基因产物的核酸序列位于启动子的 3',这样启动子可起始编码 miR 基因产物的序列的转录。

[0129] 也可从重组病毒载体表达 miR 基因产物。可从两个分开的重组病毒载体或从相同的病毒载体表达 miR 基因产物。可通过标准技术从培养细胞表达系统分离从重组病毒载体表达的 RNA,或可在癌细胞中直接表达它。下面更详细地描述重组病毒载体将 miR 基因产物递送至癌细胞的用途。

[0130] 本发明的重组病毒载体包含编码 miR 基因产物的序列和用于表达 RNA 序列的任何合适的启动子。合适的启动子包括、但不限于例如 U6 或 H1RNA pol III 启动子序列或巨细胞病毒启动子。其它合适的启动子的选择在本领域技术人员的技能范围之内。本发明的重组病毒载体还可包含用于在癌细胞中表达 miR 基因产物的诱导型或调控型启动子。

[0131] 可使用能够接受 miR 基因产物的编码序列的任何病毒载体;例如来源于腺病毒

(AV)、腺伴随病毒 (AAV)、逆转录病毒 (例如,慢病毒 (LV)、杆状病毒、鼠白血病病毒)、疱疹病毒等的载体。适当时,可通过用包膜蛋白和来自其它病毒的其它表面蛋白假型化载体或通过置换不同的病毒衣壳蛋白来改变病毒载体的向性。

[0132] 例如,可来自水泡性口膜炎病毒 (VSV)、狂犬病毒、埃博拉病毒、莫科拉病等的表面蛋白假型化本发明的慢病毒载体。通过对载体进行基因工程改造以表达不同的衣壳蛋白血清型来产生本发明的 AAV 载体,从而使其靶向不同的细胞。例如,在血清 2 型基因组上表达血清 2 型衣壳的 AAV 载体称为 AAV2/2。可用血清 5 型衣壳蛋白基因取代 AAV2/2 载体中的该血清 2 型衣壳蛋白基因以产生 AAV2/5 载体。用于构建表达不同的衣壳蛋白血清型的 AAV 载体的技术在本领域技术人员的技能范围之内;参见,例如,Rabinowitz, J. E., 等人 (2002), *J. Virol.* 76:791-801,其全部公开内容通过参考引用并入本文。

[0133] 适合用于本发明的重组病毒载体的选择、用于将表达 RNA 的核酸序列插入载体的方法、将病毒载体递送至目的细胞的方法以及表达的 RNA 产物的回收在本领域技术人员的技能范围之内。参见,例如,Dornburg (1995), *Gene Therap.* 2:301-310;Eglitis (1988), *Biotechniques* 6:608-614;Miller (1990), *Hum. Gene Therap.* 1:5-14; 和 Anderson (1998), *Nature* 392:25-30,其全部公开内容通过参考引用并入本文。

[0134] 特别合适的病毒载体是来源于 AV 和 AAV 的载体。用于表达本发明的 miR 基因产物的合适的 AV 载体、用于构建重组 AV 载体的方法以及将载体递送入靶细胞的方法描述于 Xia 等人 (2002), *Nat. Biotech.* 20:1006-1010 中,其全部公开内容通过参考引用并入本文。用于表达 miR 基因产物的合适的 AAV 载体、用于构建重组 AAV 载体的方法以及将载体递送入靶细胞的方法描述于 Samulski 等人 (1987), *J. Virol.* 61:3096-3101;Fisher 等人 (1996), *J. Virol.*, 70:520-532;Samulski 等人 (1989), *J. Virol.* 63:3822-3826; 美国专利号 5,252,479; 美国专利号 5,139,941; 国际专利申请号 W094/13788; 和国际专利申请号 W093/24641,其全部公开内容通过参考引用并入本文。在一个实施方案中,从包含 CMV 立即早期启动子的单个重组 AAV 载体表达 miR 基因产物。

[0135] 在某一实施方案中,本发明的重组 AAV 病毒载体包含在人 U6RNA 的控制下、与 polyT 终止序列可操作连接的编码 miR 前体 RNA 的核酸序列。如本文所用的,“与 polyT 终止序列可操作连接”是指编码有义或反义链的核酸序列以 5' 方向与 polyT 终止信号直接相邻。在从载体转录 miR 序列的过程中,polyT 终止信号起着终止转录的作用。

[0136] 在本发明的治疗方法的其它实施方案中,可对受试者施用有效量的至少一种抑制 miR 表达的化合物。如本文所用的,“抑制 miR 表达”是指在治疗后 miR 基因产物的前体和/或活性、成熟形式的产量比治疗前产生的量低。通过使用例如上文关于诊断方法讨论的测定 miR 转录物水平的技术,本领域技术人员可容易地确定 miR 表达在癌细胞中是否已被抑制。抑制可在基因表达的水平上发生(即,通过抑制编码 miR 基因产物的 miR 基因的转录)或在加工水平上发生(例如,通过抑制 miR 前体加工成成熟的、活性 miR)。

[0137] 如本文所用的,抑制 miR 表达的化合物的“有效量”是足以在罹患癌症(例如,实体癌)的受试者中抑制癌细胞的增殖的量。通过考虑诸如受试者的身材大小和体重、疾病侵入的程度、受试者的年龄、健康和性别、给药途径和给药是局部的还是全身性的等因素,本领域技术人员可容易地确定抑制 miR 表达的化合物的有效量。

[0138] 例如,抑制表达的化合物的有效量可基于待治疗的肿瘤块的近似重量,如本文所

述。抑制 miR 表达的化合物的有效量也可基于待治疗的受试者的近似或估计重量,如本文所述。

[0139] 本领域技术人员也可容易地确定对给定的受试者施用抑制 miR 表达的化合物的合适的给药方案。

[0140] 用于抑制 miR 基因表达的合适的化合物包括双链 RNA(例如短的或小的干扰 RNA 或“siRNA”)、反义核酸和酶 RNA 分子例如核酶。此类化合物中的各化合物可靶向给定的 miR 基因产物和干扰靶 miR 基因产物的表达(例如,通过抑制翻译,通过诱导切割和/或降解)。

[0141] 例如,通过用与 miR 基因产物的至少一部分具有至少 90%、例如至少 95%、至少 98%、至少 99%、或 100% 序列同源性的分离的双链 RNA(“dsRNA”)分子诱导对 miR 基因的 RNA 干扰,可以抑制给定 miR 基因的表达。在一个具体的实施方案中,dsRNA 分子是“短的或小的干扰 RNA”或“siRNA”。

[0142] 用于本方法的 siRNA 包含长度为约 17 个核苷酸至约 29 个核苷酸,优选长度为约 19 至约 25 个核苷酸的短的双链 RNA。siRNA 包含根据标准的 Watson-Crick 碱基配对相互作用(以下称“碱基配对”)退火在一起的有义 RNA 链和互补反义 RNA 链。有义链包含基本上与靶 miR 基因产物内包含的核酸序列一致的核酸序列。

[0143] 如本文所用的,siRNA 中与靶 mRNA 中包含的靶序列“基本上一致”的核酸序列是与靶序列一致或与靶序列相异 1 个或 2 个核苷酸的核酸序列。siRNA 的有义和反义链可包含两个互补的单链 RNA 分子,或可包含其中两个互补部分是碱基配对的并且通过单链“发夹”区域共价连接的单链分子。

[0144] siRNA 可以是与天然存在的 RNA 不同在于一个或多个核苷酸的添加、缺失、置换和/或改变的改变的 RNA。此类改变可包括非核苷酸材料的添加,例如添加至 siRNA 的末端或添加至 siRNA 的一个或多个内部核苷酸,或使 siRNA 对核酸酶降解具有抗性的修饰或用脱氧核糖核苷酸对 siRNA 中的一个或多个核苷酸的置换。

[0145] siRNA 的一条或两条链还可包含 3' 突出端。如本文所用的,“3' 突出端”是指从双链 RNA 链的 3' 末端延伸的至少一个未配对的核苷酸。因此,在某些实施方案中,siRNA 包含长度为 1 个至约 6 个核苷酸(其包括核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸)、长度为 1 至约 5 个核苷酸、长度为 1 至约 4 个核苷酸或长度为约 2 至约 4 个核苷酸的至少一个 3' 突出端。在一个具体的实施方案中,3' 突出端存在于 siRNA 的两条链上,且长度为 2 个核苷酸。例如,siRNA 的各链包含二胸腺嘧啶脱氧核苷酸(dithymidylic acid)(“TT”)或二尿苷酸(“uu”)的 3' 突出端。

[0146] siRNA 可通过化学或生物学的方法产生,或如上面关于分离的 miR 基因产物所描述的,可从重组质粒或病毒载体表达。用于产生和检测 dsRNA 或 siRNA 分子的示例性方法描述于属于 Gewirtz 的美国公开专利申请号 2002/0173478 和属于 Reich 等人的美国公开专利申请号 2004/0018176,其全部公开内容通过参考引用并入本文。

[0147] 还可通过反义核酸来抑制给定的 miR 基因的表达。如本文所用的,“反义核酸”是指通过 RNA-RNA 或 RNA-DNA 或 RNA-肽核酸相互作用结合至靶 RNA 的核酸分子,其可改变靶 RNA 的活性。适合用于本发明的方法的反义核酸是通常包含与 miR 基因产物中的连续核酸序列互补的核酸序列的单链核酸(例如, RNA、DNA、RNA-DNA 嵌合体、肽核酸(PNA))。反义

核酸可包含与 miR 基因产物中的连续核酸序列 50-100% 互补、75-100% 互补或 95-100% 互补的核酸序列。表 1a 和 1b 中提供了 miR 基因产物的核酸序列。不希望受限于任何理论,认为反义核酸激活 RNA 酶 H 或消化 miR 基因产物 / 反义核酸双链体的另一种细胞核酸酶。

[0148] 反义核酸还可包含对核酸主链的修饰或对糖和碱基部分(或其等同物)的修饰,以增强靶特异性、对核酸酶的抗性、与分子的功效相关的递送或其它性质。此类修饰包括胆固醇部分、双链体插入剂(例如吡啶)或一种或多种抗核酸酶基团。

[0149] 反义核酸可通过化学或生物学方法产生,或如上面关于分离的 miR 基因产物所描述的,可从重组质粒或病毒载体表达。用于产生和检测的示例性方法在本领域技术人员的技能范围之内;参见,例如,Stein 和 Cheng(1993), Science261:1004 和 Woolf 等人的美国专利号 5,849,902,其全部公开内容通过参考引用并入本文。

[0150] 还可使用酶核酸抑制给定的 miR 基因的表达。如本文所用的,“酶核酸”是指包含具有与 miR 基因产物的连续核酸序列的互补性的底物结合区的核酸,其能够特异性切割 miR 基因产物。酶核酸底物结合区可以与 miR 基因产物中的连续核酸序列例如 50-100% 互补、75-100% 互补或 95-100% 互补。酶核酸还可包含在碱基、糖和 / 或磷酸基团上的修饰。用于本发明的方法的示例性酶核酸是核酶。

[0151] 酶核酸可通过化学或生物学方法产生,或如上面关于分离的 miR 基因产物所描述的,可从重组质粒或病毒载体表达。用于产生和检测 dsRNA 或 siRNA 分子的示例性方法描述于 Werner 和 Uhlenbeck(1995), Nucleic Acids Res. 23:2092-96;Hammann 等人(1999), Antisense and Nucleic Acid Drug Dev. 9:25-31; 和属于 Cech 等人的美国专利号 4,987,071,其全部公开内容通过参考引用并入本文。

[0152] 至少一种 miR 基因产物或至少一种抑制 miR 表达的化合物的施用,将抑制患有实体癌的受试者中的癌细胞的增殖。如本文所用的,“抑制癌细胞的增殖”是指杀死细胞或永久性地或临时性地阻止或减缓细胞的生长。如果在施用 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物后,受试者中癌细胞的数目保持恒定或减少,那么可推断此类细胞的增殖被抑制。如果癌细胞的绝对数目增加但肿瘤生长速率减小也可推断癌细胞的增殖被抑制。

[0153] 可通过直接测量或通过从原发性或转移肿瘤块的大小估计来确定受试者体内的癌细胞的数目。例如,可通过免疫组织学方法、流式细胞计量术或设计用于检测癌细胞的特征性表面标记的其它技术测量受试者中的癌细胞数目。

[0154] 可通过直接目视观察或通过诊断性影像学方法例如 X 射线、磁共振显像、超声和闪烁照相术确定肿瘤块的大小。如本领域内已知的,可在存在或不存在造影剂的情况下使用用于确定肿瘤块的大小的诊断性影像法。还可使用物理方法例如组织块的触诊或使用测量仪器例如测径器测量组织块来确定肿瘤块的大小。

[0155] 可通过适合将这些化合物递送至受试者的癌细胞的任何方法对受试者施用 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物。例如,可通过适合于用这些化合物或用包含编码这些化合物的序列的核酸转染受试者的细胞的方法来施用 miR 基因产物或抑制 miR 表达的化合物。在一个实施方案中,用包含编码至少一种 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物的序列的质粒或病毒载体转染细胞。

[0156] 用于真核细胞的转染方法在本领域内熟知,包括例如核酸至细胞的细胞核或前核的直接注射、电穿孔、脂质体转移或通过亲脂材料介导的转移、受体介导的核酸递送、

bioballistic 或粒子加速；磷酸钙沉淀和通过病毒载体介导的转染。

[0157] 例如,可用脂质体转移化合物 DOTAP(甲基硫酸 N-[1-(2,3-二油酰氧)丙基]-N,N,N-三甲基-铵,Boehringer-Mannheim) 或等同物例如 LIPOFECTIN 转染细胞。使用的核酸的量对于本发明的实践不是至关重要的;可用 0.1-100 微克的核酸/ 10^5 个细胞获得可接受的结果。例如,可使用每 10^5 个细胞约 0.5 微克质粒于 3 微克 DOTAP 中的比率。

[0158] 还可通过任何合适的肠内或胃肠外给药途径对受试者施用 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物。用于本方法的合适的肠内给药途径包括例如口服、直肠或鼻内递送。合适的胃肠外给药途径包括例如血管内给药(例如,至脉管系统的静脉内快速注射、静脉输注、动脉内快速浓注、动脉内输注和导管滴注);组织外周和组织内注射(例如,瘤周和瘤内注射、视网膜内注射或视网膜下注射);皮下注射或沉积,包括皮下输注(例如通过渗透泵);对目的组织的直接施用,例如通过导管或其它安置装置(例如,视网膜弹丸剂或栓剂或包含多孔、无孔或凝胶状材料的植入体);以及吸入。特别适合的给药途径是注射、输注和直接至肿瘤的注射。

[0159] 在本方法中,可将 miR 基因产物或抑制 miR 基因产物的表达的化合物作为裸 RNA 与递送试剂一起或作为核酸(例如,重组质粒或病毒载体)给受试者施用,所述核酸包含表达 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物的序列。合适的递送试剂包括例如 Mirus Transit TKO 亲脂试剂、lipofectin、lipofectamine、cellfectin、聚阳离子(例如,多聚赖氨酸)和脂质体。

[0160] 包含表达 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物的序列的重组质粒和病毒载体以及用于递送此类质粒和载体至癌细胞的技术在本文讨论,和/或是本领域众所周知的。

[0161] 在一个具体的实施方案中,脂质体用于将 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物(或包含编码它们的序列的核酸)递送至受试者。脂质体也可以增加基因产物或核酸的血液半衰期。可从标准的形成小囊泡的脂质(其通常包括中性或带负电荷的磷脂和固醇例如胆固醇)形成用于本发明的合适的脂质体。通常通过考虑诸如想要的脂质体大小和血流中脂质体的半衰期等因素,指导脂质的选择。用于制备脂质体的许多方法是已知的,例如,如在 Szoka 等人(1980), Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9:467; 和美国专利号 4,235,871、4,501,728、4,837,028 和 5,019,369(其全部公开内容通过参考引用并入本文)中描述。

[0162] 用于本方法的脂质体可包含将脂质体靶向癌细胞的配体分子。结合癌细胞中普遍存在的受体的配体例如结合肿瘤细胞抗原的单克隆抗体是优选的。

[0163] 还可对用于本方法的脂质体进行修饰,以避免被单核巨噬细胞系统(“MMS”)和网状内皮系统(“RES”)清除。此类经修饰的脂质体具有存在于表面上或整合入脂质体结构中的调理作用抑制部分。在特别优选实施方案中,本发明的脂质体可包含调理作用抑制部分和配体两者。

[0164] 用于制备本发明的脂质体的调理作用抑制部分通常是结合至脂质体膜的大的亲水聚合物。如本文所用的,当其例如通过脂溶性锚嵌入膜本身中或通过膜脂质的活性基团直接结合而被化学地或物理地附着至膜时,调理作用抑制部分“结合”至脂质体膜。这些调理作用抑制性亲水聚合物形成了显著减少脂质体被 MMS 和 RES 摄取的保护表面层;例如,如美国专利号 4,920,016 中所描述的,其全部公开内容通过参考引用并入本文。

[0165] 适合用于修饰脂质体的调理作用抑制部分优选是具有约 500 至约 40,000 道尔顿和优选约 2,000 至约 20,000 道尔顿的数量平均分子量的水溶性聚合物。此类聚合物包括聚乙二醇 (PEG) 或聚丙二醇 (PPG) 衍生物;例如甲氧基 PEG 或 PPG, 和 PEG 或 PPG 硬脂酸酯;合成聚合物,例如聚丙烯酰胺或聚 N- 乙烯基吡咯酮;线性的、分支的或树状聚酰胺-胺 (polyamidoamines);聚丙烯酸;多元醇,例如羧基或氨基化学连接至其的聚乙烯醇和聚木糖醇,以及神经节苷脂例如神经节苷脂 GM1。PEG、甲氧基 PEG 或甲氧基 PPG 或其衍生物的共聚物也是合适的。此外,调理作用抑制性聚合物可以是 PEG 与多聚氨基酸、多糖、聚酰胺-胺、聚乙烯胺或多核苷酸的嵌段共聚物。调理作用抑制性聚合物也可以是包含氨基酸或羧酸例如半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、甘露糖醛酸、透明质酸、果胶酸、神经氨酸、海藻酸、角叉菜胶的天然多糖;氨化多糖或寡糖(线性或分支的);或羧化多糖或低聚糖,例如与碳酸的衍生物反应,获得羧基的连接。优选,调理作用抑制部分是 PEG、PPG 或其衍生物。用 PEG 或 PEG 衍生物修饰的脂质体有时称为“PEG 化脂质体”。

[0166] 可通过许多熟知的技术中的任一种将调理作用抑制部分与脂质体膜结合。例如,可将 PEG 的 N- 羟基琥珀酰亚胺酯结合至磷脂酰乙醇胺脂溶性锚,然后再将其结合至膜。类似地,可使用 $\text{Na}(\text{CN})\text{BH}_3$ 和溶剂混合物(例如以 30:12 比例的四氢呋喃和水)在 60°C 下通过还原氨化作用用硬脂酰胺脂溶性锚衍生葡聚糖聚合物。

[0167] 用调理作用抑制部分修饰的脂质体在循环中比未修饰的脂质体保持长得多的时间。因此,这样的脂质体有时称为“秘密 (stealth)”脂质体。已知秘密脂质体在由多孔的或“渗漏的”微血管滋养的组织中积累。因此,特征在于该微血管缺陷的组织例如实体瘤将有效率地积累这些脂质体;参见 Gabizon, 等人 (1988), *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.*, 18:6949-53。此外,减少的由 RES 进行的吸收通过防止脂质体在肝和脾中大量积累而降低了秘密脂质体的毒性。因此,用调理作用抑制部分修饰的脂质体特别适合将 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物(或包含编码它们的序列的核酸)递送至肿瘤细胞。

[0168] 按照本领域内已知的技术,在给受试者施用之前,可将 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物配制为药物组合物,有时称为“药物”。因此,本发明包括用于治疗实体瘤的药物组合物。在一个实施方案中,药物组合物包含至少一种分离的 miR 基因产物、或其分离的变体或生物活性片段,和药学上可接受的载体。在一个具体实施方案中,所述至少一种 miR 基因产物对应于这样的 miR 基因产物,即相对于合适的对照细胞,该 miR 基因产物在实体癌细胞中具有降低的表达水平。在某些实施方案中,所述分离的 miR 基因产物选自: miR-145, miR-155, miR-218-2 其组合。

[0169] 在其它实施方案中,本发明的药物组合物包含至少一种抑制 miR 表达的化合物。在一个特定的实施方案中,所述至少一种抑制 miR 表达的化合物对在实体癌细胞中的表达大于对照细胞的 miR 基因是特异性的。在某些实施方案中,所述抑制 miR 表达的化合物对一种或多种选自下述的 miR 基因产物是特异性的: miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a 和其组合。

[0170] 本发明的药物组合物的特征在于是至少无菌的和无热原的。如本文所用的,“药物组合物”包括用于人和兽医用途的制剂。用于制备本发明的药物组合物的方法在本领域

技术人员的技能范围之内,例如,如 Remington's Pharmaceutical Science,第 17 版,Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1985) 中所描述的,其全部公开内容通过参考引用并入本文。

[0171] 本发明的药物组合物包含与药学上可接受的载体相混合的至少一种 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物(或至少一种包含编码它们的序列的核酸)(例如,0.1-90%重量)或其生理上可接受的盐。在某些实施方案中,本发明的药物组合物另外包含一种或多种抗癌剂(例如,化疗剂)。本发明的药物制剂也可以包含由脂质体包封的至少一种 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物(或至少一种包含编码它们的序列的核酸),和药学上可接受的载体。在一个实施方案中,药物组合物包含不是 miR-15 和 / 或 miR-16 的 miR 基因或基因产物。

[0172] 特别合适的药学上可接受的载体是水、缓冲水溶液、生理盐水、0.4% 的盐水、0.3% 甘氨酸、透明质酸等。

[0173] 在一个具体实施方案中,本发明的药物组合物包含对核酸酶的降解具有抗性的至少一种 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物(或至少一种包含编码它们的序列的核酸)。本领域技术人员可容易地合成对核酸酶具有抗性的核酸,例如通过将一个或多个在 2' 位置被修饰的核糖核苷酸掺入 miR 基因产物。合适的 2' - 修饰的核糖核苷酸包括在 2' 位置用氟、氨基、烷基、烷氧基和 O- 烯丙基修饰的核糖核苷酸。

[0174] 本发明的药物组合物还可包含常规药物赋形剂和 / 或添加剂。合适的药物赋形剂包括稳定剂、抗氧化剂、渗透压调节剂(osmolality adjusting agent)、缓冲剂和 pH 调节剂。合适的添加剂包括例如生理生物相容性缓冲剂(例如,盐酸氨丁三醇(tromethamine hydrochloride))、螯合剂(例如,DTPA 或 DTPA- 双酰胺)或钙螯合物(例如,DTPA 钙、CaNaDTPA- 双酰胺)的加入,或任意地,钙或钠盐(例如,氯化钙、抗坏血酸钙、葡萄糖酸钙或乳酸钙)的加入。可包装本发明的药物组合物以使以液体形式使用或可将其冻干。

