

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 379 805**

51 Int. Cl.:
C12N 15/113 (2010.01)
A61K 48/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06782211 .4**
96 Fecha de presentación: **26.07.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1907582**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.04.2008**

54 Título: **ECT2 como diana terapéutica del cáncer de esófago**

30 Prioridad:
27.07.2005 US 703263 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.05.2012

73 Titular/es:
ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.
2-1, SAKADO 3-CHOME, TAKATSU-KU
KAWASAKI-SHI, KANAGAWA 213-0012, JP

72 Inventor/es:
NAKAMURA, Yusuke;
DAIGO, Yataro y
NAKATSURU, Shuichi

74 Agente/Representante:
Arias Sanz, Juan

ES 2 379 805 T3

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

DESCRIPCIÓN

ECT2 como diana terapéutica del cáncer de esófago.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al gen ECT2 o a un polipéptido codificado por el mismo para su uso en métodos para detectar, diagnosticar y proporcionar un pronóstico de cáncer de esófago, por ejemplo carcinoma de células escamosas de esófago (ESCC) y cáncer de pulmón, así como en métodos de tratamiento y prevención de cáncer de esófago, metástasis de cáncer de esófago, recidiva de cáncer de esófago. La presente invención da a conocer métodos para detectar, diagnosticar y proporcionar un pronóstico del cáncer, incluyendo cáncer de esófago, o

10 Antecedentes de la invención

15 El cáncer de pulmón es la principal causa de muerte relacionada con el cáncer en el mundo. A pesar de algunos avances en la detección temprana y recientes mejoras en su tratamiento, el pronóstico de los pacientes con cáncer de pulmón sigue siendo malo (Parkin *et al*, Lancet Oncol. Septiembre de 2001; 2(9):533-43). Por otro lado, el carcinoma de células escamosas de esófago (ESCC) es uno de los tumores malignos más letales en la familia de carcinoma gastrointestinal. La mayoría de los cánceres de esófago están avanzados en el momento de presentación y diagnóstico, haciendo que la cura sea poco probable, especialmente mediante cirugía sola (Shimada *et al.*, Surgery. 2003; 133(5):486-94). A pesar del uso de técnicas quirúrgicas modernas combinadas con modalidades de múltiples tratamientos, tales como radioterapia y quimioterapia, la tasa de supervivencia a los 5 años global sigue siendo del 40-60% (Tamoto *et al.*, Clin Cancer Res. 2004; 10(11):3629-38) mientras que la del cáncer de pulmón es de sólo el 15% (Parkin *et al*, Lancet Oncol. Septiembre de 2001; 2(9):533-43). De hecho, se notifica que se había desarrollado ESCC recurrente en casi la mitad de los pacientes que se sometieron a una resección aparentemente curativa, a una mediana del seguimiento de 37,3 meses (Mariette *et al.*, Cancer. 2003; 97(7):1616-23). En consecuencia, se ha dirigido un gran esfuerzo de investigación hacia estudios de quimiorradiación y quimioterapia adyuvante, particularmente en la definición de los mejores regímenes desde el punto de vista de toxicidad mínima y eficacia y en un intento por predecir la respuesta. Sin embargo, los desarrollos en terapias adyuvantes y neoadyuvantes han conducido a conclusiones mixtas. Conjuntamente, estudios anteriores no han mostrado un régimen adyuvante o neoadyuvante óptimo en cuanto a beneficio de supervivencia. Por tanto, hay una urgente necesidad de herramientas de diagnóstico novedosas para la detección temprana del cáncer y terapias moleculares dirigidas que impliquen enfoques basados en anticuerpos y moléculas pequeñas.

30 Asimismo, se usan varios marcadores tumorales para el diagnóstico y el seguimiento de pacientes con ESCC, por ejemplo; SCC (antígeno de carcinoma de células escamosas), CEA (antígeno carcinoembrionario) y CYFRA 21-1. Recientemente, se notificó que MK (midkina), CD147, MMP-2 (metaloproteinasa 2 de la matriz), MMP-26 y MMP-9 séricos en pacientes con ESCC estaban asociados con un mal pronóstico (Shimada *et al.*, Cancer Sci. 2003; 94(7):628-32; Kawaguchi *et al.*, Cancer. 2000; 89(7): 1413-7; Ishibashi *et al.*, Cancer. 2004; 101(9):1994-2000; Yamamoto *et al.*, Carcinogenesis. 2004;25(12):2353-60). Sin embargo, en la actualidad, ningún marcador tumoral específico es clínicamente útil para la detección de ESCC en un estadio temprano y potencialmente curativo. Por tanto, se necesitan urgentemente nuevas estrategias terapéuticas y de diagnóstico tales como un desarrollo de anticuerpos y agentes moleculares dirigidos así como vacunas contra el cáncer. Varios marcadores tumorales, tales como proGPP, NSE, fragmento de citoqueratina 19 (CYFRA 21-1), antígeno de carcinoma de células escamosas (SCC) y antígeno carcinoembrionario (CEA) están aumentados en la circulación de pacientes con cáncer de pulmón (Castaldo G, *et al.*, J Clin Oncol. Noviembre de 1997; 15(11):3388-93.; Peck *et al.*, Cancer Res. 1 de julio de 1998; 58(13):2761-5.; Salerno *et al.*, Chest. Junio de 1998; 113(6):1526-32.), mientras que SCC, CEA y CYFRA 21-1 para ESCC, se usan en la práctica clínica para el diagnóstico así como en el seguimiento de los pacientes (Shimada *et al.*, Surgery. Mayo de 2003; 133(5):486-94, Kawaguchi *et al.*, Cancer. 1 de octubre de 2000; 89(7):1413-7). En 45 pacientes con NSCLC, la sensibilidad de CEA era del 25% en carcinoma de células escamosas y del 50% en adenocarcinoma, mientras que la sensibilidad de SCC era del 30% en carcinoma de células escamosas (Rastel *et al.*, Eur J Cancer. 1994; 30A(5):601-6). La sensibilidad de CYFRA 21-1 era del 57% en carcinoma de células escamosas y del 27% en adenocarcinoma (Rastel *et al.*, Eur J Cancer. 1994; 30A(5):601-6). Según se informa, la tasa positiva de SCC sérico en pacientes con ESCC era del 18% en el estadio I, del 22% en el estadio II, del 34% en el estadio III y del 37% en el estadio IV. La incidencia de positividad para CEA en pacientes con ESCC en estadio IV era de solo el 16%. Aunque CEA no era un factor de pronóstico, se demostró que SCC era un factor de pronóstico independiente a factores de pTNM usando análisis multivariante (Shimada *et al.*, Surgery. Mayo de 2003; 133(5):486-94). Estos hechos indican que ningún marcador tumoral ha demostrado ser útil para la detección de 50 cáncer de pulmón y ESCC en un estadio potencialmente curativo, y en la actualidad está disponible un número limitado de marcadores de pronóstico prácticos para la selección de modalidades de tratamiento para pacientes individuales.

60 El análisis de los perfiles de expresión génica en microalineamientos de ADNc permite el análisis exhaustivo de los perfiles de expresión génica en células cancerosas, y se han notificado algunos estudios que describen tales perfiles de transcripción. Por ejemplo, con respecto a ESCC, varios estudios notificaron los perfiles de expresión génica de ESCC humano que son candidatos como marcadores de diagnóstico o dianas terapéuticas (Luo *et al.*, Oncogene.

2004; 23(6):1291-9; Kihara *et al.*, Cancer Res. 2001; 61(17): 6474-9; Tamoto *et al.*, Clin Cancer Res. 2004; 10(11):3629-38). Sin embargo, todos los estudios previos en ESCC humano implicaban tejidos tumorales a granel y, puesto que ESCC contiene diversos tipos de células, tales como células mesenquimales y células inflamatorias, no pueden reflejar cambios en la expresión precisos durante la carcinogénesis de esófago (Nishida *et al.*, Cancer Res. 2005; 65(2):401-9). Por consiguiente, se necesitan estudios más precisos.

La presente invención aborda estas necesidades. Específicamente, en un esfuerzo por entender los mecanismos carcinogénicos asociados con el cáncer e identificar dianas para desarrollar agentes anticancerígenos novedosos, los presentes inventores realizaron análisis en todo el genoma, a gran escala de los perfiles de expresión génica encontrados en poblaciones purificadas de células de cáncer de esófago, incluyendo 19 muestras de ESCC purificadas mediante microdissección con microhaz láser (LMM), usando un microalineamiento de ADNc que consistía en 32.256 genes transcritos.