[0175] 对于本发明的固体药物组合物,可使用常规的无毒性固体药学上可接受的载体例如药物级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石粉、纤维素、葡萄糖、蔗糖、碳酸镁等。

[0176] 例如,用于口服给药的固体药物组合物可包含上列的任何载体和赋形剂和 10-95%,优选 25%-75% 的至少一种 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物(或至少一种包含编码它们的序列的核酸)。用于气雾剂(吸入)给药的药物组合物可包含封装在上述脂质体中的按重量计算 0.01-20%、优选按重量计算 1%-10% 的至少一种 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物(或至少一种包含编码它们的序列的核酸)和喷射剂。当需要时也可包含载体;例如用于鼻内递送的卵磷脂。

[0177] 本发明的药物组合物可以进一步包含一种或多种抗癌剂。在一个具体的实施方案中,组合物包含至少一种 miR 基因产物或抑制 miR 基因表达的化合物(或至少一种包含编码它们的序列的核酸)和至少一种化疗剂。适用于本发明的方法的化疗剂,包括、但不限于,DNA- 烷化剂,抗肿瘤抗生素剂,抗代谢剂,微管蛋白稳定剂,微管蛋白去稳定剂,激素拮抗剂,拓扑异构酶抑制剂,蛋白激酶抑制剂,HMG-CoA 抑制剂,CDK 抑制剂,细胞周期蛋白抑制剂,胱天蛋白酶抑制剂,金属蛋白酶抑制剂,反义核酸,三链螺旋 DNA,核酸适体,和分子修饰的病毒、细菌和外毒素试剂。适用于本发明的组合物的试剂的实例包括、但不限于,阿糖

胞苷, 甲氨蝶呤, 长春新碱, 依托泊苷 (VP-16), 多柔比星 (阿霉素), 顺铂 (CDDP), 地塞米松, arglabin, 环磷酰胺, 沙可来新, 甲基亚硝基脲, 氟尿嘧啶, 5- 氟尿嘧啶 (5FU), 长春碱, 喜树碱, 放线菌素 -D, 丝裂霉素 C, 过氧化氢, 奥沙利铂, 伊立替康, 托泊替康, 亚叶酸, 卡莫司汀, 链佐星, CPT-11, 泰素, 他莫昔芬, 达卡巴嗪, 利妥昔单抗, 柔红霉素, 1- β -D- 阿糖呋喃胞嘧啶, 伊马替尼, 氟达拉滨, 多西他赛和 FOLFOX4。

[0178] 本发明也包括鉴定肿瘤发生抑制剂的方法, 其包括给细胞提供测试试剂, 和测量细胞中至少一种 miR 基因产物的水平。在一个实施方案中, 该方法包括, 给细胞提供测试试剂, 和测量与癌细胞中降低的表达水平有关的至少一种 miR 基因产物的水平。相对于合适的对照细胞 (例如, 没有提供试剂), 在提供试剂后细胞中所述 miR 基因产物的水平的增加指示着测试试剂是肿瘤发生抑制剂。在一个特定的实施方案中, 与癌细胞中降低的表达水平有关的至少一种 miR 基因产物选自: miR-145, miR-155, miR-218-2 和其组合。

[0179] 在其它实施方案中, 该方法包括, 给细胞提供测试试剂, 和测量与癌细胞中增加的表达水平有关的至少一种 miR 基因产物的水平。相对于合适的对照细胞 (例如, 没有提供试剂), 在提供试剂后细胞中所述 miR 基因产物的水平的降低指示着测试试剂是肿瘤发生抑制剂。在一个特定的实施方案中, 与癌细胞中增加的表达水平有关的至少一种 miR 基因产物选自: miR-21, miR-17-5p, miR-191, miR-29b-2, miR-223, miR-128b, miR-199a-1, miR-24-1, miR-24-2, miR-146, miR-155, miR-181b-1, miR-20a, miR-107, miR-32, miR-92-2, miR-214, miR-30c, miR-25, miR-221, miR-106a。

[0180] 合适的试剂包括但不限于药物 (例如, 小分子、肽), 和生物大分子 (例如, 蛋白质、核酸)。可通过重组、合成方法产生该试剂, 或其可从天然来源分离 (即, 纯化)。用于对细胞提供此类试剂的各种方法 (例如, 转染) 在本领域内是熟知的, 上文中描述了几种这样的方法。用于检测至少一种 miR 基因产物的表达的方法 (例如, RNA 印迹法、原位杂交法、RT-PCR、表达谱分析) 在本领域内也是熟知的。上文中也描述了这些方法中的几种方法。

[0181] 现在通过下列非限制性实施例解释本发明。

实施例

[0182] 在实施例中使用下述的材料和方法:

[0183] 样品

[0184] 在该研究中使用了共 540 个样品, 包括 363 个原发肿瘤样品和 177 个正常组织 (表 2)。下述的实体癌为例: 肺癌, 乳腺癌, 前列腺癌, 胃癌, 结肠癌和胰腺内分泌肿瘤。所有样品在征得每位患者知情同意后获得, 并在组织学上证实。将正常样品与来自患肺癌和胃癌的个体的样品配对, 其它组织来自正常个体。通过合并 5 个不相关的正常组织, 得到所有正常乳腺样品。根据生产商的说明书, 使用 TRIzol™ 试剂 (Invitrogen), 从组织分离总 RNA。

[0185] 微小 RNA 微阵列

[0186] 如前所述进行微阵列分析 (Liu, C.-G., 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:11755-11760 (2004))。简而言之, 将 5 μ g 总 RNA 用于在 miRNA 微阵列芯片上的杂交。这些芯片含有基因-特异性的 40- 聚体寡核苷酸探针, 它们通过接触技术来点印, 并共价结合到聚合基质上。微阵列在 25°C 在 6 $\times$ SSPE (0.9M NaCl/60mM NaH₂PO₄ • H₂O/8mM EDTA, pH7.4)/30% 甲酰胺中杂交 18 小时, 在 37°C 在 0.75 $\times$ TNT (Tris • HCl/NaCl/ 吐温 20)

中洗涤 40min,通过链霉抗生物素 -Alexa647(Molecular Probes) 缀合物,使用生物素 - 标记的转录物的直接检测进行处理。使用微阵列扫描仪 (GenePix Pro, Axon) 扫描处理过的载玻片,激光设定在 635nm,在固定的 PMT 设置,扫描分辨率是 10mm。如所述 (Calin, G. A., 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA101:11755-11760(2004);Iorio, M. V., 等人, Cancer Res. 65:7065-7070(2005)) 通过 RNA 印迹来证实数据。

[0187] 表 2. 在研究中使用的样品 (肿瘤和相应的正常样品)。

[0188]

肿瘤类型	癌症样品	正常样品
肺癌	123	123
乳腺癌	79	6*
结肠癌	46	8
胃癌	20	21
内分泌腺肿瘤	39	12
前列腺癌	56	7
所有组织 (527)	363	177

[0189] * 每个样品 5 个不相关的正常乳腺组织的集合 (总共 30 个不相关的个体)。

[0190] 计算分析。

[0191] 使用 GenePix Pro(Axon) 分析微阵列图像。对每个 miRNA 的重复点的平均值减去背景,标准化,并进行进一步分析。使用中位值阵列作为参照,通过使用每个芯片中位值标准化方法进行标准化。最后,选择测量在数据集合的 2 个类别中的至少最小类别中存在的 miRNA。在统计分析之前,将呼叫缺失(Absent call)的阈值设定为 4.5。该水平是在实验中检测到的平均最小强度水平。微小 RNA 命名是根据 Genome Browser(www.genome.ucsc.edu) 和在 Sanger Center 的微小 RNA 数据库 (Griffiths-Jones, S., Nucleic Acids Res32:D109-11(2004)); 在不符合的情况下,我们按照微小 RNA 数据库。在微阵列的显著性分析 (SAM) 内,使用 t 检验方法,鉴定差异表达的微小 RNA (Tusher, V. G., 等人, Proc Natl Acad Sci U S A98:5116-21(2001)。在相对于所有测量的标准偏差的表达变化的基础上, SAM 计算每个基因的评分。在 SAM 内,使用 t 检验。使用最近萎缩图心方法,确定微小 RNA 特征(signature)。该方法鉴定出将每种实体癌与它各自的正常对应物最佳表征区分开的基因亚群。借助于 10- 倍交叉验证,计算预测误差,对于每种癌症,我们得到产生最小预测误差的 miR 特征。通过随机置换分析进行再取样检验,以计算共有特征的 p- 值。

[0192] 实施例 1: 人实体癌中微小 RNA 表达特征的鉴定

[0193] 统计学

[0194] 使用减少数目的肺样品 (80 个癌症和 40 个正常样品),进行组合的癌症 / 正常组织对比,以便在数字上平衡不同的组织,产生共 404 个样品。对于统计分析,从测量的 228 个 miR 中保留 137 个 miR,它们的表达值在至少 50% 的样品中超过 256 (阈值)。T 检验用于鉴定差异表达的微小 RNA (表 3)。为多个检验程序校正 T 检验的 p- 值,以控制 I 型误差率。通过用 500,000 个置换进行再取样,得到经调节后的 p 值 (Jung, S. H., 等人 Biostatistics6:157-69(2005))。使用与 Lu 等人 (Lu, J., 等人, Nature435:834-8(2005)) 相同的方法,进行该分析,以便评价结果。

[0195] 作为 T 检验的一个替代方案,使用微阵列的显著性分析 (SAM) 来鉴定差异表达的

微小 RNA。该方法允许控制假检出率 (FDR)。选择 δ , 以产生小于或等于 0.01 的 FDR。然后使用如在 PAM (微阵列的预测分析) 中实施的最近萎缩图心方法, 鉴定出产生最佳肿瘤分类的微小 RNA 子集 (即, 它们最佳地预测这 2 个类别 (癌症和正常))。借助于 10- 倍交叉验证的平均值, 计算预测误差。选择在交叉验证后产生最小错分类误差的微小 RNA。

[0196] 结果

[0197] 通过 T- 检验, 得到 43 种差异表达的 miR, 经调节后的 p- 值低于 0.05 (表 3)。当 6 种实体癌 (乳腺, 结肠, 肺, 胰腺, 前列腺, 胃) 分组在一起时, 与相应的正常组织相比, 26 种 miR 过表达, 17 种表达不足。这些结果表明, 在实体癌中表达的 miRNA 的谱非常不同于正常细胞 (43/137 的 miRNA, 31%)。使用 SAM, 将 49 种 miRNA 鉴定为差异表达的, 其中 34 种是增量调节的 (表 4)。使用 PAM, 将 36 种在癌症中过表达的 miRNA (由正癌症评分指示) 和 21 种减量调节的 miR (由负癌症评分指示) 鉴定为差异表达的 (表 5)。但是, 这些分析不适于鉴定始终一致地导致转化的 miR 表达改变, 因为 miR 表达是高度组织特异性的 (He, L., 等人 Nature 435:828-833 (2005); 也参见图 1 和图 2)。

[0198] 在图 1 中显示了使用 228 个 miR, 基于源自 363 个实体癌和 177 个正常样品的表达谱的 miR 聚类。使用在至少 50% 的研究用样品中表达的 137 个不同 miRNA, 构建出显示不同组织之间非常好的区分的树。表 3. 相对于正常组织在 6 种实体癌类型中差异调节的 miR (T 检验统计学)*。

[0199]

miR	ID	癌症 平均值	正常 平均值	Test stat	粗P	调节后 的p
miR-21	#47	11.538663	9.648338	7.861136	2.00E-06	2.00E-06
miR-141	#137	9.024091	7.905398	6.238014	2.00E-06	2.00E-06
miR-212	#208	13.540651	14.33617	-6.57942	2.00E-06	2.00E-06
miR-128a prec	#113	12.32588	13.522675	-6.76388	2.00E-06	2.00E-06
miR-138-2	#133	11.739557	13.144746	-7.01204	2.00E-06	2.00E-06
miR-218-2	#221	11.279787	12.539366	-7.40557	2.00E-06	2.00E-06
miR-23b	#51	14.169748	15.949736	-8.37744	2.00E-06	2.00E-06
miR-195	#184	10.343991	9.172985	5.763262	2.00E-06	1.00E-05
miR-212 prec	#209	12.686966	13.661763	-5.83132	4.00E-06	1.00E-05
miR-29b-2	#95	11.27556	9.940731	5.660854	2.00E-06	1.40E-05
miR-199a-1	#191	10.032008	8.920183	5.528849	2.00E-06	3.00E-05
miR-9-3	#28	11.461922	12.570412	-5.43006	2.00E-06	4.60E-05
miR-128a	#114	13.024235	13.856624	-5.35102	6.00E-06	7.20E-05
let-7a-1	#1	12.616569	13.455246	-5.35346	2.00E-06	7.20E-05
let-7b	#5	13.42636	14.068521	-5.17701	1.00E-05	0.000146
miR-16-2	#39	10.460707	9.305895	5.048375	4.00E-06	0.000224
miR-199a-2	#192	9.714225	8.759237	4.862553	1.00E-05	0.000494
miR-152 prec	#151	11.388676	12.357529	-4.83716	2.00E-06	0.00053
miR-16-1	#38	10.443169	9.338182	4.755258	1.00E-05	0.00071
miR-30d	#72	13.982017	14.775206	-4.5707	1.20E-05	0.001476
miR-34a	#78	10.675566	9.63769	4.467301	2.60E-05	0.00217
miR-17-5p	#41	11.567244	10.281468	4.341834	3.80E-05	0.0034
miR-128b	#115	10.930395	9.947746	4.304764	3.80E-05	0.003912
miR-20a	#46	11.409852	10.19284	4.304678	3.20E-05	0.003912
miR-181b-1 prec	#211	9.577504	8.804294	4.285968	4.80E-05	0.004126
miR-132	#121	9.599947	8.775966	4.284737	5.60E-05	0.004126
miR-200b	#195	9.475221	8.527243	4.221511	4.00E-05	0.0052
let-7a-3	#4	10.436089	9.511546	4.08952	0.000104	0.008242
miR-138-1	#132	8.299613	9.200253	-4.05204	5.60E-05	0.00931
miR-29c	#65	11.291005	10.326912	4.019385	0.000144	0.010312
miR-29a	#62	11.381359	10.461075	4.013697	0.00015	0.010398
miR-96	#86	11.37218	12.136636	-3.94825	0.000138	0.012962
miR-191	#177	13.498207	12.729872	3.817228	0.000158	0.02015
miR-27a	#59	10.399338	9.548582	3.715048	0.000344	0.028096
let-7g	#15	10.819688	10.01157	3.653239	0.000426	0.033874
miR-9-1	#24	10.102819	9.212988	3.651886	0.000388	0.033874
miR-125a	#107	10.960998	10.005312	3.651356	0.000452	0.033874
miR-95	#84	9.435733	8.751331	3.59406	0.000478	0.039594
miR-155	#157	12.505359	13.231221	-3.58369	0.000614	0.040394
miR-199b	#194	9.755066	9.082751	3.55934	0.000588	0.04314
miR-24-2	#54	12.611696	11.612557	3.518774	0.00087	0.048278
let-7e	#11	12.497795	13.055093	-3.51589	0.00054	0.048354
miR-92-1	#81	16.081074	16.592426	-3.50446	0.000928	0.049828

[0200] *—43 种 miR 具有低于 0.05 的调节后 p- 值。在乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌中, 26 种 miR 过表达, 17 种减量调节。表 4. 相对于正常组织在 6 种实体癌类型中差异调节的 miR (SAM, 微阵列的显著性分析)*。

miR	ID	d. 值	标准差	p-值	q-值	R-值
miR-21	#47	3.156		0	0	2.593
miR-23b	#51	-3.117	0.212	0	0	0.443
miR-138-2	#133	-2.514	0.2	0	0	0.402
miR-218-2	#221	-2.383	0.17	0	0	0.384
miR-29b-2	#95	2.246	0.236	0	0	1.868
miR-128a prec.	#113	-2.235	0.177	0	0	0.368
miR-195	#184	2.083	0.203	0	0	1.695
miR-141	#137	2.08	0.179	0	0	2.459
miR-199a-1	#191	1.987	0.201	0	0	1.945
miR-9-3	#28	-1.97	0.204	0	0	0.433
miR-16-2	#39	1.966	0.229	0	0	1.788
miR-17-3p	#41	1.964	0.256	0	0	0.725
miR-20a	#46	1.898	0.283	0	0	0.969
miR-16-1	#38	1.87	0.232	0	0	1.447
miR-212 prec.	#209	-1.854	0.167	0	0	0.509
miR-34a	#78	1.756	0.232	0	0	1.219
miR-152 prec.	#151	-1.734	0.2	0	0	0.46
miR-199a-2	#192	1.721	0.196	0	0	1.838
miR-128b	#115	1.674	0.228	0	0	1.266
miR-212	#208	-1.659	0.121	0	0	0.627
let-7a-1	#1	-1.628	0.157	0	0	0.461
miR-200b	#195	1.626	0.225	0	0	1.432
miR-128a	#114	-1.619	0.156	0	0	0.511
miR-29c	#65	1.611	0.24	0	0	1.228
let-7a-3	#4	1.581	0.226	0	0	1.109
miR-29a	#62	1.565	0.229	0	0	1.706
miR-24-2	#54	1.555	0.284	0	0	0.831
miR-138-1	#132	-1.531	0.222	0	0	0.432
miR-125a	#107	1.541	0.262	0	0	1.164
miR-106a	#99	1.514	0.275	0	0	0.932
miR-132	#121	1.496	0.192	0	0	2.158
miR-30b	#72	-1.491	0.174	0	0	0.424
miR-9-1	#24	1.478	0.244	0	0	0.763
miR-27a	#59	1.448	0.229	0	0	1.174
miR-181b-1 prec.	#211	1.435	0.18	0	0	1.523
let-7g	#15	1.394	0.221	0	0	1.072
miR-96	#86	-1.384	0.194	0	0	0.519
miR-191	#177	1.372	0.201	0	0	1.163
miR-93-1	#83	1.363	0.266	0	0	0.735
miR-136	#130	-1.355	0.267	0	0	0.364
miR-203	#201	1.343	0.309	0	0	1.281
miR-185	#170	1.287	0.222	0.001	0.001	0.609
miR-125b-1	#109	1.262	0.283	0.001	0.001	1.213
miR-10a	#30	1.232	0.227	0.001	0.001	1.643
miR-95	#84	1.247	0.19	0.001	0.001	1.509
miR-199b	#194	1.228	0.189	0.001	0.001	1.246
miR-10b	#32	1.219	0.232	0.002	0.001	1.342
let-7f	#10	1.216	0.203	0.002	0.001	1.026
miR-210	#205	1.213	0.237	0.002	0.001	1.088

[0202] *—在乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌中,35种miR过表达,14种减量调节 ($\delta=0.9$, FDR=0.001)。

[0203] 表 5. 通过 PAM(微阵列的预测分析)选择的微小 RNA,6 种实体癌类型相对于正常组织中 *

	miR	ID	实体瘤评分	正常组织评分
	miR-21	#47	0.0801	-0.2643
	miR-138-2	#133	-0.055	0.1815
	miR-218-2	#221	-0.0535	0.1765
	miR-23b	#51	-0.0316	0.17
	miR-128a prec	#113	-0.0498	0.1632
	miR-29b-2	#95	0.0457	-0.1558
	miR-195	#184	0.0404	-0.1333
	miR-17-5p	#41	0.0383	-0.1263
	miR-9-3	#28	-0.0357	0.1176
	miR-212 prec	#209	-0.0342	0.1129
	miR-20a	#46	0.0322	-0.1061
	miR-141	#137	0.0322	-0.1061
	miR-199a-1	#191	0.0319	-0.1053
	miR-16-2	#39	0.0315	-0.1037
	miR-152 prec	#151	-0.0283	0.0933
	miR-16-1	#38	0.0277	-0.0913
	miR-34a	#78	0.0269	-0.0886
	miR-212	#208	-0.0265	0.0875
	let-7a-1	#1	-0.0264	0.0872
	miR-128a	#114	-0.0259	0.0855
	miR-128b	#115	0.0254	-0.0839
[0204]	miR-24-2	#54	0.0244	-0.0803
	miR-29c	#65	0.0234	-0.0738
	miR-199a-2	#192	0.0223	-0.0736
	let-7a-3	#4	0.0221	-0.073
	miR-191	#177	0.0188	-0.062
	miR-125a	#107	0.0186	-0.0613
	miR-30d	#72	-0.0155	0.061
	miR-29a	#62	0.0184	-0.0608
	miR-106a	#99	0.0177	-0.0584
	miR-93-1	#83	0.0163	-0.0537
	miR-200b	#195	0.0159	-0.0524
	let-7g	#15	0.0158	-0.0521
	miR-27a	#59	0.0157	-0.0518
	miR-96	#86	-0.0156	0.0514
	let-7b	#5	-0.0152	0.0501
	miR-138-1	#132	-0.0151	0.0499
	miR-9-1	#24	0.0136	-0.0448
	miR-181b-1 prec	#211	0.0134	-0.0442
	miR-155	#157	-0.0128	0.0423
	miR-132	#121	0.0127	-0.0418
	miR-136	#130	-0.0112	0.037
	let-7f	#10	0.0103	-0.034
	miR-210	#205	0.0074	-0.0245
	miR-205	#201	0.0073	-0.024
	miR-185	#170	0.0071	-0.0234
	miR-24-1	#52	0.007	-0.023
	miR-199b	#194	0.0064	-0.021
	miR-125b-1	#109	0.006	-0.0199
	miR-206 prec	#203	-0.005	0.0166
	miR-110a	#30	0.0045	-0.015
[0205]	miR-95	#84	0.0045	-0.0149
	let-7e	#11	-0.0039	0.013
	miR-124e-3	#106	-0.0028	0.0091
	miR-10b	#32	0.002	-0.0066
	miR-185 prec	#171	-0.0014	0.0047
	miR-92-1	#81	-2.00E-04	5.00E-04

[0206] *—T=1.5, 误分类误差=0.176。正癌症评分指示 36 种在癌症中过表达的 miR；负癌

症评分指示 21 种减量调节的 miR。

[0207] 实施例 2: 与不同人实体癌有关的微小 RNA 表达特征的鉴定

[0208] 结果

[0209] 为了鉴定预示与实体癌有关的癌症状态的微小 RNA, 而不招致由于组织特异性的偏倚, 使用了一个替代方案。首先, 通过进行独立的 PAM 检验 (总结在表 6 和 7 中), 得到 6 种组织 - 特异性的特征, 每种对应一种癌症组织型。在表 8-13 中显示了每种癌症的特异性特征: 例如, 乳腺癌 - 表 8; 结肠癌 - 表 9; 肺癌 - 表 10; 胰腺癌 - 表 11; 前列腺癌 - 表 12; 胃癌 - 表 13。使用这些数据, 鉴定出在不同组织型 miRNA 特征之间共有的失调的微小 RNA (表 14)。为了计算用于该对比分析的 p- 值, 进行对 miRNA 身份的 1,000,000 个随机置换的再取样检验。将 p- 值定义为超过实际评分的模拟评分的相对频率。鉴定出至少 3 类实体癌共有的 21 种错误调节的微小 RNA ($p\text{-值}=2.5 \times 10^{-3}$) (表 14)。表 6. 用于区分人癌症和正常组织的微小 RNA*。

[0210]

癌症	增量调节的 miR	减量调节的 miR	10 倍交叉验证后的 错误分类误差
乳腺癌	15	12	0.08
结肠癌	21	1	0.09
肺癌	35	3	0.31
胰腺癌	55	2	0.02
前列腺癌	39	6	0.11
胃癌	22	6	0.19

[0211] *- 进行中位值标准化, 使用最近萎缩图心方法来选择预测性的 miRNA。

[0212] 表 7. 在实体普通癌中失调的微小 RNA*。

癌症	PAM增量调节的	SAM增量调节的	PAM减量调节的	SAM减量调节的
乳腺癌	15	3 (FDR=0.33)	12	47
结肠癌	21	42 (FDR<=0.06)	1	5
肺癌	35	38 (FDR<=0.01)	3	3
胰腺癌	55	50 (FDR<=0.01)	2	8
胃癌	22	22 (FDR=0.06)	6	4
前列腺癌	39	49 (FDR=0.06)	6	3

[0214] *- 微阵列的预测分析 (PAM) 鉴定出了最佳表征癌症和正常组织的那些基因, 同时

微阵列的显著性分析 (SAM) 鉴定出了在 2 类中具有差异表达的所有基因。在括号中标出了在 SAM 中计算的误检率 (FDR)。

[0215] 表 8. 通过微阵列的预测分析 (PAM) 在乳腺癌中选择的微小 RNA (癌症相对于正常组织)*.

	miR	癌症评分	正常组织评分
	miR-21 (#47)	0.0331	-0.4364
	miR-29b-2 (#95)	0.0263	-0.3467
	miR-146 (#144)	0.0182	-0.2391
	miR-125b-2 (#111)	-0.0174	0.2286
	miR-125b-1 (#109)	-0.0169	0.222
	miR-10b (#32)	-0.0164	0.2166
	miR-145 (#143)	-0.0158	0.2076
	miR-181a (#158)	0.0153	-0.201
	miR-140 (#136)	-0.0122	0.1613
	miR-213 (#160)	0.0116	-0.1527
	miR-29a prec (#63)	0.0109	-0.1441
	miR-181b-1 (#210)	0.0098	-0.1284
[0216]	miR-199b (#194)	0.0089	-0.1172
	miR-29b-1 (#64)	0.0084	-0.1111
	miR-130a (#120)	-0.0076	0.1001
	miR-155 (#157)	0.0072	-0.0951
	let-7a-2 (#3)	-0.0042	0.0554
	miR-205 (#201)	-0.004	0.0533
	miR-29c (#65)	0.0032	-0.0423
	miR-224 (#228)	-0.003	0.0399
	miR-100 (#91)	-0.0021	0.0283
	miR-31 (#73)	0.0017	-0.022
	miR-30c (#70)	-7.00E-04	0.009
	miR-17-5p (#41)	7.00E-04	-0.0089
	miR-210 (#205)	4.00E-04	-0.0057
	miR-122a (#101)	4.00E-04	-0.005
	miR-16-2 (#39)	-1.00E-04	0.0013

[0217] *27 种选择的 miR, 在交叉验证后误分类误差为 0.008。正癌症评分指示 17 种在癌症中过表达的 miR; 负癌症评分指示 12 种减量调节的 miR。

[0218] 表 9. 通过微阵列的预测分析 (PAM) 在结肠癌中选择的微小 RNA (癌症相对于正常组织)*.

[0219]

miR	癌症评分	正常组织评分
miR-24-1 (#52)	0.0972	-0.5589
miR-29b-2 (#95)	0.0669	-0.3845
miR-20a (#46)	0.0596	-0.3424
miR-10a (#30)	0.0511	-0.2938
miR-32 (#75)	0.0401	-0.2306
miR-203 (#197)	0.0391	-0.2251
miR-106a (#99)	0.0364	-0.2094
miR-17-5p (#41)	0.0349	-0.2005
miR-30c (#70)	0.0328	-0.1888
miR-223 (#227)	0.0302	-0.1736
miR-126* (#102)	0.0199	-0.1144
miR-128b (#115)	0.0177	-0.102
miR-21 (#47)	0.0162	-0.0929
miR-24-2 (#54)	0.0145	-0.0835
miR-99b prec (#88)	0.0125	-0.0721
miR-155 (#157)	0.0092	-0.0528
miR-213 (#160)	0.0091	-0.0522
miR-150 (#148)	0.0042	-0.0243
miR-107 (#100)	0.003	-0.0173
miR-191 (#177)	0.0028	-0.0159
miR-221 (#224)	0.002	-0.0116
miR-9-3 (#28)	-0.0014	0.0083

[0220] *22 种选择的 miR, 在交叉验证后误分类误差为 0.09。正癌症评分指示 21 种在癌症中过表达的 miR; 负癌症评分指示 1 种减量调节的 miR。

[0221] 表 10. 通过微阵列的预测分析 (PAM) 在肺癌中选择的微小 RNA (癌症相对于正常组织)*。

miR	癌症评分	正常组织评分
miR-21 (#47)	0.175	-0.175
miR-205 (#201)	0.1317	-0.1317
miR-200b (#195)	0.1127	-0.1127
miR-9-1 (#24)	0.1014	-0.1014
miR-210 (#205)	0.0994	-0.0994
miR-148 (#146)	0.0737	-0.0737
miR-141 (#137)	0.0631	-0.0631
miR-132 (#121)	0.0586	-0.0586
miR-215 (#213)	0.0575	-0.0575
miR-128b (#115)	0.0559	-0.0559
let-7g (#15)	0.0557	-0.0557
miR-16-2 (#39)	0.0547	-0.0547
miR-129-1/2 prec (#118)	0.0515	-0.0515
miR-126* (#102)	-0.0406	0.0406
miR-142-as (#139)	0.0366	-0.0366
miR-30d (#72)	-0.0313	0.0313
miR-30a-5p (#66)	-0.0297	0.0297
miR-7-2 (#21)	0.0273	-0.0273
miR-199a-1 (#191)	0.0256	-0.0256
miR-127 (#112)	0.0254	-0.0254
miR-34a prec (#79)	0.0214	-0.0214
miR-34a (#78)	0.0188	-0.0188
miR-136 (#130)	0.0174	-0.0174
miR-202 (#196)	0.0165	-0.0165
miR-198-2 (#168)	0.0134	-0.0134
miR-199a-2 (#192)	0.0126	-0.0126
let-7a-2 (#3)	0.0109	-0.0109
miR-124a-1 (#104)	0.0081	-0.0081
miR-149 (#147)	0.0079	-0.0079
miR-17-5p (#41)	0.0061	-0.0061
miR-196-1 prec (#186)	0.0053	-0.0053
miR-10a (#30)	0.0049	-0.0049
miR-99b prec (#88)	0.0045	-0.0045
miR-198-1 (#165)	0.0044	-0.0044
miR-199b (#194)	0.0039	-0.0039
miR-191 (#177)	0.0032	-0.0032
miR-195 (#184)	7.00E-04	-7.00E-04
miR-155 (#157)	7.00E-04	-7.00E-04

[0223] *38 种选择的 miR, 在交叉验证后误分类误差为 0.31。正癌症评分指示 35 种在癌症中过表达的 miR; 负癌症评分指示 3 种减量调节的 miR。

[0224] 表 11. 通过微阵列的预测分析 (PAM) 在胰腺癌中选择的微小 RNA (癌症相对于正常组织)*。

[0225]

miR	癌症评分	正常组织评分
miR-103-2 (#96)	0.4746	-1.582
miR-103-1 (#97)	0.4089	-1.3631
miR-24-2 (#54)	0.4059	-1.3529
miR-107 (#100)	0.3701	-1.2336
miR-100 (#91)	0.3546	-1.182
miR-125b-2 (#111)	0.3147	-1.0489
miR-125b-1 (#109)	0.3071	-1.0237
miR-24-1 (#52)	0.2846	-0.9488
miR-191 (#177)	0.2661	-0.887
miR-23a (#50)	0.2586	-0.8619
miR-26a-1 (#56)	0.2081	-0.6937
miR-125a (#107)	0.1932	-0.644
miR-130a (#120)	0.1891	-0.6303
miR-26b (#58)	0.1861	-0.6203
miR-145 (#143)	0.1847	-0.6158
miR-221 (#224)	0.177	-0.59
miR-126* (#102)	0.1732	-0.5772
miR-16-2 (#39)	0.1698	-0.5659
miR-146 (#144)	0.1656	-0.552
miR-214 (#212)	0.1642	-0.5472
miR-99b (#89)	0.1636	-0.5454
miR-128b (#115)	0.1536	-0.512
miR-155 (#157)	-0.1529	0.5098
miR-29b-2 (#95)	0.1487	-0.4956
miR-29a (#62)	0.1454	-0.4848

[0226] 表 11(续)。通过微阵列的预测分析(PAM)在胰腺癌中选择的微小 RNA(癌症相对于正常组织)*。

[0227]

miR	癌症评分	正常组织评分
miR-25 (#55)	0.1432	-0.4775
miR-16-1 (#38)	0.1424	-0.4746
miR-99a (#90)	0.1374	-0.4581
miR-224 (#228)	0.1365	-0.4549
miR-30d (#72)	0.1301	-0.4336
miR-92-2 (#82)	0.116	-0.3865
miR-199a-1 (#191)	0.1158	-0.3861
miR-223 (#227)	0.1141	-0.3803
miR-29c (#65)	0.113	-0.3768
miR-30b (#68)	0.1008	-0.3361
miR-129-1/2 (#117)	0.1001	-0.3337
miR-197 (#189)	0.0975	-0.325
miR-17-5p (#41)	0.0955	-0.3185
miR-30c (#70)	0.0948	-0.316
miR-7-1 (#19)	0.0933	-0.311
miR-93-1 (#83)	0.0918	-0.3061
miR-140 (#136)	0.0904	-0.3015
miR-30a-5p (#66)	0.077	-0.2568
miR-132 (#121)	0.0654	-0.2179
miR-181b-1 (#210)	0.0576	-0.1918
miR-152 prec (#151)	-0.0477	0.1591
miR-23b (#51)	0.0469	-0.1562
miR-20a (#46)	0.0452	-0.1507
miR-222 (#225)	0.0416	-0.1385
miR-27a (#59)	0.0405	-0.1351
miR-92-1 (#81)	0.0332	-0.1106
miR-21 (#47)	0.0288	-0.0959
miR-129-1/2 prec (#118)	0.0282	-0.0939
miR-150 (#148)	0.0173	-0.0578
miR-32 (#75)	0.0167	-0.0558
miR-106a (#99)	0.0142	-0.0473
miR-29b-1 (#64)	0.0084	-0.028

[0228] *57 种选择的 miR, 在交叉验证后误分类误差为 0.02。癌症中 57 种 miR 过表达和 2 种 miR 减量调节 (分别由正评分和负评分指示)。

[0229] 表 12. 通过微阵列的预测分析 (PAM) 在前列腺癌中选择的微小 RNA (癌症相对于正常组织)*。

[0230]

miR	癌症评分	正常组织评分
let-7d (#8)	0.0528	-0.4227
miR-128a prec (#113)	-0.0412	0.3298
miR-195 (#184)	0.04	-0.3199
miR-203 (#197)	0.0356	-0.2851
let-7a-2 prec (#2)	-0.0313	0.2504
miR-34a (#78)	0.0303	-0.2428
miR-20a (#46)	0.029	-0.2319
miR-218-2 (#221)	-0.0252	0.2018
miR-29a (#62)	0.0247	-0.1978
miR-25 (#55)	0.0233	-0.1861
miR-95 (#84)	0.0233	-0.1861
miR-197 (#189)	0.0198	-0.1587
miR-135-2 (#128)	0.0198	-0.1582
miR-187 (#173)	0.0192	-0.1535
miR-196-1 (#185)	0.0176	-0.1411
miR-148 (#146)	0.0175	-0.1401
miR-191 (#177)	0.017	-0.136
miR-21 (#47)	0.0169	-0.1351
let-7i (#10)	0.0163	-0.1303
miR-198 (#190)	0.0145	-0.1161
miR-199a-2 (#192)	0.0136	-0.1088
miR-30c (#70)	0.0133	-0.1062
miR-17-5p (#41)	0.0132	-0.1053
miR-92-2 (#82)	0.012	-0.0961
miR-146 (#144)	0.0113	-0.0908
miR-181b-1 prec (#211)	0.011	-0.0878
miR-32 (#75)	0.0109	-0.0873

[0231] 表 12(续)。通过微阵列的预测分析(PAM)在前列腺癌中选择的微小 RNA(癌症相对于正常组织)*。

[0232]

miR	癌症评分	正常组织评分
miR-206 (#202)	0.0104	-0.083
miR-184 prec (#169)	0.0096	-0.0764
miR-29a prec (#63)	-0.0095	0.076
miR-29b-2 (#85)	0.0092	-0.0739
miR-149 (#147)	-0.0084	0.0676
miR-181b-1 (#210)	0.0049	-0.0392
miR-196-1 prec (#186)	0.0042	-0.0335
miR-93-1 (#83)	0.0039	-0.0312
miR-223 (#227)	0.0038	-0.0308
miR-16-1 (#38)	0.0028	-0.0226
miR-101-1 prec (#92)	0.0015	-0.0123
miR-124a-1 (#104)	0.0015	-0.0119
miR-26a-1 (#56)	0.0015	-0.0119
miR-214 (#212)	0.0013	-0.0105
miR-27a (#59)	0.0011	-0.0091
miR-24-1 (#53)	-8.00E-04	0.0067
miR-106a (#99)	7.00E-04	-0.0057
miR-199a-1 (#191)	4.00E-04	-0.0029

[0233] *—T=1, 45 种选择的 miR, 在交叉验证后误分类误差为 0.11。正癌症评分指示 39 种在癌症中过表达的 miR; 负癌症评分指示 6 种减量调节的 miR。

[0234] 表 13. 通过微阵列的预测分析 (PAM) 在胃癌中选择的微小 RNA (癌症相对于正常组织) *。

[0235]

miR	癌症评分	正常组织评分
miR-223 (#227)	0.1896	-0.1806
miR-21 (#47)	0.1872	-0.1783
miR-218-2 (#221)	-0.1552	0.1478
miR-103-2 (#96)	0.1206	-0.1148
miR-92-2 (#82)	0.1142	-0.1088
miR-25 (#55)	0.1097	-0.1045
miR-136 (#130)	-0.1097	0.1045
miR-191 (#177)	0.0946	-0.0901
miR-221 (#224)	0.0919	-0.0876
miR-125b-2 (#111)	0.0913	-0.0869
miR-103-1 (#97)	0.0837	-0.0797
miR-214 (#212)	0.0749	-0.0713
miR-222 (#225)	0.0749	-0.0713
miR-212 prec (#209)	-0.054	0.0514
miR-125b-1 (#109)	0.0528	-0.0503
miR-100 (#91)	0.0526	-0.0501
miR-107 (#100)	0.0388	-0.0369
miR-92-1 (#81)	0.0369	-0.0351
miR-96 (#86)	-0.0306	0.0291
miR-192 (#178)	0.0236	-0.0224
miR-23a (#50)	0.022	-0.021
miR-215 (#213)	0.0204	-0.0194
miR-7-2 (#21)	0.0189	-0.018
miR-138-2 (#133)	-0.0185	0.0176
miR-24-1 (#52)	0.0151	-0.0144
miR-99b (#89)	0.0098	-0.0093
miR-33b (#76)	-0.0049	0.0046
miR-24-2 (#54)	0.0041	-0.0039

[0236] *-T=1, 28 种选择的 miR, 在交叉验证后误分类误差为 0.19。正癌症评分指示 22 种在癌症中过表达的 miR; 负癌症评分指示 6 种减量调节的 miR。

[0237] 表 14.6 种实体癌的特征共有的微小 RNA*。

miR	数量	肿瘤类型
miR-21	6	乳腺 结肠 肺 胰腺 前列腺 胃
miR-17-5p	5	乳腺 结肠 肺 胰腺 前列腺
miR-191	5	结肠 肺 胰腺 前列腺 胃
miR-29b-2	4	乳腺 结肠 胰腺 前列腺
miR-223	4	结肠 胰腺 前列腺 胃
miR-128b	3	结肠 肺 胰腺
miR-199a-1	3	肺 胰腺 前列腺
miR-24-1	3	结肠 胰腺 胃
miR-24-2	3	结肠 胰腺 胃
miR-146	3	乳腺 胰腺 前列腺
miR-155	3	乳腺 结肠 肺
miR-181b-1	3	乳腺 胰腺 前列腺
miR-20a	3	结肠 胰腺 前列腺
miR-107	3	结肠 胰腺 胃
miR-32	3	结肠 胰腺 前列腺
miR-92-2	3	胰腺 前列腺 胃
miR-214	3	胰腺 前列腺 胃
miR-30c	3	结肠 胰腺 前列腺
miR-25	3	胰腺 前列腺 胃
miR-221	3	结肠 胰腺 胃
miR-106a	3	结肠 胰腺 前列腺

[0239] *- 列表包括 3 或多种 (N) 实体瘤类型中的 21 种共同增量调节的微小 RNA (p - 值 $=2.5 \times 10^{-3}$)。

[0240] 为了最简洁, 计算了 6 个癌症 / 正常对的失调 miR 的平均绝对表达水平。使用综合子集中的 miR 的表达水平, 正确地分类不同的组织, 无论疾病状态 (图 3)。

[0241] 图 4 显示了相对于正常组织, 不同肿瘤组织之间共同微小 RNA 的差异表达。树显示了根据 miRNA 子集中倍数变化的不同癌症类型。其中前列腺、结肠、胃和胰腺组织最相似, 而肺和乳腺组织由相当不同的特征代表 (图 4)。该树清楚地显示了哪些 miRNA 与特定癌症组织型有关。

[0242] 引入注目的是, miR-21, miR-191 和 miR-17-5p 在所有 (或 5/6) 考虑的肿瘤类型中显著过表达。据报道, miR-21 在成胶质细胞瘤中过表达且具有抗细胞凋亡性质 (Chan, J. A., 等人, Cancer Res. 65:6029-6033(2005))。肺癌与乳腺癌共有它的特征的一部分, 且与其它实体瘤共有一部分, 包括 miR-17/20/92, 所有这三者都是活跃地与 c-Myc 协作以加速淋巴瘤生成的微小 RNA 簇的成员 (He, L., 等人, Nature 435:828-833(2005))。这些微小 RNA 过表达的鉴定, 是对我们的方案的非常好的证实。激活的第二个 miRNA 组包括

miR-210 和 miR-213, 以及 miR-155, 后者已经报道在大细胞淋巴瘤 (Eis, P. S., 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:3627-3632 (2005))、具有伯基特淋巴瘤的儿童 (Metzler, M., 等人, Genes Chromosomes Cancer 39:167-169 (2004)) 和多种 B 细胞淋巴瘤 (Kluiver, J., 等人, J. Pathol., 在线电子版, July 22, 2005) 中扩增。这些微小 RNA 是在乳腺癌和肺癌中仅有的增量调节的。miR-218-2 在结肠癌、胃癌、前列腺癌和胰腺癌中一致地减量调节, 但是在肺癌和乳腺癌中则不然。

[0243] 几个观察结果强化了这些结果。首先, 在该研究中, 测定大多数基因的前体前-miRNA 和成熟 miRNA 的表达水平。注意到, 除了 miR-212 和 miR-128a 以外, 在所有其它的情况下, 异常表达的区域是与有活性的基因产物相对应的区域。其次, 如图 3 所示, 综合子集中 miRNA 的表达变化在不同类型的癌症之间经常是单一的 (即, 减量或增量调节), 这暗示着在人肿瘤发生中的共同机制。第三, 通过 12 个乳腺样品 (miR-125b, miR-145 和 miR-21; Iorio, M. V., 等人, Cancer Res. 65:7065-7070 (2005)) 和 17 个内分泌胰腺和正常样品 (miR-103, miR-155 和 miR-204; 数据未显示) 的溶液杂交, 验证了微阵列数据, 这强烈证实了微阵列数据的准确性。

[0244] 实施例 3: 在实体瘤中失调的微小 RNA 的预测靶的鉴定

[0245] 材料和方法:

[0246] 肿瘤抑制基因和癌基因靶预测

[0247] 使用最近的 TargetScan 预测 (2005 年 4 月) 来鉴定推定的微小 RNA 靶。它们主要包括 Lewis 等人报道的 3' UTR 靶 (Lewis, B. P., 等人, Cell 120:15-20 (2005)), 其中的几个变化源自 2005 年 4 月 UCSC Genome Browser 更新的基因边界定义, 所述 UCSC Genome Browser 将 RefSeq mRNA 作图到 hg17 人基因组集合。在推定的靶中, 根据它们在可以在因特网网站 www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/ 得到或由 OMIM 报道在 www.ncbi.nlm.nih.gov 的 Cancer Gene Census 中的鉴定, 标明已知的癌症基因 (肿瘤抑制基因和癌基因)。

[0248] 靶体外试验

[0249] 对于萤光素酶报道分子测定, 通过 PCR, 从人基因组 DNA 扩增预测与特定的癌症相关微小 RNA 相互作用的 Rb1、TGFBR2 和 Plag1 的 3' UTR 区段, 并使用在紧邻萤光素酶终止密码子下游的 XbaI 位点, 插入 pGL3 对照载体 (Promega)。在 37°C、在 5%CO₂ 的控湿气氛下, 使人巨核细胞系 MEG-01 生长在于 RPMI 培养基 1640 中的 10%FBS 中, 其中添加了 1x 非必需氨基酸和 1mmol 丙酮酸钠。根据生产商的手册, 使用 siPORT neoFX (Ambion, Austin, TX), 使用 0.4 μg 的萤火虫萤光素酶报道载体和 0.08 μg 的含有花虫萤光素酶的对照载体 pRL-TK (Promega), 将细胞共转染进 12-孔平板。对于每个孔, 使用浓度为 10nM 的微小 RNA 寡核苷酸 (Dharmacon Research, Lafayette, CO) 和反义或混杂的寡核苷酸 (Ambion)。使用双-萤光素酶测定 (Promega), 在转染后 24 小时, 连续测量萤火虫和花虫萤光素酶活性。

[0250] RB1 的蛋白印迹

[0251] 使用蛋白印迹的标准方法, 使用小鼠单克隆抗-RB1 抗体 (Santa Cruz, CA), 定量 RB1 蛋白的水平。用小鼠单克隆抗-肌动蛋白抗体 (Sigma) 进行标准化。

[0252] 结果

[0253] 需要理解微小 RNA 失调在癌症中的功能意义。在实体瘤中, 最常见的微小 RNA 事件似乎是表达的获得, 而在癌症中表达的丧失是一种更有限的事件, 且是更组织特异性的。