Para aislar posibles dianas moleculares para el diagnóstico, el tratamiento y/o la prevención de carcinomas de esófago y de pulmón, los presentes inventores realizaron un análisis en todo el genoma de los perfiles de expresión génica de células cancerosas de 101 pacientes con cáncer de pulmón y 19 con ESCC, todas las cuales se habían purificado mediante microdissección con microhaz láser (LMM) usando un microalineamiento de ADNc (Kikuchi *et al.*, Oncogene. 10 de abril de 2003; 22(14):2192-205, Int J Oncol. Abril de 2006; 28(4):799-805; Kakiuchi *et al.*, Mol Cancer Res. Mayo de 2003; 1(7):485-99, Hum Mol Genet. 15 de diciembre de 2004; 13(24):3029-43. Epub 20 de octubre de 2004 ; Yamabuki T, *et al.*, Int J Oncol. Junio de 2006; 28(6):1375-84). Para verificar la relevancia biológica y clinicopatológica de los respectivos productos génicos, los presentes inventores han establecido un sistema de selección mediante una combinación del análisis de microalineamientos de tejido tumoral de materiales clínicos de cáncer de pulmón con la técnica de interferencia por ARN (iARN) (Suzuki *et al.*, Cancer Res. 1 de noviembre de 2003; 63(21):7038-41, Cancer Res. 15 de diciembre de 2005; 65(24):11314-25; Ishikawa *et al.*, Clin Cancer Res. 15 de diciembre de 2004; 10(24):8363-70, Cancer Res. 2005 Oct 15;65(20):9176-84; Kato *et al.*, Cancer Res. 1 de julio de 2005; 65(13):5638-46; Furukawa *et al.*, Cancer Res. 15 de agosto de 2005;65(16):7102-10). En el procedimiento, los presentes inventores identificaron Dkkopf-1 (DKK1) como un biomarcador histoquímico y serológico novedoso y como una diana terapéutica para cáncer de esófago y de pulmón.

Se notifica que DKK1 es una proteína secretada que desempeña un papel crucial en la formación de la cabeza en el desarrollo de vertebrados, y se conoce como un regulador negativo de la señalización de Wnt (Niida *et al.*, Oncogene. 4 de noviembre de 2004; 23(52):8520-6). Dkk1 se une a proteínas Kremen y LRP5/6, induciendo así la endocitosis de LRP que impide la formación de complejos de Wnt-Frizzled-receptor LRP5/6 (Gonzalez *et al.*, Oncogene. 3 de febrero de 2005; 24(6):1098-103). A pesar de estos estudios biológicos, no ha habido ningún estudio que describa la relevancia de la activación de DKK1 en cáncer humano y su potencial como diana terapéutica y de diagnóstico.

Los presentes inventores notifican en el presente documento la identificación de DKK1 como un biomarcador de pronóstico y diagnóstico novedoso y una posible diana para agentes terapéuticos/anticuerpos, y también proporcionan pruebas de su posible papel en la carcinogénesis de esófago y pulmonar humana.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a los siguientes puntos:

Punto 1. Un método para seleccionar un compuesto para tratar o prevenir cáncer de esófago, comprendiendo dicho método las etapas de:

- (a) poner en contacto un compuesto de prueba con un polipéptido codificado por el gen ECT 2;
- (b) detectar la actividad de unión entre el polipéptido y el compuesto de prueba; y
- (c) seleccionar el compuesto de prueba que se une al polipéptido.

Punto 2. Un método de selección de un compuesto para tratar o prevenir cáncer de esófago, comprendiendo dicho método las etapas de:

- (a) poner en contacto un compuesto candidato con una célula que expresa el gen ECT 2; y
- (b) seleccionar el compuesto candidato que reduce el nivel de expresión del gen ECT 2, en comparación con un nivel de expresión detectado en ausencia del compuesto candidato.

Punto 3. El método del punto 2, en el que dicha célula comprende una célula de cáncer de esófago.

Punto 4. Un método de selección de un compuesto para tratar o prevenir cáncer de esófago, comprendiendo dicho método las etapas de:

- (a) poner en contacto un compuesto de prueba con un polipéptido codificado por el gen ECT 2;