我们使用了一个下述次序的三步骤因果方案：首先是靶的“计算机 (in silico)”预测，然后是癌症相关靶的初次验证的萤光素酶测定，最后是特定 miRNA:mRNA 相互作用物对的 miRNA 表达（通过微阵列）和靶蛋白表达（通过蛋白印迹）之间的离体肿瘤关联。癌症 miRNA 的相关靶可以是隐性的（例如肿瘤抑制基因）或显性的（例如癌基因）癌症基因。为了测试下述假说，即在实体瘤中失调的微小 RNA 靶向已知的癌基因或肿瘤抑制基因，使用 TargetScan，即保守的 3' UTR 微小 RNA 靶的数据库，确定这些 miRNA 的预测靶 (Lewis, B. P., 等人, Cell 120:15-20 (2005))。TargetScan 在共 22,402 个预测中含有在实体瘤中失调的 18 种 miRNA 的 5,121 个预测 (26.5%)。115/263 个 (44%) 众所周知的癌症基因被预测为这 18 种 miRNA 的靶 (表 15)。因为高百分比的癌症基因被在实体瘤中失调的 miR 靶向，这些预测不可能是由于偶然（在 Fisher 精确检验中， $P < 0.0001$ ）。

[0254] 通过体外测定，实验证实了 3 种不同癌症基因—视网膜母细胞瘤 (Rb)、TGF- β -2 受体 (TGFBR2) 和多形腺瘤基因 1 (PLAG1) 的计算机预测。使用萤光素酶报道分子测定，在转染的 MEG-01 细胞中与混杂的对照寡 RNA 相比，测试的 3 种微小 RNA (miR-106a, miR-20a 和 miR-26a-1) 造成了蛋白翻译的显著降低 (图 6)。例如，发现视网膜母细胞瘤 3' UTR 在功能上与 miR-106a 相互作用。以前的报道表明，Rb1 基因在结肠癌中正常转录，而多个部分的细胞不表达 Rb1 蛋白，这强化了该 miRNA:mRNA 相互作用的生物学重要性 (Ali, A. A., 等人, FASEB J. 7:931-937 (1993))。该发现暗示着调节 Rb1 的转录后机制的存在，这可以通过结肠癌中伴随的 miR-106a 过表达来解释 (图 4)。此外，miR-20a 在乳腺癌中减量调节 (图 4)，TGFBR2 蛋白在乳腺癌细胞上皮中表达 (Buck, M. B., 等人, Clin. Cancer Res. 10:491-498 (2004))。反之，miR-20a 在结肠癌中的过表达可以代表除了突变失活以外的减量调节 TGFBR2 的新颖机制 (Biswas, S., 等人, Cancer Res. 64:687-692 (2004))。

[0255] 最后，测试了一组患者样品，以验证 RB1 蛋白表达是否与 miR-106a 表达相关联 (图 5 和图 6B)。如预期的，在胃、前列腺和肺肿瘤样品中，RB1 减量调节（相对于配对的正常样品），且发现 miR-106a 过表达；而在乳腺肿瘤样品中，miR-106a 轻微减量调节 (图 5 和图 6B)，且 RB1 以比配对的正常对照略高的水平表达。

[0256] 这些实验证据强化了下述假说，即实体瘤中的关键癌症基因由 miR 的异常表达调节。这些数据为如以前由 Johnson 等人 (Johnson, S. M., 等人, Cell 120:635-647 (2005)) (关于 let-7:Ras 相互作用)、O'Donnell 等人 (O'Donnell, K. A., 等人, Nature 435:839-843 (2005)) (关于 miR-17-5p:cMyc 相互作用) 和 Cimmino 等人 (Cimmino, A., 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:13944-13949 (2005)) (关于 miR-16:Bcl2 相互作用) 所示的具有重要癌症基因靶的微小 RNA 列表增加了新的实例。值得注意的是，miR-17-5p 和 miR-16 是本文所述的 miRNA 实体瘤特征的成员。

[0257] 表 15. 由综合癌症子集通过 TargetScanS 预测为微小 RNA 的靶的癌基因和肿瘤抑制基因。*

[0258]

miRNA 基因	基因名称	基因描述
miR-26a, miR-146	ABL2	v-abl Abelson 鼠白血病病毒癌基因同系物 2 (arg, Abelson-相关基因)
miR-107	AF5q31	来自 5q31 的 ALL1 融合基因
miR-20, miR-125b	AKT3	v-akt 鼠胸腺瘤病毒癌基因同系物 3
miR-26a, miR-155 miR-125b	APC	腺瘤病结肠息肉病
miR-26a, miR-218	ARHGEF12	RHO 鸟嘌呤核苷酸交换因子 (GEF) 12 (LARG)
miR-107, miR-221	ARNT	芳基羟受体核转位分子
miR-192	ATF1	激活转录因子 1
miR-26a	ATM	运动失调性毛细血管扩张症突变的 (包括互补组 A、C 和 D)
miR-24 miR-26a, miR-107, miR-146, miR-155 miR-138, miR-92	AXL	AXL 受体酪氨酸激酶
miR-20	BCL11A	B-细胞 CLL/淋巴瘤 11A
miR-21	BCL11B	B-细胞 CLL/淋巴瘤 11B (CTIP2)
miR-26a, miR-26a miR-20,	BCL2	B-细胞 CLL/淋巴瘤 2
miR-92	BCL6	B-细胞 CLL/淋巴瘤 6 (锌指蛋白 51)
miR-26a, miR-223 miR-221, miR-125b	BCL9	B-细胞 CLL/淋巴瘤 9
miR-218	CBFB	核-结合因子, β 亚基
miR-20	CCDC6	含有卷曲螺旋结构域的 6
miR-26a, miR-20	CCND1	细胞周期蛋白 D1 (PRAD1: 甲状腺腺瘤病 1)
miR-26a, miR-107, miR-92	CCND2	细胞周期蛋白 D2
	CDK6	细胞周期蛋白-依赖性的激酶 6

[0259]

miR-20	CDKN1A	细胞周期蛋白-依赖性的激酶抑制剂1A (p21, Cip1)
miR-221, miR-92	CDKN1C	细胞周期蛋白-依赖性的激酶抑制剂1C (p57, Kip2)
miR-24	CDX2	尾型同源盒转录因子2
miR-92	CEBPA	CCAAT/增强子结合蛋白 (C/EBP), α
miR-26a	CLTC	阿格蛋白, 重多肽 (Hc)
miR-218	COL1A1	胶原, I型, $\alpha 1$
miR-26a	CREBBP	CREB结合蛋白 (CBP)
miR-20	CRK	v-crk 禽肉瘤病毒CT10癌基因同系物
miR-20	CSF1	集落刺激因子1 (巨噬细胞)
miR-221, miR-192	DDX6	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) 盒多肽6 (RNA 螺旋酶, 54kD)
miR-138	DEK	DEK癌基因 (DNA结合)
miR-20	E2F1	E2F 转录因子1
miR-20	ELK3	ELK3, ETS- 结构域蛋白 (SRF辅助蛋白2)
miR-24	ELL	ELL基因 (11-19赖氨酸-富集的白血病基因)
miR-26a, miR-138	ERBB4	v-erb-a 禽成红细胞白血病病毒癌基因同系物-样4
miR-221, miR-155, miR-125b	ETS1	v-ets 禽成红细胞增多症病毒E26癌基因同系物1
miR-20	ETV1	ets变体基因 1
miR-125b	ETV6	ets变体基因 6 (TEL癌基因)
miR-223	FAT	FAT肿瘤抑制基因 (果蝇) 同系物
miR-223, miR-125b, miR-218	FGFR2	成纤维细胞生长因子受体2
miR-92	FLI1	弗罗德白血病病毒整合1
miR-24, miR-20	FLT1	fas-相关的酪氨酸激酶1 (血管内皮生长因子/血管渗透性因子受体)
miR-221	FOS	v-fox FBJ 鼠骨肉瘤病毒癌基因同系物

[0260]

miR-92	FOXG1B	叉头盒 G1B	
miR-223	FOXO3A	叉头盒 O3A	
miR-125b	GOLGA5	高尔基自身抗原, 高尔基亚家族a, 5 (PTC5)	
miR-138	GPHN	gephyrin (GPH)	
miR-107, miR-223, miR-20, miR-218	HLF	肝白血病因子	
miR-26a, miR-107	HMGA1	高迁移率组AT-钩1	
miR-20	HOXA13	同源框 A13	
miR-92	HOXA9	同源框 A9	
miR-125b	IRF4	干扰素调节因子4	
miR-146, miR-20, miR-138	JAZF1	与另一个锌指基因1并列的	
miR-92	JUN	v-jun 禽肉瘤病毒17癌基因同系物	
miR-155	KRAS	v-K1-ras2 Kirsten大鼠肉瘤2病毒癌基因同系物	
miR-218	LASP1	LIN和SH2蛋白1	
miR-218	LHFP	脂肪瘤HMGIC融合伴侣	
miR-125b, miR-218	LIFR	白血病抑制因子受体	
miR-223	LMO2	LIM 结构域仅 2 (rhombotin-样 1) (RBTN2)	
miR-223, miR-155, miR- 125b, miR-92	MAF	v-maf 肌腱膜纤维肉瘤(禽)癌基因同系物	
miR-92	MAP2K4	丝裂原-激活的蛋白激酶激酶 4	
miR-146, miR-20	MAP3K8	丝裂原-激活的蛋白激酶激酶 8	
miR-125b	MAX	MAX 蛋白	
miR-218	MCC	在结直肠癌中突变的	
miR-24	MEN1	多发性内分泌腺瘤综合征I 骨髓的/淋巴的或混合性白血病 (Irithorax 同系物, Drosophila)	移位至 6
miR-138	MLLT6	(AF17)	

[0261]

miR-192	MSN	膜突蛋白
miR-24	MYB	v-myb禽成髓细胞白血病病毒癌基因同系物
miR-107, miR-223, miR-146, miR-221, miR-155, miR-218	MYBL1	v-myb禽成髓细胞白血病病毒癌基因同系物-样1
miR-107, miR-20	MYCN	v-myc禽髓细胞瘤病毒相关的癌基因, 成神经细胞瘤衍生的
miR-107, miR-92	MYH9	肌球蛋白, 重多肽9, 非肌肉的
miR-24	MYST4	MYST组蛋白乙酰转移酶(单核细胞性白血病)4 (B0RF)
miR-20	NBL1	成神经细胞瘤, 肿瘤发生的抑制1
miR-125b	NIN	ninein (GSK3B 相互作用蛋白)
miR-26a, miR-107	NKTR	自然杀伤-肿瘤识别序列
miR-92	NOTCH1	凹口同系物1, 移位相关的(果蝇) (TAN1)
miR-24	NTRK3	神经营养性酪氨酸激酶, 受体, 类型3
miR-125b	PCSK7	前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin类型7
miR-24, miR-146	PER1	周期同系物1(果蝇)
miR-146, miR-125b, miR-138,	PHOX2B	配对的-样同源框2b
miR-155	PICALM	磷脂酰肌醇结合网格蛋白装配蛋白 (CALM)
miR-24, miR-26a	PIM1	pim-1 癌基因
miR-24, miR-26a, miR-21, miR-107, miR-20, miR-155	PLAG1	多形腺瘤基因1
miR-218	RAB8A	RAB8A, 成员RAS癌基因家族
miR-24, miR-221	RALA	v-ral鼠白血病病毒癌基因同系物A (ras相关的)
miR-138	RARA	维甲酸受体, α
miR-20, miR-192	RB1	视网膜母细胞瘤1(包括骨肉瘤)
miR-20,	RBL1	视网膜母细胞瘤-样 1 (p107)
miR-20	RBL2	视网膜母细胞瘤-样 2 (p130)

[0262]

miR-155, miR-138	REL	v-rel禽网状内皮组织增殖病毒癌基因同系物
miR-20, miR-138	RHOC	ras同系物基因家族, 成员C
miR-20, miR-192	RUNX1	runt-相关的转录因子1 (AML1)
miR-107, miR-223	SEPT6	septin 6
miR-146, miR-20, miR-125b	SET	SET 移位
miR-21, miR-20, miR-155, miR-218	SKI	v-ski禽肉瘤病毒癌基因同系物
miR-26a, miR-146	SMAD4	SMAD, 抗DPP同系物4的母本 (果蝇)
miR-155	SPI1	脾焦点形成病毒 (SFV) 原病毒整合癌基因sp11
miR-125b	SS18	滑液肉瘤移位, 染色体18
miR-107, miR-155	SUFU	融合的同系物的抑制基因 (果蝇)
miR-92	TAF15	TAF15 RNA聚合酶II, TATA盒结合蛋白 (TBP) - 相关的因子, 63kDa
miR-26a, miR-221, miR-138	TCF12	转录因子12 (HTF4, 螺旋-环-螺旋转录因子4)
miR-21, miR-20	TGFBR2	转化生长因子, β 受体II (70-80kD)
miR-24, miR-26a, miR-92	TOP1	拓扑异构酶 (DNA) I
miR-138	TPM4	原肌球蛋白4
miR-20	TRIP11	甲状腺激素受体相互作用因子11
miR-92	TSC1	结节性硬化症1
miR-20	TSG101	肿瘤易感基因101
miR-20	TUSC2	肿瘤抑制基因候选物2
miR-24	VAV1	vav 1 癌基因
miR-125b	VAV2	vav 2 癌基因
miR-107	WHSC1	Wolf-Hirschhorn综合征候选物1 (WHSET)
miR-138	WHSC1L1	Wolf-Hirschhorn综合征候选物1-样1 (NSD3)

[0263]

miR-26a	WNT5A	无翅型 MMTV整合位点家族, 成员5A
miR-26a, miR-20, miR-125b	YES1	v-yes-1 yamaguchi肉瘤病毒癌基因同系物1
miR-107, miR-221	ZNF198	锌指蛋白198
miR-218	ZNFN1A1	锌指蛋白, 亚家族 1A. 1 (Ikaros)

[0264] *— 已知的癌症基因（例如肿瘤抑制基因, 癌基因）包含在 www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Census/ 或由 OMIM 报道在 www.ncbi.nlm.nih.gov 的 Cancer Gene Census 中鉴定的那些。

[0265] 未明确通过参考引用并入的本文引述的所有出版物的相关教导整体通过参考引用并入本文。尽管参考其优选实施方案已具体地显示和描述了本发明, 但本领域技术人员将理解其中可进行形式和细节上的多种不同变化, 而不偏离所附权利要求包括的本发明的范围。

[0001]

序列表

<110> CROCE, CARLO M. CALIN, GEORGE A. VOLINIA, STEFANO	
<120> 用于诊断和治疗实体癌的基于微小RNA的方法和组合物	
<130> 1-28349	
<140> 12/160,061	
<141> 2008-01-03	
<150> PCT/US07/000159	
<151> 2007-01-03	
<150> 60/756,585	
<151> 2006-01-05	
<160> 498	
<170> PatentIn version 3.5	
<210> 1	
<211> 90	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 1	
cacuguggga ugagguagua gguuguauag uuuuaggguc acaccacca cugggagaua	60
acuuacaau cuacugucuu uccuaacgug	90
<210> 2	
<211> 72	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 2	
agguugaggu aguagguugu auaguuaga auuacauca gggagauaac uguacagccu	60
ccuagcuuuc cu	72
<210> 3	
<211> 74	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 3	
gggugaggua guagguagua uaguuuaggg cucugcccug cuaugggaua acuuacaau	60
cuacugucuu uccu	74
<210> 4	
<211> 107	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 4	
gugacugcau gcucccaggu ugagguagua gguuguauag uuuaagauua cacaaggag	60
auaacuguae agccuccuag cuuuccuugg gucuugcacu aaacaac	107
<210> 5	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 5	
ggcgggguga gguaguaggu ugugugguuu cagggcagug augungcccc ucggaagaua	60
acuuacaac cuacugccuu ccug	85

[0002]

<210> 6	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 6	
gcuaucgggu ugagguagua gguuguauug uuuaagauua caccucggga guuaacugua	60
caaccuucua gcuuuccuug gage	84
<210> 7	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 7	
ccuaggaaga gguaguaggu ugcuauguuu uagggcaggg auuuugccca caaggaggua	60
acuauacgac cugcugccuu ucuuagg	87
<210> 8	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 8	
cuaggaagag guaguaguuu gcuauguuuu agggcaaaga uuuuugccca aaguaguag	60
cuauacgacc ugcagccuuu uguag	85
<210> 9	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 9	
cuggcugagg uaguaguuuu ugcuguuggu cggguuguga cauuugcccg ugaggagaua	60
acugcgcaag cuacugccuu gcuag	85
<210> 10	
<211> 79	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 10	
cccgggcuga gguaggaggu uguauaguug aggaggacac ccaaggagau cacuauacgg	60
ccuuccuagcu uuccccagg	79
<210> 11	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 11	
ucagagugag guaguagauu guauaguugu gggguaguga uuuuaccug uucaggagau	60
aacuauacaa ucuauugccu ucccuga	87
<210> 12	
<211> 89	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 12	
cuguggaug agguagiaga uuguauagu uggggguagu gauuuuacc uguucaggag	60

[0003]

auaacuauac aaucuauugc cuucccuga	89
<210> 13	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 13	
cugugggaug agguaguaga uuguauaguu uuagggucau accecaucuu ggagauaacu	60
auacagucua cugucuuuuc cacgg	85
<210> 14	
<211> 108	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 14	
uugccugauu ccaggcugag guaguaguuu guacaguuuu agggucuaug auaccacccg	60
guacaggaga uaacuguaca ggccacugcc uugccaggaa cagcgcgc	108
<210> 15	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 15	
cuggcugagg uaguaguuuu ugcuguuggu cggguuguga cauuccccc c ugugagaua	60
acugcgcaag cuacugccuu gcua	85
<210> 16	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 16	
accuacucag aguacauacu ucuuuuugua cccauugaa cauacaangc uauggaangu	60
aaagaaguau guuuuuuugg uaggc	85
<210> 17	
<211> 108	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 17	
cagcuacaa cuuaguaaua ccuacucaga guacauacuu cuuuauuac ccauugaac	60
aucaaugcu auggaangua aagaaguaug uuuuuuuggu aggcaaua	108
<210> 18	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 18	
gccugcuugg gaaacauacu ucuuuuauug cccauugaa ccugcuagc uauggaangu	60
aaagaaguau guuuucucagg cggg	85
<210> 19	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 19	
ugggaaacau acuuuuuuau augcccauau ggaccugcua agcuauugaa uguuaangaag	60

[0004]

uauaauaucuc a	71
<210> 20	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 20	
accuaeticag aguacauacu ucuuuaugua cccauaugaa cauacaaugc uauuggaangu	60
aaagaaguuu guuuuuuugg uaggc	85
<210> 21	
<211> 108	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 21	
uggaanguug ccuaguucug uguggaagac uagugauuuu guuguuuuua gaaacuaaa	60
ucgacaacaa aucacagucu gccauauggc acaggccaug ccucuaa	108
<210> 22	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 22	
uugaugugug gccuaguuc uuguggaaga cuagugauuu uguuguuuuu agauaacuaa	60
aucgacaaca aaucacaguc ugccauaugg cacaggccau gccucuaag	110
<210> 23	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 23	
cuggauacag aguggaccgg cuggcccau cuggaagacu agugauuuug uguugucuu	60
acugcgcua acaacaauc ccagucuaac uaauggugcc agccaucga	110
<210> 24	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 24	
agauuagagu ggcugugguc uagugcugug uggaagacua gugauuuugu uguucugaug	60
uacuacgaca acaagucaca gccggccua uagcgcagac ucccuucgac	110
<210> 25	
<211> 89	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 25	
egggguuggu uguuauuuu gguuauuag cuguauagau gguguggagu cuucauaaag	60
cuugaauacc gaaaguaaaa auaaccaca	89
<210> 26	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 26	

[0005]

ggaagcgagu uguuauuuu gguuauauag cuguauagagu guauuggucu ucauaaagcu	60
agauaaccga aaguaaaaac uccuucac	87
<210> 27	
<211> 90	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 27	
ggagggccgu uucucucuuu gguuauauag cuguauagagu gccacagagc cgucuuuaag	60
cuagauaacc gaaaguagaa augauucua	90
<210> 28	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 28	
gaucugucug ucuucuguaa auaccucugaa gaucaggauu uguguaagga auuuuguguu	60
cacaaauucg uaucuagggg aauauguagu ugacauaac acuccgcucu	110
<210> 29	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 29	
ccagaggguu uaacguuguc uauuuuuacc cuguagaacc gaaauuuguu gguauccgua	60
uagucacaga uucgauucua ggggaauuaa uggucgaugc aaaaacuuca	110
<210> 30	
<211> 108	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 30	
gcgcgauguu guguuuaaaa aaaaauaac cuuggaguaa aguagcagca cauaauuguu	60
uguggauuuu gaaaaggugc aggccauuuu gugcugccuc aaaaauac	108
<210> 31	
<211> 83	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 31	
ccuuggagua aaguagcagc acuaauuguu uuguggauuu ugaaaaggug caggccauuu	60
ugugcugccu caaaaauaca agg	83
<210> 32	
<211> 64	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 32	
cugagcagc acaucauguu uuacaugcua cagucaagau gcgaaucauu auuugcugcu	60
cuag	64
<210> 33	
<211> 98	
<212> RNA	
<213> 智人	

[0006]

<400> 33	
uuagaggccuu aaaguacugu agcagcacau caugguuuac augcuacagu caagaugcga	60
aucauuuuuu gcugcucuag aaaauuuagg aaaaucuu	98
<210> 34	
<211> 89	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 34	
gucagcagug ccuuagcagc acguaaaauu uggeguuaag auucuaaaau uaucuccagu	60
auuaacugug cugcugaagu aagguugac	89
<210> 35	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 35	
guucccacuu agcagcacgu aaauuuuggc guagugaaau auuuuuuuu caccuuuuu	60
acugugcugc uuuaugugua c	81
<210> 36	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 36	
gcagugccuu agcagcacgu aaauuuuggc guuaagauuc uaaaauuuuc uccaguauua	60
acugugcugc ugaaguaagg u	81
<210> 37	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 37	
gucagaauaa ugucaaagug cuuacagugc agguagugau augugcaucu acugcaguga	60
aggcacuuuu agcauuuugg ugac	84
<210> 38	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 38	
uguucuaagg ugcaucuagu gcagauagug aaguagauua gcaucuacug cccuaagugc	60
uccuuuggc a	71
<210> 39	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 39	
uuuuuguucu aaggugcauc uagugcagau agugaaguag auuagcaucu acugcccuua	60
gugcuuccuuc uggaauaaga a	81
<210> 40	
<211> 82	
<212> RNA	
<213> 智人	

[0007]

<400> 40	
gcaguccucu guuaguuuug cauaguuuca cuacaagaag aauguaguug ugcaaaucua	60
ugcaaaacug augguggccu gc	82
<210> 41	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 41	
caguccucug uuaguuuugc uuaguugcac uacaagaaga auguaguugu gcaaaucuaa	60
gcaaaacuga ugguuggccu	80
<210> 42	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 42	
cacugucuaa ugguuaguuu ugcaaguuug cauccagcug ugugauauuc ugcuugucua	60
auccaugcaa aacugacugu gguagug	87
<210> 43	
<211> 96	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 43	
acauugcuac uuacaauuag uuugcaggu uuacauuua gecuaauau guauaugugg	60
cugugcaaa ccaugcaaaa cugauuguga uaaugu	96
<210> 44	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 44	
uuuaugguu aguuuugcag guuugcaucc agcuguguga uauucugcug ugcaaaucua	60
ugcaaaacug acugugguag	80
<210> 45	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 45	
uuacaauuag uuugcaggu uuacauuua gecuaauau guauaugugg cugugcaaa	60
ccaugcaaaa cugauuguga u	81
<210> 46	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 46	
guagcacuaa agugcuuuaa gugcagguag uguuuagua ucuacugcau uaagagcacu	60
uaaaguacug c	71
<210> 47	
<211> 72	
<212> RNA	

[0008]

<213> 智人	
<400> 47	
ugucggguag cuuauacagac ugauguugac uguugaauuc cauggccaaac ccagucgaug	60
ggcugucuga ca	72
<210> 48	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 48	
accuugucgg guagcuuauc agacugaugu ugacuguuga aucucauggc aataccaguc	60
gaugggcugu cugacauuuu g	81
<210> 49	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 49	
ggcugagccg caguaguuc uacugggcaa gcuuuauguc cugacceagc uaaagcugcc	60
aguugaagaa cuguugcccu cugcc	85
<210> 50	
<211> 73	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 50	
ggccggcugg gguuccuggg gaugggauiu gcuuccuguc acaaaucaca uugccaggga	60
uuuccaaccg acc	73
<210> 51	
<211> 97	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 51	
cucaggugcu cuggcugcuu ggguuuccugg caugcugauu ugugacuuaa gauuaaaauc	60
acaauugccag ggaauaccac gcaaccacga ccuuggc	97
<210> 52	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 52	
ccaeggccgg cugggguucc ugagggauggg auuugcuucc ugucacaaau cacauugcea	60
gggaauucca accgaccucg a	81
<210> 53	
<211> 68	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 53	
cuccggugcc uacugagcug auauacaguuc ucauuuuaca cacuggcuca guucagcagg	60
aacaggag	68
<210> 54	
<211> 73	

[0009]

<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 54	
cucugccucc cguccuacu gagcugaaac acaguggm uguguacacu ggcucaguc	60
agcaggaaca ggg	73
<210> 55	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 55	
cccugggcuc ugccucccg ggcuaucugag cugaaacaca guugguuugu guacacuggc	60
ucaguucagc aggaacaggg g	81
<210> 56	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 56	
cccuccggug ccuacugagc ugauaucagu ucucuuuuu cacacuggcu caguucagca	60
ggaacagcau c	71
<210> 57	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 57	
ggccaguguu gagagcgga gacugggca auugcuggac gcugccugg gcauugcacu	60
ugucucgguc ugacagugcc ggcc	84
<210> 58	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 58	
aggccuggc cucguucaag uauccagga uaggcuguc aggucccau ggccuauuu	60
gguuacuugc acggggacgc ggccu	86
<210> 59	
<211> 77	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 59	
guggccucgu ucaagtauc caggauaggc ugugcagguc ccaugggac uauucuggu	60
uacuugcacg gggacgc	77
<210> 60	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 60	
ggcuguggc ugaaucaagu aaucaggau aggcuguuc caucugugag gccuauuuu	60
gauuacuugu uucggaggc agcu	84
<210> 61	

[0010]

<211> 77	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 61	
ccgggaccca guucaaguaa uucaggauag guugugugcu guccagccug uucuccauua	60
cuuggcucgg ggaccgg	77
<210> 62	
<211> 78	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 62	
cugaggagca gggcuuagcu gcuuugagc aggguccaca ccaagucgug uucacagugg	60
cuaaguuccg cccccag	78
<210> 63	
<211> 73	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 63	
aggugcagag cuuagcugau uggugaacag ugauugguu ccgcuuugu cacaguggcu	60
aaguucugca ccu	73
<210> 64	
<211> 97	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 64	
accucucuaa caaggugcag agcuuagcug auuggugaac agugauuggu uuccgcuug	60
uucacagugg cuaaguucug caccugaaga gaaggug	97
<210> 65	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 65	
ccugaggagc agggcuuagc ugcuuugag caggguccac accaagucgu guucacagug	60
gcuaaguucc gccccccagg	80
<210> 66	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 66	
gguccuugcc cucaaggagc ucacagucua uugaguuacc uuucugacuu ucccacuaa	60
uugugagcuc cuggagggca ggcacu	86
<210> 67	
<211> 108	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 67	
ccuucuguga ccccuuagag gaugacugau uucuuuuggu guucagaguc aaauaauuu	60
ucuagaccca ucugaaaucg guuauaaua uuggggaaga gcaecaug	108

[0011]

<210> 68	
<211> 64	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 68	
augacugauu uuuuuuggug uucagaguca auuuuuuuu cuagcaccuu cugaaaucgg	60
uuuu	64
<210> 69	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 69	
cuucaggaag cugguuucaa auggugguuu aguuuuuuu agugauuguc uagcaccuuu	60
ugaaaucagu guuuuugggg g	81
<210> 70	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 70	
cuucaggaag cugguuucaa auggugguuu aguuuuuuc aucuuuguuu cuagcaccuu	60
uuuuuuuagc g	81
<210> 71	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 71	
accacuggcc caucucuua acaggcugac cgauuuuucc ugguguucag agucuuuuu	60
uugucagcac cauuuuaau cgguuuugau guagggggaa aagcagcagc	110
<210> 72	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 72	
ggcaguguaa acauccucga cuggaagcug ugaagccaca gaugggcuuu cagucggau	60
uuugcagcug c	71
<210> 73	
<211> 60	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 73	
auguaaaca ccuacacua gcuguaauac auggauuggc ugggaggugg auguuuacgu	60
<210> 74	
<211> 88	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 74	
accaaguuu aguucaugua acauccuac acucagcugu aaucacugga uuggcuggga	60
gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88
<210> 75	

[0012]

<211> 72	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 75	
agauacugua acauuccuac acucucagcu guggaaagua agaaagcugg gagaaggcug	60
uuuacucuuu cu	72
<210> 76	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 76	
guuguuguaa acauucccga cuggaagcug uaagacacag cuaagcuuuc agucagaugu	60
uugcugcuac	70
<210> 77	
<211> 64	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 77	
cuguaaaca cuuugacugg aagcuguaag gugucagag gaggcuuucag ucggauguuu	60
acag	64
<210> 78	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 78	
ggagaggagg caaugcugc gcauagcugu ugaucuggga accugcuuug ccaacauuuu	60
gccaucuuuc c	71
<210> 79	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 79	
ggagauuuug cacauuacua aguugcaugu ugucacggc ucaaugcaau uuagugugug	60
ugauuuuuuc	70
<210> 80	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 80	
ggggcccgag agaggcgggc ggccccgcgg ugcauugcug uugcauugca cgugugugag	60
gcgggugcag ugccucggca gucagcccg gaccggccc cuggcaccac	110
<210> 81	
<211> 88	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 81	
accaaguuuu aguucaugua acauuccuac acucagcugu aaucacugga uugcuggga	60
gguggauguu uacuucagcu gacuugga	88

[0013]

<210> 82	
<211> 69	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 82	
cuguggugca uuguaguugc auugcauguu cuggugguac ccangcaaug uuuccacagu	60
gcaucacag	69
<210> 83	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 83	
ggccagcugu gaguguuucu uuggcagugu cuuagcuggu uguugugagc aaauagaaagg	60
aagcaaucag caaguauacu gcccuagaag ugcugcacgu uguggggccc	110
<210> 84	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 84	
gugcucgguu uguaggcagu gucauuagcu gautguactg uggugguuac naucacuaac	60
uccacugcca ucaaaacaag gcac	84
<210> 85	
<211> 77	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 85	
agucuaaua cuaggcagug uaguuaugcug auugcuaua guaccaauca cuaaccacac	60
ggccagguaa aaagauu	77
<210> 86	
<211> 82	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 86	
ucagaauauu gucaagugc uuacagugca gguagugaua ugugcaucua cugcagugaa	60
ggcacuugua gcauuagggu ga	82
<210> 87	
<211> 78	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 87	
cuuucuaac agguugggau cgguuucau gcuguguuuc uguauuguau ugcacuuguc	60
ccggccuguu gaguuugg	78
<210> 88	
<211> 75	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 88	
ucauuccugg guggggauu guugcauuac uuuguuucua uauaaaguau ugcacuuguc	60
ccggccugug gaaga	75

[0014]

<210> 89	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 89	
cugggggcuc caaagugcug uucgugcagg uagugugauu acccaaccua cugcugagcu	60
agcacuuccc gagcccccg	80
<210> 90	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 90	
aacacagugg gcacucaaua aaugucuguu gaauugaaau gcguuacauu caacggguau	60
uuauugagca cccacucugu g	81
<210> 91	
<211> 78	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 91	
uggcagauuu uggcacuagc acuuuuuugc uugugucucu ccgcucugag caaucaugug	60
cagugccaau augggaaa	78
<210> 92	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 92	
gugagcgacu guaaacaucc ucgacuggaa gcugugaagc cacagauggg cuuucagucg	60
gauguuugca gcugccuacu	80
<210> 93	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 93	
gugagguagu aaguuguauu guuguggggu agggauauua gggcccauu agaagauaac	60
uaaacaacuu acuaauuucc	80
<210> 94	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 94	
ggcacccacc cguagaaccg accuugcggg gccuuegccg cacacaagcu cgugucugug	60
gguccguguc	70
<210> 95	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 95	
cccauuggca uaaacccgua gauccgaucu uguggugaag uggaccgcac aagcucgcuu	60
cuaugggucu gugucagugu g	81

[0015]

<210> 96	
<211> 108	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 96	
aagagagaag auauugaggc cuguugccac aaacccguag auccgaacuu gugguauuag	60
uccgcacaag cuuguaucua uagguaugug ucuguuagge aaucucac	108
<210> 97	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 97	
ccuguugcca caaacccgua gaucggaacu ugugguauua guccgcacaa gcuuugauuc	60
auagguaugu gucuguuagg	80
<210> 98	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 98	
aggcugcccu ggcucaguua ucacagugcu gaugcugucu auucuaaagg uacaguaeug	60
ugauaacuga aggauggcag ccaucuuacc uucaucaga ggagccucac	110
<210> 99	
<211> 57	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 99	
ucaguuauc aagugcugau gcuguccauu cuaaagguac aguacuguga uaacuga	57
<210> 100	
<211> 75	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 100	
ugcccuggcu caguuaucac agugcugaug cugucuauuc uaaagguaca guacugugau	60
aacugaagga uggca	75
<210> 101	
<211> 79	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 101	
acuguccuuu uucgguauc augguaccga ugcuguauau cugaaaggua caguacugug	60
auaacugaag aaugguggu	79
<210> 102	
<211> 75	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 102	
uguccuuuuu cgguaucuu gguaccgaug cuguauaucu gaaagguaca guacugugau	60
aacugaagaa uggug	75

[0016]

<210> 103	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 103	
cuucuggaag cugguuucac augguggcuu agauuuuucc aucuuuguau cuagcaceau	60
uugaauucag uguuuuagga g	81
<210> 104	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 104	
cuucaggaag cugguuucac auggugguuu agauuuuuuu agugauuguc uagcaccuuu	60
ugaauucagu guucugggg g	81
<210> 105	
<211> 78	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 105	
uugucuuuc agcuuuuuu cagugcugcc uuguagcauu caggucaagc aacauuguac	60
agggcuuga agaacca	78
<210> 106	
<211> 78	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 106	
uacugccuc ggcuuuuuu cagugcugcc uuguugcauu uggaucagc agcauuguac	60
agggcuuga aggcuuug	78
<210> 107	
<211> 78	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 107	
aaugucaga cagcccaucg acuguguuug ccaugagauu caacagucac caucagucug	60
auaagcuacc cgacaagg	78
<210> 108	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 108	
ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cucaugcacc acggauguuu	60
gagcaugugc uacggugucu a	81
<210> 109	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 109	
ugugcaucgu ggucaaaugc ucagacuccu gugguggcug cuuauugcacc acggauguuu	60
gagcaugugc uauugugucu a	81

[0017]

<210> 110	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 110	
ccuuggccau guaaaagugc uuacagugca gguagcuuuu ugagaucaac ugcaauguaa	60
gcacucuuua cauuaccaug g	81
<210> 111	
<211> 82	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 111	
ccugccgggg cuaaagugcu gacagugcag auaguggucc ucuccgugcu accgcacugu	60
ggguacuugc ugcuccagea gg	82
<210> 112	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 112	
cucucugcuu ucagcuucuu uacaguguug ccuuguggca uggaguuaa gcagcauugu	60
acagggcuaa caaagcacag a	81
<210> 113	
<211> 90	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 113	
acacugcaag aacaauaagg auuuuuaggc gcauuugac ugagucagaa aacacagcug	60
ccccugaag ucccucuuu uucuuugcugu	90
<210> 114	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 114	
acugcaagag cauaaggau uuuuaggggc auuugauag uggaauggaa acacaucugc	60
ccccaaaagu ccucuuuuu	80
<210> 115	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 115	
ccuuagcaga gcuguggagu gugacaauug uguuuguguc uaaacuauc aacgccauua	60
ucacacuaaa uagcuacugc uaggc	85
<210> 116	
<211> 66	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 116	
agcuguggag ugugacaang guguuugugu ccaaacuauc aaacgccauu aucacacuaa	60

[0018]

auagcu	66
<210> 117	
<211> 61	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 117	
acauuuuuac uuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uauuaaugcg	60
c	61
<210> 118	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 118	
aggccucucu cuccguguuc acagcggacc uugauuuaaa uguccauaca auuaaggcac	60
gcggugaaug ccaagaaugg ggcug	85
<210> 119	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 119	
aucagaaua gaggcucugc ucucguguu cacacggac cuugauuuua ugucuuaca	60
uuuaggcacg cggugaaugc caagagcggg gccuacggcu gcacuugaag	110
<210> 120	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 120	
ugagggcccc ucucguguu cacacggac cuugauuuua ugucuuaca auuaaggcac	60
gcggugaauug ccaagagagg cgcucc	87
<210> 121	
<211> 68	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 121	
cucugcgugu ucacagcggg ccuugauuuu augucuauac auuaaggca cgcggugaau	60
gccaaagag	68
<210> 122	
<211> 67	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 122	
cucuccgugu ucacagcggg ccuugauuuu augucuauac auuaaggcac gcggugaau	60
ccaagag	67
<210> 123	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 123	
ugccagucuc uaggueccug agaccuuua accugugagg acauccaggg ucacagguga	60

[0019]

gguucuuuggg agccuggcgu cuggcc	86
<210> 124	
<211> 65	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 124	
gguccugag accuuuaac cugugaggac auccaggguc acaggugagg uucuuugggag	60
ccugg	65
<210> 125	
<211> 88	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 125	
ugcgcuccuc ucagucccug agaccuaac uugugauguu uaccguuuaa auccacgggu	60
uaggcuccuug ggagcugcga gucgugcu	88
<210> 126	
<211> 89	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 126	
accagacuuu uccuaguccc ugagaccuaa acuugugagg uauuuuagua acaucacaag	60
ucnngcucuu gggaccuagg cggagggga	89
<210> 127	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 127	
cgcuggcgac gggacauuau uacuuuuggu acgcgcugug acacucaaa cucguaccgu	60
gaguanuauu gcgcgcucca cggca	85
<210> 128	
<211> 61	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 128	
acauuauuac uuuugguacg cgcugugaca cuucaaacuc guaccgugag uauuaaugcg	60
c	61
<210> 129	
<211> 97	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 129	
ugugaucacu gucuccagcc ugcugaagcu cagagggcuc ugauucagaa agaucaucgg	60
auccgucuga gcuuggcugg ucggaagucu caucauc	97
<210> 130	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 130	

[0020]

ccagccugcu gaagcucaga gggcucugau ucagaaagau caucggaucc gucugagcuu	60
ggcuggucgg	70
<210> 131	
<211> 82	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 131	
ugagcuguug gauucggggc cguagcacug ucugagaggu uuacauuucu cacagugaac	60
cggucucuuu uucagcugcu uc	82
<210> 132	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 132	
gcccggcagc caedugucag ugggaagggg gcccgaatac cuguaacgaga gugaghuaga	60
gcucucacag ugaaccgguc ucuuuccua cugugucaca cuccuaaugg	110
<210> 133	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 133	
guuggauucg gggccguagc acugucugag agguuuacau uuucacagu gaaccgguct	60
uuuuuucagc	70
<210> 134	
<211> 74	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 134	
uggaucuuuu ugcggucugg gcuuucuguu ccucucaaca guagucagga agcccuuacc	60
ccaaaaagua ucua	74
<210> 135	
<211> 90	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 135	
ugcccuucgc gaauuuuuu gcggucuggg cuugcuguac auaacucaau agccggaagc	60
ccuuacccca aaaagcauuu gcggagggcg	90
<210> 136	
<211> 89	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 136	
ugcugcuggc cagagcucu uucacauugu gcuaucugcu gcaccuguca cuagcagugc	60
aauguuaaaa gggaauuggc cguguagug	89
<210> 137	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	

[0021]

<400> 137 gccaggaggc gggguugguu guuaucuuug guuaucuaag uguaugagug guguggaguc uucauaaagc uagaueaccg aaaguaaaaa uaaccceaua caucgcgcag	60 110
<210> 138 <211> 110 <212> RNA <213> 智人	
<400> 138 cacggcgcgg cagcggcacu ggcuaagggg gggccguuuc ucucuuuggu uaucuaagcug uauagugucc acagagccgu cauaaagcua gaadaaccgaa aguagaaaug	60 110
<210> 139 <211> 72 <212> RNA <213> 智人	
<400> 139 guuguuaucu uugguuaucu agcuguaua guguauuggu cuucauaaag cuagauaacc gaaaguaaaa ac	60 72
<210> 140 <211> 101 <212> RNA <213> 智人	
<400> 140 cgcgcctcgc gucuccaggg caaccguggc uuucgaauug uacuguggga acuggaggua acagucuaca gccauugucg ccccgagca cgccacgcg c	60 101
<210> 141 <211> 66 <212> RNA <213> 智人	
<400> 141 gggcaaccgu ggcuuucgau uguuacugug ggaacuggag guaacagucu acagccaugg ucgccc	60 66
<210> 142 <211> 88 <212> RNA <213> 智人	
<400> 142 acaaugcuuu gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuuaaag gauuuggucc ccuuaacca gcuguagcua ugcauuga	60 88
<210> 143 <211> 102 <212> RNA <213> 智人	
<400> 143 gggagccaaa ugcuuugcua gagcugguaa aauggaacca aaacgacugu ccaauggatu ugguccccuu caaccagcug uagcugugca uuuauggcgc cg	60 102
<210> 144 <211> 68 <212> RNA <213> 智人	

[0022]

<400> 144	
gcuagagcug guaaaaugga accaaaucgc cucuucaaug gaauuggucc ccuuccaacc	60
gcuguagc	68
<210> 145	
<211> 119	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 145	
ccucagaaga aagaugccccc cugcucuggc uggucaaacg gaacczaguc cgucuccug	60
agagguuugg uccccuucac ccagcuacag cagggcuggc aaugccaguc ccuuggaga	119
<210> 146	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 146	
gccccucgu cuggcuguc aaacggacc aaguccguc uccugzagag uuuggucucc	60
uucacaccagc uacagcaggg	80
<210> 147	
<211> 73	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 147	
caggguugug gacugguuga ccagaggggc augcacugug uucaccuguc ggccaccua	60
gucaccaacc cuc	73
<210> 148	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 148	
aggguugug acugguugac cagaggggca ugcacugug ucaccugug ggccaccuag	60
ucaccaaccc u	71
<210> 149	
<211> 90	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 149	
aggccucgu guucucuaug gcuuuuauu ccuaugugau ucuactgcuc acucauauag	60
ggauuggagc cguggcgac ggcggggaca	90
<210> 150	
<211> 100	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 150	
agauaaauc acucuaugc uuuauggcuu uuuaucucca ugugaugua auaaagucuc	60
auguagggau ggaagccaug aaauacauug ugaaaaauca	100
<210> 151	
<211> 60	
<212> RNA	

[0023]

<213> 智人	
<400> 151	
cuauaggcuuu uuauuccuau gugaauucuauc ugcucacuca uauagggauu ggagccgugg	60
<210> 152	
<211> 97	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 152	
cacucugcug uggecuauug cuuuucauuc cuauugauu gcugucecaa acucauguag	60
ggcuaaaagc caugggcuac agugaggggc gageucc	97
<210> 153	
<211> 82	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 153	
ugagccucug gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugeucca ucaucgucuc	60
aaauagaguc uagagggguu cu	82
<210> 154	
<211> 62	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 154	
gaggacucca uuuguuuuga ugauggauuc uuaugeucca ucaucgucuc aaauagaguc	60
uc	62
<210> 155	
<211> 73	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 155	
cuuugugac ggguaauuuu ggguggauaa uacggauuac guuguuuuug cuuaagaaua	60
cgcguagucg agg	73
<210> 156	
<211> 99	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 156	
cccuggcaug guuguguggg gcagcuggug uugugauca ggccguugcc aaucagagaa	60
cggcuacuuc acaacaccag ggccacacca cacuacagg	99
<210> 157	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 157	
cguugcugca gcugguuguu ugaauacaggc cgacgagcag cgcauccuuc uaccggcua	60
uuucacgaca ccaggguugc aua	84
<210> 158	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	

[0024]

<400> 158 cagcuggugu ugugauucag gccgacgagc agcgcauccu cuuaccgggc uuuuucacga caccaggguu g	60 71
<210> 159 <211> 68 <212> RNA <213> 智人	
<400> 159 guguauucua cagugcacgu gucuccagug uggeucggag gcuggagacg cggcccuguu ggaguaac	60 68
<210> 160 <211> 100 <212> RNA <213> 智人	
<400> 160 ugugucucuc ucuguguccu gccagugguu uuaccuaug guagguuacg ucaugcuguu cuaccacagg guagaaccac ggacaggaua ceggggcacc	60 100
<210> 161 <211> 72 <212> RNA <213> 智人	
<400> 161 uccugccagu gguuuuaccu uaugguaggu uacgucaugc uguucuacca caggguagaa ccacggacag ga	60 72
<210> 162 <211> 70 <212> RNA <213> 智人	
<400> 162 ccugccagug guuuuaccu augguagguu acgucaugcu guucuaccac agguuagaac cacggacagg	60 70
<210> 163 <211> 95 <212> RNA <213> 智人	
<400> 163 cggccggccc ugguuccauc uuccaguaca guguggaug gucuauuugu gaagcuccua acacugucug guaaagaugg cucccgggug gguuc	60 95
<210> 164 <211> 72 <212> RNA <213> 智人	
<400> 164 ggguccaucu uccagucacg uguuggaugg ucuaauugug aagcuccuaa cacugucugg uaaagauggc cc	60 72
<210> 165 <211> 64 <212> RNA	

[0025]

<213> 智人	
<400> 165	
accacuaaag uagaaagcac uacuaacagc acuggagggg guaguguuuc cuacuuuauug	60
gaug	64
<210> 166	
<211> 106	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 166	
ggcgagcgcc cugucuccca gccugagggg cagugcugca ucucugguca guugggaguc	60
ugagaugaag cacuguagcu caggaagaga gaaguuuuuc ugcagc	106
<210> 167	
<211> 63	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 167	
ccugaggugc agugcugcau cucuggucag uugggagucu gagaugaagc acuguagcuc	60
agg	63
<210> 168	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 168	
uggggcccug gcugggauau caucauauac uguaaguuug cgaugagaca cuacaguaua	60
gaugauguae uaguccgggc accccc	86
<210> 169	
<211> 66	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 169	
ggcugggaua ucaucauaua cuguuaguuu gcgaugagac acuacaguau agaugaugua	60
cuaguc	66
<210> 170	
<211> 88	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 170	
caccuugucc ucaeggueca guuuucccag gaaucceuaa gaugcuaaga uggggauucc	60
uggaauuacu guuuugagg ucaugguu	88
<210> 171	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 171	
cucacggucc aguuuuccca ggaauccuuu agaugcuaag auggggauuc cuggaaauac	60
uguuucugag	70
<210> 172	
<211> 99	

[0026]

<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 172	
c c g a u g u g u a u c c u c a g c u u u g a g a a c u g a a u u c c a u g g g u u g u g u c a g u g u c a g a c c u c	60
u g a a a u u c a g u u c u u c a g c u g g g a u a u c u c u g u c a u c g u	99
<210> 173	
<211> 65	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 173	
a g c u u u g a g a a c u g a a u u c c a u g g g u u g u g u c a g u c a c c u g u g a a a u u c a g u u c u u	60
c a g c u	65
<210> 174	
<211> 72	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 174	
a a u c u a a a g a c a a c a u u u c u g c a c a c a c a c c a g a c u a u g g a a g c c a g u g u g u g g a a a u g c	60
u u c u g c u a g a u u	72
<210> 175	
<211> 68	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 175	
g a g g c a a a g u u c u g a g a c a c u c c g a c u c u g a g u a u g a u a g a a g u c a g u c a c u a c a g a a c	60
u u u g u c u c	68
<210> 176	
<211> 99	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 176	
c a a g c a c g a u u a g c a t u u g a g g u g a a g u c u g u u a u a c a c u c a g g c u g u g g c u c u c u g a a	60
a g u c a g u g c a u c a c a g a a c u u u g u c u g a a a g c u u u c u a	99
<210> 177	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 177	
a a g c a c g a u u a g c a u u g a g g u g a a g u u c u g u a u a c a c u c a g g c u g u g g c u c u c u g a a a	60
g u c a g u g c a u	70
<210> 178	
<211> 89	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 178	
g c c g g c g c c c g a g c u c u g g c u c c g u g u c u c a c u c c c g u g c u u g u c c g a g g a g g a g g g a	60
g g g a c g g g g g c u g u c u g g g g c a g c u g g a	89
<210> 179	

[0027]

<211> 53	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 179	
gcucuggcuc cgugucuuca cucccgugcu uguccgagga gggagggagg zac	53
<210> 180	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 180	
cuccccaugg ccugucucc caaccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg	60
ccugggggac agggaccugg ggac	84
<210> 181	
<211> 64	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 181	
ccugucucc caaccuugu accagugcug ggcucagacc cugguacagg ccugggggac	60
aggg	64
<210> 182	
<211> 72	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 182	
uuuccugccc ucgaggagcu cacagucuag uaugucucu cccuacuag acugaagcuc	60
cuugaggaca gg	72
<210> 183	
<211> 69	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 183	
ccuguccuca aggagcuuca gucuaguagg ggaugagaca uacuagacug ugaguccuc	60
gagggcagg	69
<210> 184	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 184	
uguécccccc ggcacagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucaguc	60
augacagaac uugggcccg aaggacc	87
<210> 185	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 185	
ggcccagguu cugugauaca cuccgacucg ggcucuggag cagucaguc augacagaac	60
uugggcccg g	71
<210> 186	
<211> 90	

[0028]

<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 186	
encacagcug ccagugucuu uuugugauc ugcagcuagu auuucacuc caguugcaua	60
gucacaaaag ugaucuuug caggugugc	90
<210> 187	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 187	
ucucucucuc ccucacagcu gccaguguca uugucacaaa agugaucuu ggccaggugug	60
gcugcugcau g	71
<210> 188	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 188	
agcgguggcc agugucuuu uuugauguu gcagcuagua auuugagccc aguugcauag	60
ucacaaaagu gaucuuugga aacugug	87
<210> 189	
<211> 69	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 189	
cagugucuu uuugauguu ugcagcuagu aaauagacc caguugcaua gucacaaaag	60
ugaucuuug	69
<210> 190	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 190	
gugguacuu agauagguu auccguguug ccuucgcuu auuugugac gaucuuacac	60
gguugaccua uuuuucagua ccaa	84
<210> 191	
<211> 66	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 191	
gaagauaggu uauccguguu gccuucgcuu uauuugagc gaucuuaca cgguuagaccu	60
auuuuu	66
<210> 192	
<211> 65	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 192	
cuguuaagc uauucgugau agggguuuu gccuccaacu gacuccuaca uauuagcauu	60
aacag	65
<210> 193	

[0029]

<211> 82	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 193	
ccuaacacug ucugguaaag auggcucccg gguggguucu cucggcagua accuucaggg	60
agcccugaag accauggagg ac	82
<210> 194	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 194	
gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaauugac agccagugcu cucgucuccc	60
cucuggcugc caauuccaau ggucacaggu auguucgccu caaugccagc	110
<210> 195	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 195	
ucccgccccc uguaacagca acuccaugug gaagugccca cugguuccag uggggcugcu	60
guuauucuggg gcgagggcca	80
<210> 196	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 196	
aaagcugggu ugagaggcgg aaaaaggau gggugacugg ucugggcuac gcuaugcugc	60
ggcgcucggg	70
<210> 197	
<211> 64	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 197	
cauuggcuc cuaagccagg gauugugggu ucgagucca cccggguua aaaaagccg	60
aaau	64
<210> 198	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 198	
ccuaagccag ggauuguggg uucgagucc accuggggua gaggugaag uuccuuuac	60
ggaauuuuuu	70
<210> 199	
<211> 108	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 199	
caaugucagc aguccuuag cagcacguaa auauuggcgu uaagauucua aaauuauuc	60
caguaauaac ugucugcug aaguaagguu gaccuuacuc uacaguug	108

[0030]

<210> 200		
<211> 81		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 200		
gggcuuucac	gucacucagug guuccguua guagaugauu gugcauuguu ucaaaauggu	60
gcccuaaguga cuacaaagcc c		81
<210> 201		
<211> 70		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 201		
acgcaagugu ccuaagguga gcucagggag cacagaaacc uccaguggaa cagaaggga		60
aaagcucauu		70
<210> 202		
<211> 70		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 202		
caugugucac uuucagguug aguuucaaga gucccuuccu gguucacgu cuccuuugcu		60
cuuccacaac		70
<210> 203		
<211> 110		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 203		
agaaggguca ucaggccagc cuucagagga cuceaaggaa cauucaagc ugucggugag		60
uuugggauuu gaaaaaacca cugaccguig acuguaccuu ggggucchu		110
<210> 204		
<211> 110		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 204		
ccugugcaga gaaauuuuu uaaaaggua caaucaacau ucauugcugu cgguggguug		60
aacugugugg acagcucac ugaacaaug augeaacugu ggcgccgcuu		110
<210> 205		
<211> 89		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 205		
cugauggcug cacucaacau ucauugcugu cgguggguuu gagucugaau caacucacug		60
aucaaugauu gcaaacugcg gaccaaca		89
<210> 206		
<211> 110		
<212> RNA		
<213> 智人		
<400> 206		
cggaaauuu gccaaagggu ugggggaaca uucaaccugu cggugaguuu gggcagcua		60
ggcaaaccau cgaccguuga guggaccug aggcugggaa uugccauccu		110

[0031]

<210> 207	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 207	
gagcugcuug ccucccccccg uuuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg	60
auccgguggu ucuagacuug ccaacuauagg ggcgaggacu cagccggcac	110
<210> 208	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 208	
uuuuggcaa ugguagaacu cacacuggug agguaacagg auccgguggu ucuagacuug	60
ccaacuauagg	70
<210> 209	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 209	
ccgcagagug ugacuccugu ucuguguau gcaucgguag aaucacugu gaacagucuc	60
agucagugaa uuaccgaagg gccauaaaca ggcagagac agauccacga	110
<210> 210	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 210	
ccagucacgu ccccuuauca cuuuuccagc ccagcuugu gacuguaugu guuggacgga	60
gaacugauaa gguuagguga uuga	84
<210> 211	
<211> 65	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 211	
ccuuuacacu uuuccagccc agcuuuguga cuguuagugu uggacggaga acugauaagg	60
guagg	65
<210> 212	
<211> 82	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 212	
agggggcgag ggauggaga gaaaggcagu uccugauggu cccuccccca ggggcuggcu	60
uuccucuggu ccuuccucc ca	82
<210> 213	
<211> 66	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 213	
agggauugga gagaaaggca guuccugaug gucccccucc caggggcugg cuuuccucug	60
guccuu	66

[0032]

<210> 214	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 214	
ugcuuguaac uuuccaaaga auucuccuuu ugggcuuuu gguuuuuuuu uaagcccaaa	60
ggugaauuuu uuggaaguu ugagcu	86
<210> 215	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 215	
acuutccaaa gaauucuecu uuugggcuuu cugguuuuu uuuuagccca aaggugaauu	60
uuuugggaag u	71
<210> 216	
<211> 109	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 216	
ggucgggcuc accaugacac agugugagac ucgggcuaa acacaggacc cggggcgug	60
cucugacccc ucgugucuuu uguugcagcc ggaggacgc agguccga	109
<210> 217	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 217	
ugcucccuc cueacaucc uugcauggug gagggugagc uuucugaaa cccucccac	60
augcaggguu ucaggaugg cgagcc	86
<210> 218	
<211> 68	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 218	
ucucacaucc cuugcauggu ggaggugag cuuucugaaa accccuccca caugcaggu	60
uugcagga	68
<210> 219	
<211> 102	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 219	
cugucgauug gaccgccc cggugccua cugagcugau aucaguucuc auuuuacaa	60
cuggcucagu ucagcaggaa caggagucga gcccuugagc aa	102
<210> 220	
<211> 68	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 220	
cuccggugcc uacugageug auaucagiuc ucauuuuaca cacuggcua guucagcagg	60

[0033]

aacaggag	68
<210> 221	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 221	
ugcaggccuc ugugugauau guuugataua uuagguugu auuuaucca acuaauauc	60
aaacauauuc cuacaguguc uugcc	85
<210> 222	
<211> 67	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 222	
cugugugaua uguugauau auuagguugu uauuuaucc aacuaauau caaacauau	60
ccuacag	67
<210> 223	
<211> 92	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 223	
cgcugggaca gcgggcaacg gaauccaaa agcagcuguu gucuccagag cauuccagcu	60
gcgcuuggau uucgucccu gcucuccugc cu	92
<210> 224	
<211> 74	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 224	
agcgggcaac ggaauccaa aagcagcugu uguuccaga gcauuccage ugcgcuugga	60
uuucgucccu ugcu	74
<210> 225	
<211> 108	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 225	
ccgagaccga gugcacagg cucugaccua ugaauugaca gccagugcuc ucgucueccc	60
ucuggcugcc aaauccauag gucacaggua uguucgccuc aaugccag	108
<210> 226	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 226	
gccgagaccg agugcacagg gcucugaccu augaaugac agccagugcu cucgucuecc	60
cucuggcuge caauuccaua ggucacaggi auguueccu caaugccagc	110
<210> 227	
<211> 88	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 227	
cgaggauagg agcugagggc ugggucuuug cgggcgagau gaggguuguc gaucacugc	60

[0034]

ccuacaaagu cccaguucuc ggccecccg	88
<210> 228	
<211> 58	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 228	
gcugggucuu ugcgggcgag augagggugu cggaucaacu ggccuacaaa guccagau	58
<210> 229	
<211> 85	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 229	
augguguuau caaguguaac agcaacucca uguggacugu guaccauuuu ccaguggaga	60
ugcuguuacu uuugaugguu accaa	85
<210> 230	
<211> 63	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 230	
guguaacagc aacuccaugu ggacugugua ccaauuucca guggsgaugc uguuacuuuu	60
gau	63
<210> 231	
<211> 87	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 231	
agcuucccug gcucuagcag cacagaaaua uuggcacagg gaagcgaguc ugccaauuu	60
ggcugugcug cuccaggcag gguggug	87
<210> 232	
<211> 58	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 232	
uagcagcaca gaaauauugg cacagggaag cgagucugcc aauauuggcu gugcugcu	58
<210> 233	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 233	
cuagagcuug aauuggaacu gcugagugaa uuagguaguu ucauguuguu gggccugggu	60
uuugaacac aacaacaua aaccacccga uucacggeag uuacugcucc	110
<210> 234	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 234	
gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc ugguuuucug aacacaacaa cauuuaccac	60
cccgaauuac	70

[0035]

<210> 235	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 235	
ugcucgcuca gcugaucugu ggcuuaggua guuucauguu guugggauug aguuuugaac	60
ucggcaacaa gaaacugccu gaguuacauc agucgguuuu cgucgaggge	110
<210> 236	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 236	
gugaauuagg uaguuucaug uuguugggcc ugguuuucug aacacaacaa cauuuaacca	60
cccgaauccac	70
<210> 237	
<211> 84	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 237	
acuggucggu gaudiaggua guuuccuguu guugggaucc accuuucucu cgacagcacg	60
acacugccuu cauuacuua guug	84
<210> 238	
<211> 75	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 238	
gdcugugccg gguagagagg gcagugggag gaaagagcuc uucacccuuc accaccuucu	60
ccaaccagca uggcc	75
<210> 239	
<211> 60	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 239	
gugcaugugu auguaugugu gcaugugcau guguaugugu augagugcau geguguguc	60
<210> 240	
<211> 62	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 240	
ucauuggucc agaggggaga uagguuccug ugauuuuucc uucuuucua uagaauaaau	60
ga	62
<210> 241	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 241	
gccaaaccag uguucagacu accuguuacg gaggcucua auguguacag uagucugcac	60
auugguuagg c	71

[0036]

<210> 242	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 242	
aggaaagcuuc uggagaacuu gcuccgucgc cccaguguc agacuaccug uucaggacaa	60
ugccguugua caguagucug cacauugguu agacugggca agggagagca	110
<210> 243	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 243	
ccagaggaca ccuccacucc gucuaccagc uuuuagacu aucuguuacag gacucccaaa	60
uuguacagua gucugcaca ugguuaggcu gggcuggguu agaccucgg	110
<210> 244	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 244	
gccaaaccag uguucagacu accuguuacg gaggcucua augguacag uagucugcac	60
auugguuagg c	71
<210> 245	
<211> 70	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 245	
gccugggcca ucuaucuggg cagcauugga uggagucagg ucucuaauac ugccugguaa	60
ugaugacggc	70
<210> 246	
<211> 95	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 246	
ccagcucggg cagccguggc caucuucug ggcagcauug gauggaguca ggucucuaau	60
acugccuggu aaugaugacg gcggagcccu gcacg	95
<210> 247	
<211> 68	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 247	
cccucgucuu acccagcagu guuuggguc gguugggagu ucuaauacu gccggguaau	60
gauggagg	68
<210> 248	
<211> 72	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 248	
guuccuuuuu ccuaugcaua uacuucuuug aggaucuggc cuaaagaggu auagggaug	60
ggaagaugga gc	72

[0037]

<210> 249	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 249	
guguugggga cugcgcgctu ggguccagug guucuaaaca guucaacagu ucuguagcgc	60
aaauugugaaa uguuuaggac cacuagaccc ggcgggcgcg gcgacagcga	110
<210> 250	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 250	
ggcuacaguc uuucuucaug ugacucgugg acuuuccuuu gucauccuau gccugagaa	60
auaugaaggga ggcugggaag gcaaagggac guucaauugu caucacuggc	110
<210> 251	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 251	
aaagaucucc agacaaucca ugugcuucuc uuuguccuua uuccaaccga gucugucua	60
uacccaacca gaauucagug gagugaaguu caggaggcau ggagcugaca	110
<210> 252	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 252	
ugcuucccga ggccacauge uuuuuuuuu ccccauugg auuacuuugc uauggaaugu	60
aaggaagugu gugguuucgg caagug	86
<210> 253	
<211> 69	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 253	
aggccacaug cuucuuuuaa ucccacauug gaauacuuug cuauggaaug uaaggaagug	60
ugugguuuu	69
<210> 254	
<211> 71	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 254	
ugacggcgga gcuuuggcc cggguuuuac cugaugcuca cguauaagac gagcaaaaag	60
cuuguugguc a	71
<210> 255	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 255	
acccggcagu gccuccaggc gcagggcagc ccugccccac cgcacacugc gcugccccag	60
acccacugug cgugugacag cggcugauuc gugccugggc agcgcgaccc	110

[0038]

<210> 256	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 256	
ucaccuggcc augugacuug ugaggcuucc uuugucaucc uucgecuagg gcucugagca	60
gggcagggac agcaaaagggg ugcucaguug ucacuuccca cagcacggag	110
<210> 257	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 257	
eggggcaccc cggccggaca gcgcgccggc accuuggcuc uagacugcuu acugcccggg	60
ccgcccucag uaacagucuc cagucacggc caccgacgcc uggecccgcc	110
<210> 258	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 258	
ccugugcaga gauuauuuuu uaaaagguca caaucaacau ucauugcugu cgguggguug	60
aacugugugg acaagcucac ugaacauga augcaacugu ggccccgcuu	110
<210> 259	
<211> 108	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 259	
gaguuuugag guugcuucag ugaacauuca acgcugucgg ugaguuuuga auuaaaauca	60
aaaccaucga ccguugauug uaccuauagg cuaaccauca ucuacucc	108
<210> 260	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 260	
ggccuggcug gacagaguug ucaugugucu gccugucua acuugcugug cagaacauc	60
gcucaccugu acagcaggea cagacaggca gucacaugac aacccagccu	110
<210> 261	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 261	
aucuuucaga aaugguauac aggaaauga ccuaugaauu gacagacaa auagcugagu	60
uugucuguca uuucuuuagg ccauuuuucu guaugacugu gcuaaucaa	110
<210> 262	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 262	
gauggcugug aguuggcuua aucucagcug gcaacuguga gauguucaua caauccuca	60

[0039]

caguggucuc	ugggauuau	cuaaacagag	caauuicua	gccucacga	110
<210> 263					
<211> 110					
<212> RNA					
<213> 智人					
<400> 263					
aguauaaua	uuacauaguu	uuugaugucg	cagauacugc	aucaggaacu	60
gaucaguca	ccaucaguuc	cuaaugcauu	gccuucagca	ucuaaacaag	110
<210> 264					
<211> 110					
<212> RNA					
<213> 智人					
<400> 264					
gugauaangu	agcgagauuu	ucuguugucg	uugaucuaac	caugugguug	60
guaaaacaug	guucegucua	gcaccaugga	acgucacga	gcuuucuaa	110
<210> 265					
<211> 110					
<212> RNA					
<213> 智人					
<400> 265					
gaccagucgc	ugcggggcuu	uccuuugucg	uugaucuaac	cauguggugc	60
acggaacaug	guucugucua	gcaccggcga	aagcaccgug	cucuccgca	110
<210> 266					
<211> 110					
<212> RNA					
<213> 智人					
<400> 266					
ecgccccggg	ccgcggcucc	ugaauugucca	aacgcaauuc	ucgagucua	60
gagaguugag	ucuggacguc	ccgagccgcc	gccccaaac	cucgagcggg	110
<210> 267					
<211> 110					
<212> RNA					
<213> 智人					
<400> 267					
ecgccccggg	ccgcggcucc	ugaauugucca	aacgcaauuc	ucgagucua	60
gagaguugag	ucuggacguc	ccgagccgcc	gccccaaac	cucgagcggg	110
<210> 268					
<211> 97					
<212> RNA					
<213> 智人					
<400> 268					
acucsggggc	uucgccacug	auuguccaaa	cgcuaucuu	guaegagucu	60
gagaaugug	gcuggacauc	uguggcugag	cuccggg		97
<210> 269					
<211> 110					
<212> RNA					
<213> 智人					
<400> 269					
gacagugugg	cauuguaggg	cuccacaccg	uauugacac	uuugggcgag	60

[0040]

ugaagguguu caugaugcgg ucugggaacu ccucacggau cuuacugaug	110
<210> 270	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 270	
ugaacaacca ggucuggggc augaaccugg cauacaugu agauuucugu guucguuagg	60
caacagcuac auugucugcu ggguuucagg cuaccuggaa acauguucuc	110
<210> 271	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 271	
gcugcuggaa gguguaggua ccucaaugg cucaguagcc aguguagauc cugucuuucg	60
uaaucagcag cuacaucugg cuacuggguc ucugauggca ucuucucugcu	110
<210> 272	
<211> 110	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 272	
ccuggccucc ugacagugcca cgcuccgugu auuugacaag cugaguugga cacuccaugu	60
gguagagugu caguuugua aaaucccca ggcggcaca ugcuuaccag	110
<210> 273	
<211> 81	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 273	
ggcucuucac gucacuagug guuccguua guagaugauu gugcauugu ucaaaauggu	60
gcccuaguga cuacaaagcc c	81
<210> 274	
<211> 60	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 274	
caaucuuccu uuaucauggu auugauuuuu cagugcuucc cuuuugugug agagaagaua	60
<210> 275	
<211> 80	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 275	
aggaccuuc cagagggccc cccucaauc cuguugugcc uaaucagag gguugggugg	60
aggcucuccu gaagggcucu	80
<210> 276	
<211> 63	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 276	
aagaaauggu uuaccgucc acauacauuu ugaauauga uuggggaugg uaaaccgcuu	60

[0041]

cuu	63
<210> 277	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 277	
acugcuaacg aaugcucuga cuuuauugca cuacuguacu uuacagcuag cagugcaaua	60
guuuugucaa agcaucugaa agcagg	86
<210> 278	
<211> 69	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 278	
ccaccacuua aacguggaug uacuugcuuu gaaacuaaag aaguaagugc uuccauguuu	60
uggugaugg	69
<210> 279	
<211> 73	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 279	
gcucccuca acuuuacau ggaagugcuu ucugugacu uaaaaguaag ugcuuuccaug	60
uuuuaguagg agu	73
<210> 280	
<211> 68	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 280	
ccuuugcuuu aacauggggg uaccugcugu gugaacaaa aguaagugcu uccauguuuc	60
aguggagg	68
<210> 281	
<211> 68	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 281	
ccucucuuu aacauggagg cacuugcugu gacaugacaa aaaaagugc uccauguuu	60
gagugugg	68
<210> 282	
<211> 82	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 282	
gcuuugcuuc ccucggccuu cucuucccgg ucuuucccg agucgggaaa agcuggguug	60
agaggcgaa aaaggauag gu	82
<210> 283	
<211> 59	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 283	
uugccuucu aagccaggga uuguggguuc gagucccacc cgggguaaag aaaggccga	59

[0042]

<210> 284	
<211> 86	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 284	
uugguacuug gagagaggug guccguggcg cguucgcuu auuuauaggcg cacauuacac	60
ggucgaccuc uuugcaguau cuaauc	86
<210> 285	
<211> 83	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 285	
cugacuauug cuccccgau cccuagggc auugguguaa agcuggagac ccacugcccc	60
aggugcugcu gggguugua guc	83
<210> 286	
<211> 98	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 286	
auacagugcu ugguuccuag uaggugucca gaaaguguu gugacauau uuguuuauug	60
aggaccuccu aucaaucaag cacugugcua ggcucugg	98
<210> 287	
<211> 95	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 287	
cucaucuguc uguuggcug gaggcaggcg cuuugugaag gcggguggug cucagaucgc	60
cucugggccc uuccucagc cccgaggcgg auuca	95
<210> 288	
<211> 75	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 288	
uggagugggg gggcaggagg ggcucaggga gaaagugcau acagccccug gccucucug	60
eccuuccguc ccug	75
<210> 289	
<211> 94	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 289	
cuuugcgau cacugccuc cugggccugu gucuuaggcu cugcaagauc aaccgagcaa	60
agcacacggc cugcagagag gcagcgcucu gccc	94
<210> 290	
<211> 94	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 290	
gaguuuuguu uuguuuggu uuguucagg uauggucca gggauccag aucaaaccag	60

[0043]

gccccugggc cuauccuaga accaaccuaa gcuc	94
<210> 291	
<211> 94	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 291	
uguuuugagc gggggucaag agcaauaacg aaaaauuuu gucauaaac guuuuucuu	60
auugcuccug accuccucuc auuugcuuaa uuca	94
<210> 292	
<211> 93	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 292	
guagucagua guuggggggu ggggaacggcu ucauacagga guugaugcac aguuauccag	60
cuccuuaug augccuuuc ucauccccuu caa	93
<210> 293	
<211> 67	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 293	
uuuccaaca uauccuggug cugagugaug acucaggcga cuccagcauc agugauuuug	60
uugaaga	67
<210> 294	
<211> 94	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 294	
cggggcggcc gcucuccug uccuccagga gcucacugug gccugccugu gaggccucg	60
acgacagagc cggcgcucg cccagugucu gcgc	94
<210> 295	
<211> 95	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 295	
uuguaccugg ugugauuaa aagcaaugag acugauugc auaugucguu uguggaaucc	60
gucucaguua cuuuauagcc auaccuggua ucuua	95
<210> 296	
<211> 99	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 296	
gaaacugggc ucaaggugag gggugcuauc ugugauugag ggacaugguu aauggaauug	60
ucucacacag aaaugcacc cgucaccuug gccuacuaa	99
<210> 297	
<211> 98	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 297	
acccaaacc uaggucugcu gacuccuagu ccagggcucg ugauggcugg ugggcccuga	60

[0044]

acgagggguc	uggagggccug	gguuugaaua	ucgacagc	98
<210> 298				
<211> 86				
<212> RNA				
<213> 智人				
<400> 298				
gucugucugc	ccgcanguccu	gccucucugu	ugcucugaag	60
	gagggcagggg	cuggggccugc		
agcugccugg	gcagagcggc	uccugc		86
<210> 299				
<211> 68				
<212> RNA				
<213> 智人				
<400> 299				
ccauuacugu	ugcuauuauug	caacucuguu	gaauuuuuuu	60
	uggaauugca	cuuuagcauu		
ggugaugg				68
<210> 300				
<211> 66				
<212> RNA				
<213> 智人				
<400> 300				
aaaagguuga	uaauccuucu	auguuuauug	uaauuauuggu	60
	uaaacauaga	ggaaauucca		
cguuuu				66
<210> 301				
<211> 70				
<212> RNA				
<213> 智人				
<400> 301				
uugaaggag	aucgaccgug	uuauuuucgc	uuuuuugacu	60
	ucgaauauua	caugguugau		
uuuuucucag				70
<210> 302				
<211> 75				
<212> RNA				
<213> 智人				
<400> 302				
agacagagaa	gccaggucac	gucucugcag	uuacacagcu	60
	cacgagugcc	ugcuggggug		
gaaccugguc	ugucu			75
<210> 303				
<211> 67				
<212> RNA				
<213> 智人				
<400> 303				
guggcacuca	aacugugggg	gcacuuucug	cucucuggug	60
	aaagugccgc	caucuuuuga		
guguuac				67
<210> 304				
<211> 67				
<212> RNA				
<213> 智人				
<400> 304				

[0045]

guggggccuca aauguggagc acuaauucuga uguccaagug gaaagugcug cgacauuuga	60
gcgucac	67
<210> 305	
<211> 69	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 305	
gggauacuca aaauaggggc gcuuuccuuu uugucuguac uggaagugc uucgauuuug	60
ggguguccc	69
<210> 306	
<211> 72	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 306	
uacacgggc auuaaaauac aaccugauaa guguaauagc accuaucaga uuguaauuga	60
augucugug na	72
<210> 307	
<211> 102	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 307	
auggagcugc ucaccugug ggcucuaau guggaggaac uauucugug uccaagugga	60
aagugcugcg acuuuugagc gucaccggug acgccauau ca	102
<210> 308	
<211> 101	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 308	
gcauccccuc agccugugc acucaaaacug ugagggcacu uucugcucuc ugguaaaau	60
gccgccauuc uuugaguguu accgcugag aagacucaac c	101
<210> 309	
<211> 102	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 309	
cgaggagcuc auacugggau acucaaaauug ggggcgcuuu ccuuuuuguc uguuacuggg	60
aagugcuucg auuuugggu gucccuuuu gaguagggca uc	102
<210> 310	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 310	
ugagguagua gguuguauag uu	22
<210> 311	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 311	
ugagguagua gguugugugg uu	22

[0046]

<210> 312	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 312	
ugagguagua gguuguauagg uu	22
<210> 313	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 313	
agagguagua gguugcauag u	21
<210> 314	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 314	
ugagguagga gguuguaiag u	21
<210> 315	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 315	
ugagguagua gguuguaiag uu	22
<210> 316	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 316	
ugagguagua guuuguacag u	21
<210> 317	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 317	
ugagguagua guuugugcu	19
<210> 318	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 318	
uggaauagua agaaguaugu a	21
<210> 319	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 319	
uggaagacua gugauuuugu u	21
<210> 320	
<211> 23	

[0047]

<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 320	
ucuuugguua ucuagcugua uga	23
<210> 321	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 321	
uaaagcuaga uaaccgaaag u	21
<210> 322	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 322	
uaccucguag auccgaauuu gug	23
<210> 323	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 323	
uaccucguag aaccgaauuu gu	22
<210> 324	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 324	
uagcagcaca uaaugguuug ug	22
<210> 325	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 325	
uagcagcaca ucaugguuua ca	22
<210> 326	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 326	
uagcagcacg uaaauauugg cg	22
<210> 327	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 327	
caaagugcuu acagucagg uagu	24
<210> 328	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 328	

[0048]

acugcaguga aggcacuugu	20
<210> 329	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 329	
uaaggugcau cuagucaga ua	22
<210> 330	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 330	
ugugcaaauc uaugcaaaac uga	23
<210> 331	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 331	
ugugcaaauc caugcaaaac uga	23
<210> 332	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 332	
uaaagugcuu auagucagg ua	22
<210> 333	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 333	
uagcuuauca gacugauguu ga	22
<210> 334	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 334	
aagcugccag uuagaagaac gu	22
<210> 335	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 335	
aucacauugc cagggauiic c	21
<210> 336	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 336	
aucacauugc cagggauiac cac	23
<210> 337	

[0049]

<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 337	
uggcucaguu cagcaggaac ag	22
<210> 338	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 338	
cauugcacuu gucucggucu ga	22
<210> 339	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 339	
uucaaguaau ccaggauagg cu	22
<210> 340	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 340	
uucaaguaau ucaggauagg u	21
<210> 341	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 341	
uucacagugg cuaaguuccg cc	22
<210> 342	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 342	
uucacagugg cuaaguucug	20
<210> 343	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 343	
aaggagcuca cagucuauug ag	22
<210> 344	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 344	
cuagcaccau cugaaaucgg uu	22
<210> 345	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 智人	

[0050]

<400> 345 uagcacc <u>auu</u> ugaaaucagu	20
<210> 346 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 346 uagcacc <u>auu</u> ugaaaucggu ua	22
<210> 347 <211> 23 <212> RNA <213> 智人	
<400> 347 ugu <u>aaacauc</u> cucgacugga agc	23
<210> 348 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 348 cuuucagucg ga <u>uguuugca</u> gc	22
<210> 349 <211> 21 <212> RNA <213> 智人	
<400> 349 ugu <u>aaacauc</u> cuacacucag c	21
<210> 350 <211> 23 <212> RNA <213> 智人	
<400> 350 ugu <u>aaacauc</u> cuacacucuc agc	23
<210> 351 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 351 ugu <u>aaacauc</u> cccgacugga ag	22
<210> 352 <211> 20 <212> RNA <213> 智人	
<400> 352 ugu <u>aaacauc</u> cuugacugga	20
<210> 353 <211> 21 <212> RNA <213> 智人	
<400> 353 ggcaagau <u>gc</u> uggc <u>auagcu</u> g	21

[0051]

<210> 354	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 354	
uauugcacau uacuaaguug c	21
<210> 355	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 355	
gugcauuqua guugcauuig	19
<210> 356	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 356	
uggcaguguc uuagcugguu gu	22
<210> 357	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 357	
aggcaguguc auuagcugau ug	22
<210> 358	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 358	
aggcagugua guuagcugau ug	22
<210> 359	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 359	
uauugcacuu gucccggccu gu	22
<210> 360	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 360	
aaagugcugu ucgugcaggu ag	22
<210> 361	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 361	
uucaacgggu auuuauugag ca	22
<210> 362	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	

[0052]

<400> 362 uuuggcacua gcacauuuuu gc	22
<210> 363 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 363 ugagguagua aguuguauug uu	22
<210> 364 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 364 aacccguaga uccgaucuug ug	22
<210> 365 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 365 cacccguaga accgaccuug cg	22
<210> 366 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 366 uacaguacug ugauaacuga ag	22
<210> 367 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 367 uacaguacug ugauaacuga ag	22
<210> 368 <211> 23 <212> RNA <213> 智人	
<400> 368 agcagcauug uacagggcua uga	23
<210> 369 <211> 20 <212> RNA <213> 智人	
<400> 369 ucaaaugcuc agacuccugu	20
<210> 370 <211> 24 <212> RNA <213> 智人	
<400> 370 aaaagugcuu acagugcagg uagc	24

[0053]

<210> 371	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 371	
uaaagugcug acagugcaga u	21
<210> 372	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 372	
agcagcauug uacagggcua uca	23
<210> 373	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 373	
uggaguguga caaugguguu ugu	23
<210> 374	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 374	
uuaaggcacg cggugaauca ca	22
<210> 375	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 375	
ucccugagac ccuuuaaccu gug	23
<210> 376	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 376	
ucccugagac ccuaacuugu ga	22
<210> 377	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 377	
cauuuuuacu uuugguacgc g	21
<210> 378	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 378	
ucguaccgug aguaauaauug c	21
<210> 379	
<211> 22	
<212> RNA	

[0054]

<213> 智人	
<400> 379	
ucggauccgu cugagcuugg cu	22
<210> 380	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 380	
ucacagugaa ccggucucuu uu	22
<210> 381	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 381	
ucacagugaa ccggucucuu uc	22
<210> 382	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 382	
uuuuuugcgg ucugggcuu g c	21
<210> 383	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 383	
cagugcaaug uuaaaagggc	20
<210> 384	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 384	
cagugcaaug augaaagggc au	22
<210> 385	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 385	
uaacagucua cagecauggu cg	22
<210> 386	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 386	
uugguccccu ucaaccagcu gu	22
<210> 387	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 387	
uugguccccu ucaaccagcu a	21

[0055]

<210> 388	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 388	
ugugacuggu ugaccagagg g	21
<210> 389	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 389	
uauugcuuuu uauuccuauug uga	23
<210> 390	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 390	
uauugcuuuu cauuccuauug ug	22
<210> 391	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 391	
acuccaauug uuuuugaugau gga	23
<210> 392	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 392	
uauugcuuaa gaauacgegu ag	22
<210> 393	
<211> 17	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 393	
agcugguguu gugaauc	17
<210> 394	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 394	
ucuacagugc acgugucu	18
<210> 395	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 395	
agugguuuuu cccuauaggua g	21
<210> 396	
<211> 21	

[0056]

<212> RNA <213> 智人	
<400> 396 aacacugucu gguaaagaug g	21
<210> 397 <211> 23 <212> RNA <213> 智人	
<400> 397 uguaguguuu ccuacuuuuu gga	23
<210> 398 <211> 20 <212> RNA <213> 智人	
<400> 398 cauaaaguag aaagcacuac	20
<210> 399 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 399 ugagaugaag cacuguagcu ca	22
<210> 400 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 400 uacaguauag augauguacu ag	22
<210> 401 <211> 24 <212> RNA <213> 智人	
<400> 401 guccaguuuu cccaggaau ccuu	24
<210> 402 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 402 ugagaacuga auuecauggg uu	22
<210> 403 <211> 20 <212> RNA <213> 智人	
<400> 403 guguguggaa augcuucgc	20
<210> 404 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 404	

[0057]

ucagugcacu acagaacuuu gu	22
<210> 405	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 405	
ucagugcauc acagaacuuu gu	22
<210> 406	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 406	
ucuggcuccg ugucuucacu cc	22
<210> 407	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 407	
ucucccaacc cuuguaccag ug	22
<210> 408	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 408	
acuagacuga agcuccuuga gg	22
<210> 409	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 409	
ucagugcaug acagaacuug g	21
<210> 410	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 410	
uugcauaguc acaaaaguga	20
<210> 411	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 411	
uagguuauc guguugccuu cg	22
<210> 412	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 412	
aaucauacac gguugaccua uu	22
<210> 413	

[0058]

<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 413	
uuaaugcuua ucgugauagg gg	22
<210> 414	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 414	
aacauucaac gcugucggug agu	23
<210> 415	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 415	
aacauucauu gcugucggug gguu	24
<210> 416	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 416	
aacauucaac cugucgguga gu	22
<210> 417	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 417	
uuugcgaug guagaacuca ca	22
<210> 418	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 418	
ugguucuaga cuugccaacu a	21
<210> 419	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 419	
usuggcacug guagaaauca cug	23
<210> 420	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 420	
uggacggaga acugauaagg gu	22
<210> 421	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 智人	

[0059]

<400> 421 uggagagaaa ggcaguuc	18
<210> 422 <211> 23 <212> RNA <213> 智人	
<400> 422 caaagaaauuc uccuuuuggg cuu	23
<210> 423 <211> 21 <212> RNA <213> 智人	
<400> 423 ucgugucuug uguugcagcc g	21
<210> 424 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 424 caucccuugc augguggagg gu	22
<210> 425 <211> 23 <212> RNA <213> 智人	
<400> 425 gugccuacug agcugauauc agu	23
<210> 426 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 426 ugauauguuu gauauauuag gu	22
<210> 427 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 427 caacggauc ccaaaagcag cu	22
<210> 428 <211> 21 <212> RNA <213> 智人	
<400> 428 cugaccuaug aaugacagc c	21
<210> 429 <211> 21 <212> RNA <213> 智人	
<400> 429 aacuggccua caaaguccca g	21

[0060]

<210> 430	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 430	
uguuacagca acuccaugug ga	22
<210> 431	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 431	
uagcagcaca gaaauauugg c	21
<210> 432	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 432	
uagguaguuu cauguuguug g	21
<210> 433	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 433	
uagguaguuu ecuguuguug g	21
<210> 434	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 434	
uuacaccaccu ucuccaccca gc	22
<210> 435	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 435	
gguccagagg ggagauagg	19
<210> 436	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 436	
cccaguguuc agacuaccug uuc	23
<210> 437	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 437	
uacaguaguc ugcacauugg uu	22
<210> 438	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	

[0061]

<400> 438 cccaguguuu agacuaucug uuc	23
<210> 439 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 439 uaacacuguc ugguaacgau gu	22
<210> 440 <211> 24 <212> RNA <213> 智人	
<400> 440 cucuaauacu gccugguaau gaug	24
<210> 441 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 441 aaucugccg gguaaugaug ga	22
<210> 442 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 442 agagguaauag ggcaugggaa ga	22
<210> 443 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 443 gugaaauguu uaggaccacu ag	22
<210> 444 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 444 uucccuuugu cauccuagc cu	22
<210> 445 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 445 uccuucauc caccggaguc ug	22
<210> 446 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 446 uggaanguaa ggaagugugu gg	22

[0062]

<210> 447	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 447	
auaagacgag caaaaagcuu gu	22
<210> 448	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 448	
cugugcgugu gacagcggu g	21
<210> 449	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 449	
uuccuuugu cauccuugc cu	22
<210> 450	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 450	
uaacagucuc cagucacggc c	21
<210> 451	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 451	
accaucgacc guugaugua cc	22
<210> 452	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 452	
acagcaggca cagacaggca g	21
<210> 453	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 453	
augaccuug aauugacaga c	21
<210> 454	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 454	
uaaucucagc uggcaacugu g	21
<210> 455	
<211> 24	
<212> RNA	

[0063]

<213> 智人	
<400> 455	
uacugcauca ggaacugauu ggau	24
<210> 456	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 456	
uugugcuuga ucuaaccaug u	21
<210> 457	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 457	
ugauugucca aacgcaauuc u	21
<210> 458	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 458	
ccacaccgua ucugacacuu u	21
<210> 459	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 459	
agcuacauug ucugcugggu uuc	23
<210> 460	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 460	
agcuacauu ggcuacuggg ucuc	24
<210> 461	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 461	
ugucaguuug ucaaauacc c	21
<210> 462	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 462	
caagucacua gugguuccgu uua	23
<210> 463	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 463	
agggeccccc cucauuccug u	21

[0064]

<210> 464	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 464	
ugguuuaccg ucccacauac au	22
<210> 465	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 465	
cagugcaaua guauugucaa agc	23
<210> 466	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 466	
uaagugcuuc cauguuuugg uga	23
<210> 467	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 467	
acuuuaacau ggaagugcuu ucu	23
<210> 468	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 468	
uaagugcuuc cauguuuuag uag	23
<210> 469	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 469	
uuuaacaugg ggguaccugc ug	22
<210> 470	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 470	
uaagugcuuc cauguuucag ugg	23
<210> 471	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 471	
uaagugcuuc cauguuugag ugu	23
<210> 472	
<211> 23	

[0065]

<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 472	
aaaagcuggg uuagaggggc gaa	23
<210> 473	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 473	
uaagccaggg auuguggguu c	21
<210> 474	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 474	
gcacauaca cggucgaccu cu	22
<210> 475	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 475	
cgcauccccu agggcauugg ugu	23
<210> 476	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 476	
ccacugcccc aggugcugcu gg	22
<210> 477	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 477	
ccuaguaggu guccaguaag u	21
<210> 478	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 478	
ccucugggcc cuuccuccag	20
<210> 479	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 479	
cuggccucuu cugccuucc gu	22
<210> 480	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 480	

[0066]

gcaaagcaca cggccugcag aga	23
<210> 481	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 481	
gccccugggc cuauccuaga a	21
<210> 482	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 482	
ucaagagcaa uaacgaaaa ugu	23
<210> 483	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 483	
uccagcuccu auaugaugcc uuu	23
<210> 484	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 484	
uccagcauca gugauuuugu uga	23
<210> 485	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 485	
uuccuguccu ccaggagcuc a	21
<210> 486	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 486	
uccgucucag uuacuuuaua gcc	23
<210> 487	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 487	
ucucacacag aaauccgacc cguc	24
<210> 488	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 488	
ugcugacucc uaguccaggg c	21
<210> 489	

[0067]

<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 189	
ugucugcccg caugccugcc ucu	23
<210> 490	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 490	
aaugcacuu uagcaauggu ga	22
<210> 491	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 491	
acauagagga aauccacgu uu	22
<210> 492	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 492	
aaauaacau gguugaucuu u	21
<210> 493	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 493	
gccugcuggg guggaaccug g	21
<210> 494	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 494	
gugccgccau cuuugagug u	21
<210> 495	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 495	
aaagucugc gacauugag cgu	23
<210> 496	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 智人	
<400> 496	
acucaaaug gggcgcuuu cc	22
<210> 497	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 智人	

[0068]

<400> 497 gaagugcuuc gaauuugggg ugu	23
<210> 498 <211> 22 <212> RNA <213> 智人	
<400> 498 uuauaauaca accugauaag ug	22

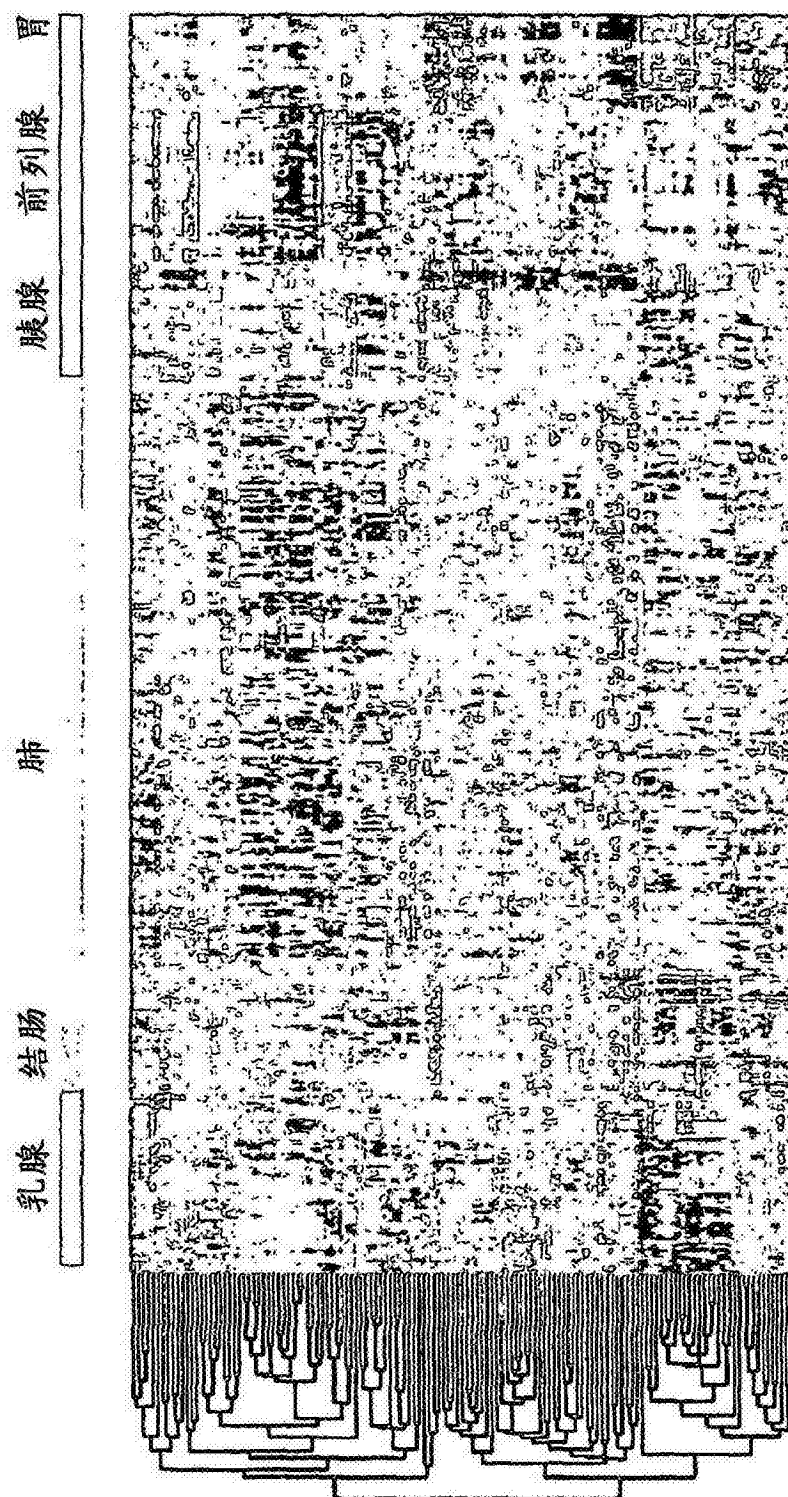


图 1

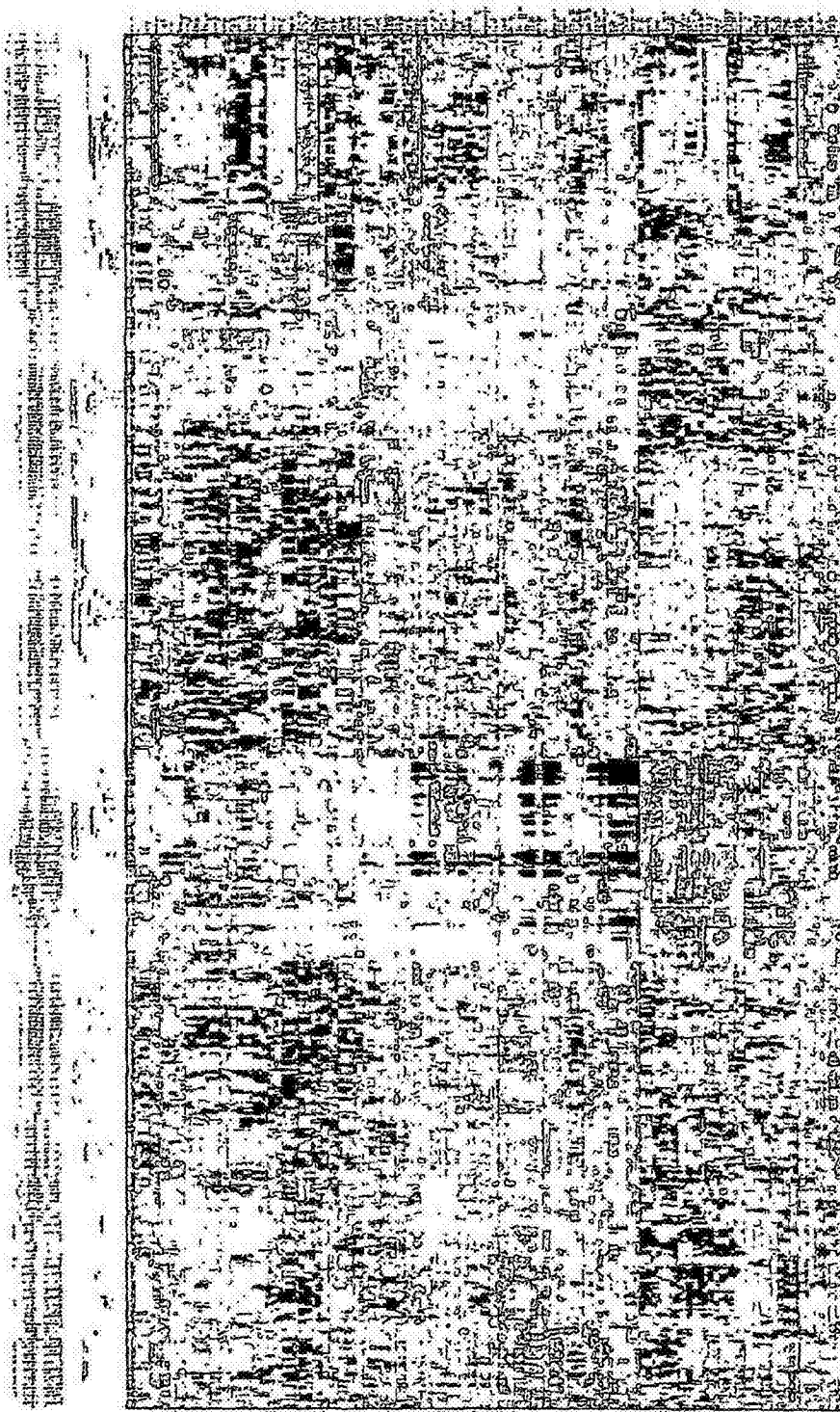


图 2



图 3

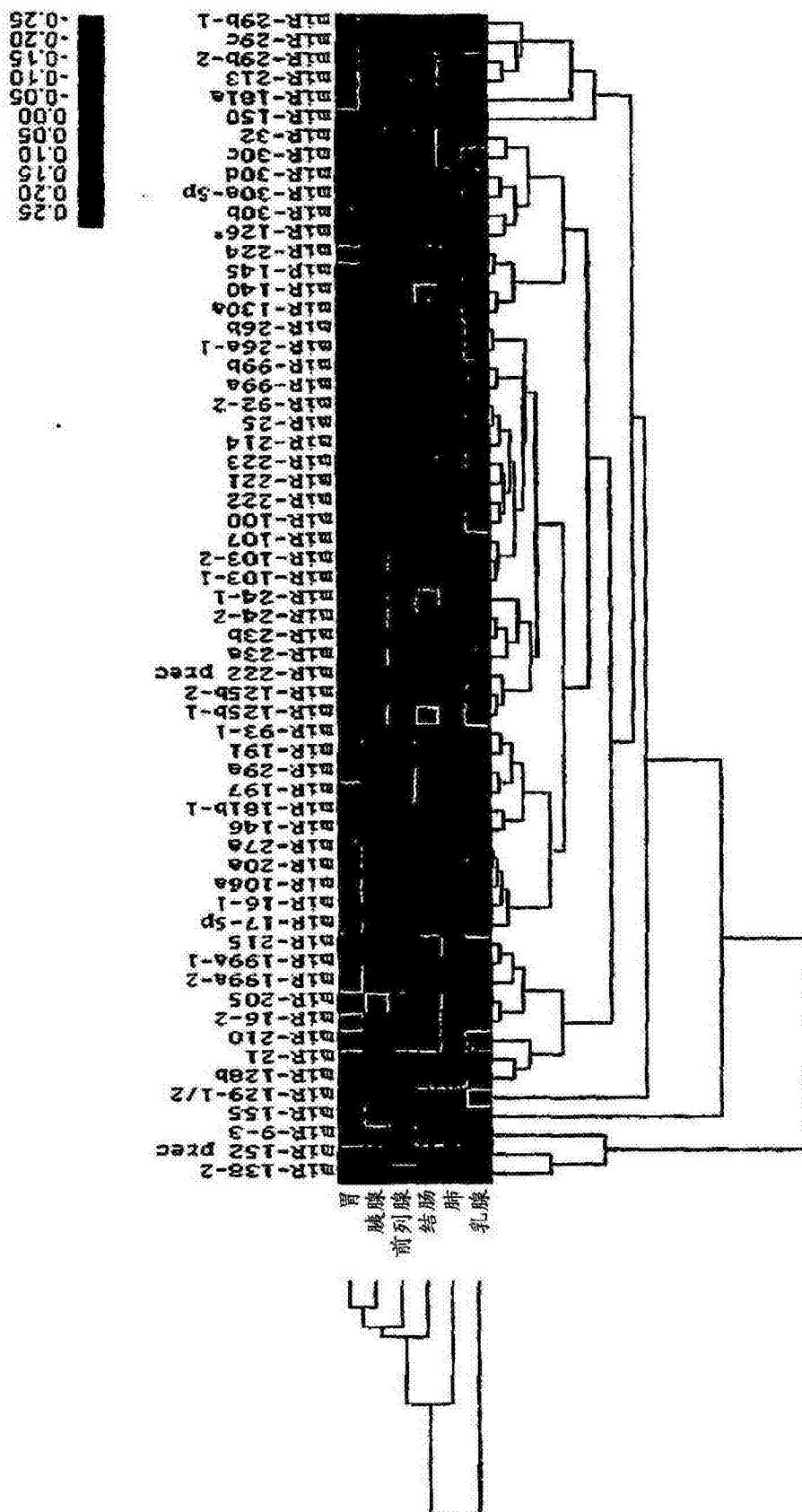


图 4

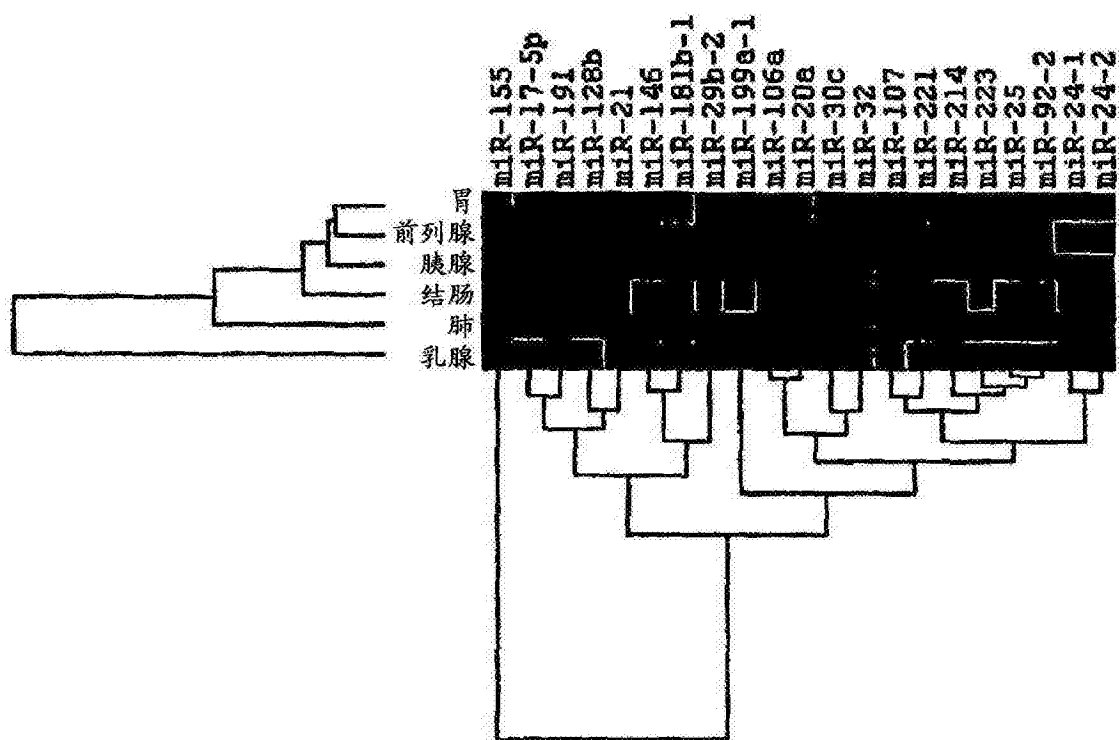


图 5

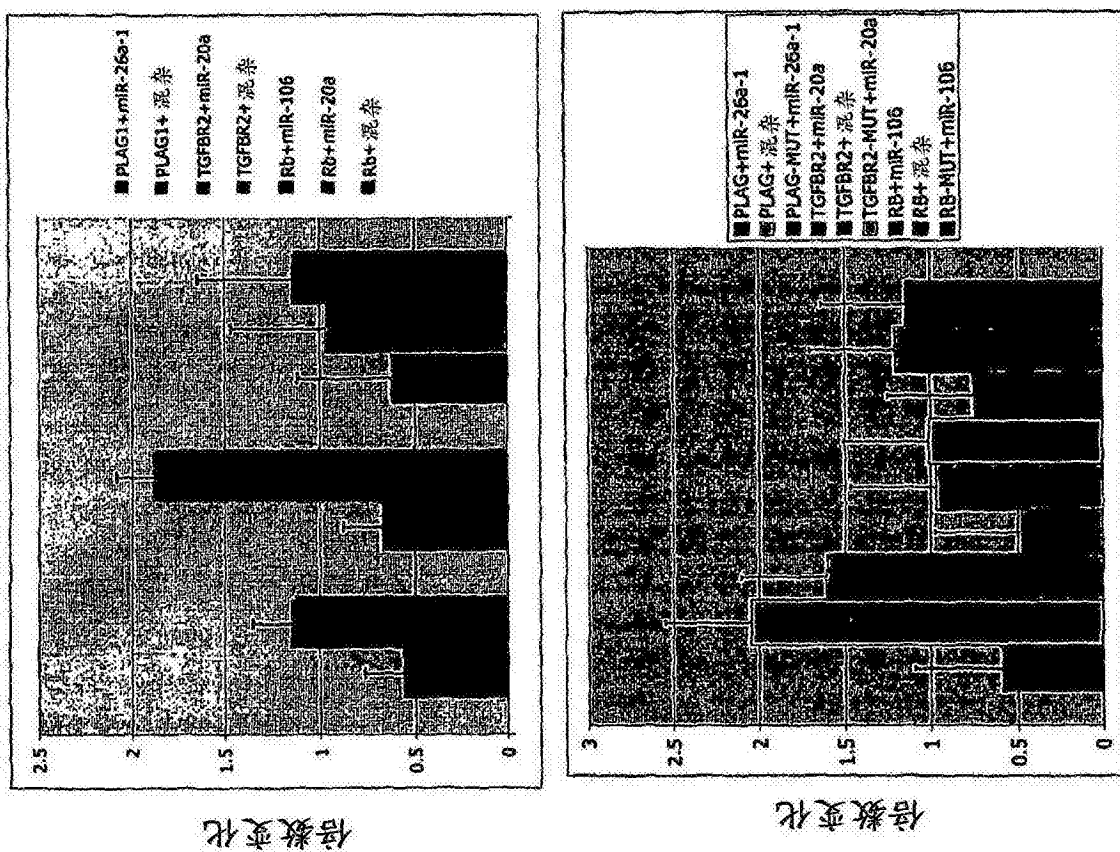


图 6A

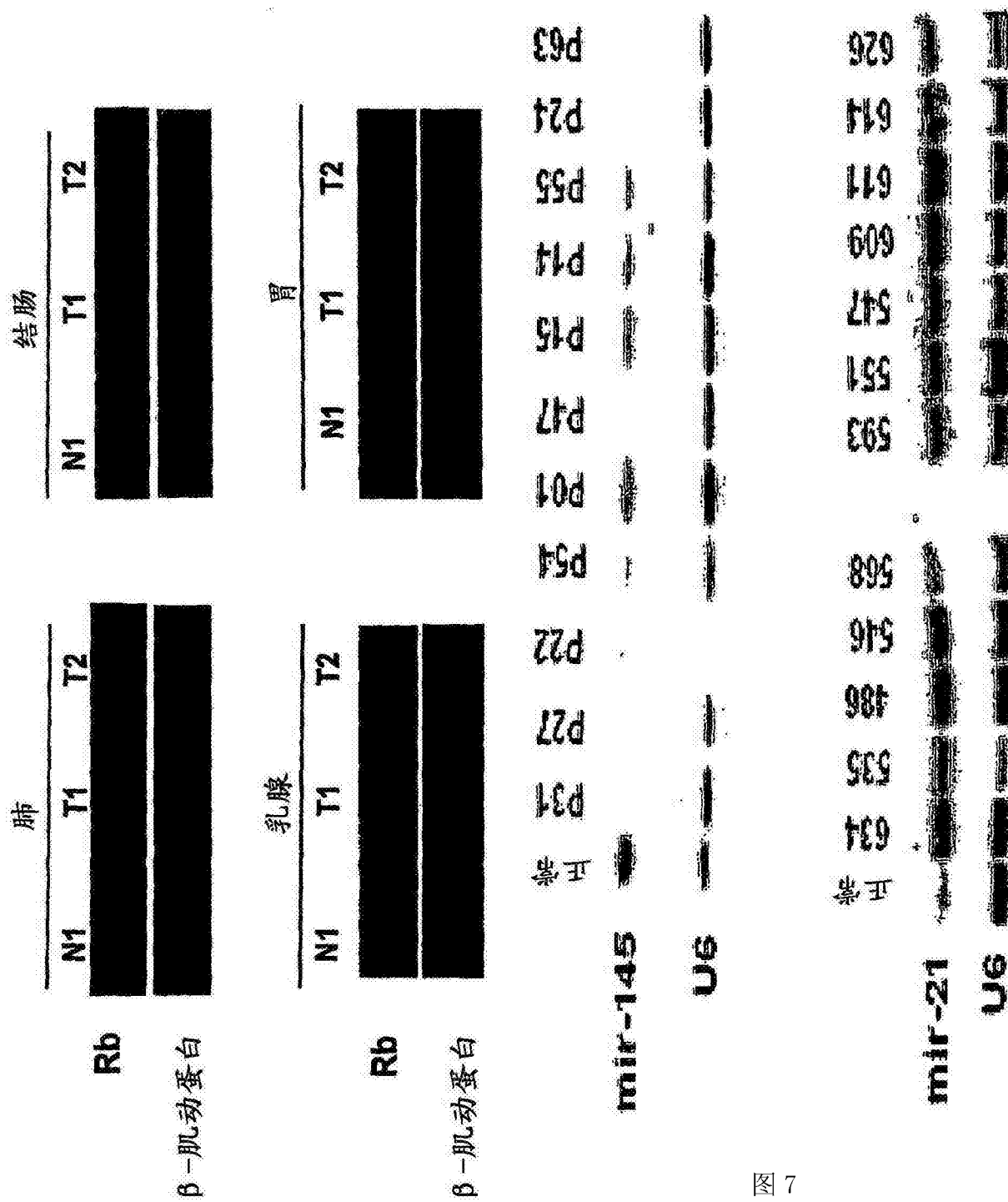


图 6B

图 7

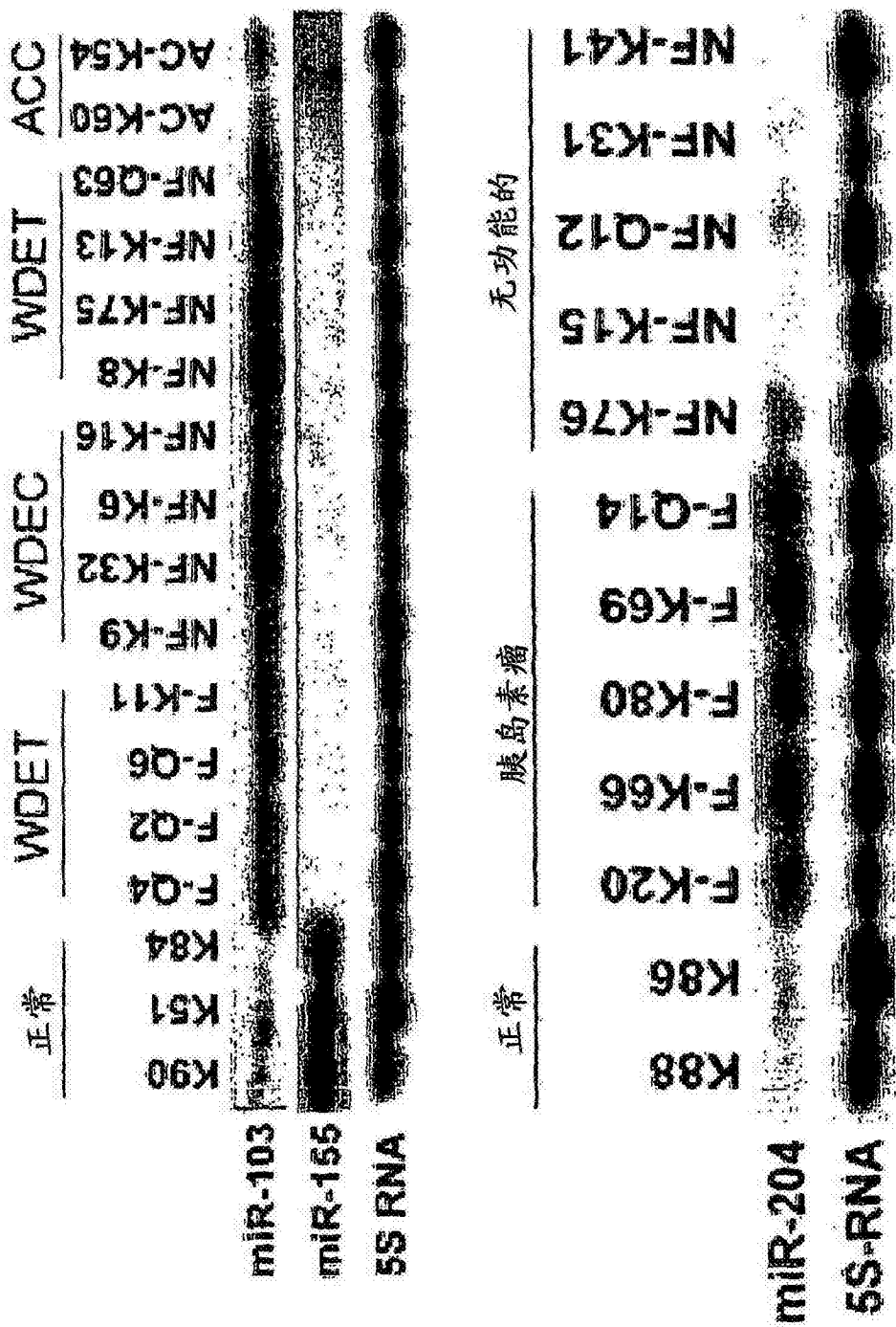


图 8