- (b) detectar la actividad biológica del polipéptido de la etapa (a); y
 - (c) seleccionar el compuesto de prueba que suprime la actividad biológica del polipéptido codificado por el gen ECT 2 en comparación con la actividad biológica de dicho polipéptido detectado en ausencia del compuesto de prueba.
- 5 Punto 5. Un método de selección de un compuesto para tratar o prevenir cáncer de esófago, comprendiendo dicho método las etapas de:
- (a) poner en contacto un compuesto candidato con una célula en la que se ha introducido un vector, que comprende la región reguladora de la transcripción del gen marcador ECT 2 y un gen indicador que se expresa bajo el control de la región reguladora de la transcripción;
- 10 (b) medir el nivel de expresión o la actividad de dicho gen indicador; y
- (c) seleccionar el compuesto candidato que reduce el nivel de expresión o la actividad de dicho gen indicador, en comparación con un nivel de expresión o actividad detectado en ausencia del compuesto candidato.
- 15 Punto 6. Una molécula bicatenaria que comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en la que la hebra antisentido consiste en una secuencia de nucleótidos que es complementaria a dicha hebra sentido, en la que dicha hebra sentido y dicha hebra antisentido se hibridan entre sí para formar dicha molécula bicatenaria, e inhibiendo dicha molécula bicatenaria la expresión del gen ECT 2, en la que la secuencia diana de la hebra sentido consiste en la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8 ó 9.
- 20 Punto 7. Uso de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un anticuerpo, o fragmento inmunológicamente activo del mismo, que se une a una proteína codificada por el gen ECT 2 para la preparación de una composición farmacéutica para tratar o prevenir cáncer de esófago.
- Punto 8. Una composición para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer de esófago, comprendiendo dicha composición una vacuna que comprende
- (a) un polipéptido codificado por el gen ECT 2;
- 25 (b) un fragmento inmunológicamente activo de dicho polipéptido; o
- (c) un polinucleótido que codifica para el polipéptido.
- Punto 9. Uso de una vacuna que comprende
- (a) un polipéptido codificado por el gen ECT 2;
- 30 (b) un fragmento inmunológicamente activo de dicho polipéptido; o
- (c) un polinucleótido que codifica para el polipéptido;
- para la preparación de una composición farmacéutica para tratar o prevenir cáncer de esófago.
- Punto 10. Una composición para su uso en la inducción de una inmunidad antitumoral contra cáncer de esófago, comprendiendo dicha composición un polipéptido, un polinucleótido que codifica para el polipéptido o un vector que comprende el polinucleótido, en la que el polipéptido está codificado por el gen ECT 2, o un fragmento del mismo.
- 35 Punto 11. Uso de un polipéptido, un polinucleótido que codifica para el polipéptido o un vector que comprende el polinucleótido, en el que el polipéptido está codificado por el gen ECT 2, o un fragmento del mismo para la preparación de una composición farmacéutica para inducir una inmunidad antitumoral contra cáncer de esófago.
- 40 Punto 12. Una composición para su uso en la inducción de una inmunidad antitumoral contra cáncer de esófago, comprendiendo dicha composición una célula presentadora de antígeno que presenta un polipéptido codificado por el gen ECT 2, o un fragmento del mismo.
- Punto 13. Uso de una célula presentadora de antígeno que presenta un polipéptido codificado por el gen ECT 2, o un fragmento del mismo para la preparación de una composición farmacéutica para inducir una
- 45 inmunidad antitumoral contra cáncer de esófago.
- Punto 14. Una composición para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer de esófago, comprendiendo dicha composición una cantidad farmacéuticamente eficaz de un polinucleótido antisentido o ARNip contra el gen ECT 2.

Punto 15. La composición del punto 14 para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer de esófago, en la que dicho ARNip comprende una hebra sentido que comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8 ó 9 como secuencia diana.

5 Punto 16. Uso de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un polinucleótido antisentido o ARNip contra el gen ECT 2 para la preparación de una composición farmacéutica para tratar o prevenir cáncer de esófago.

Punto 17. Uso del punto 16, en el que dicho ARNip comprende una hebra sentido que comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8 ó 9 como secuencia diana.

10 Punto 18. Composición para su uso en el tratamiento o prevención de cáncer de esófago, comprendiendo dicha composición una cantidad farmacéuticamente eficaz de un anticuerpo o fragmento del mismo que se une a una proteína codificada por el gen ECT 2.

15 En el contexto de la presente invención, se da a conocer el descubrimiento de patrones únicos de expresión génica que se correlacionan con cáncer de esófago así como el descubrimiento de dianas para el desarrollo de estrategias de supresión de señales en cáncer de esófago humano. Los genes que se expresan diferencialmente en cáncer de esófago (EC), por ejemplo, carcinoma de células escamosas de esófago (ESCC), se denominan colectivamente en el presente documento como “ácidos nucleicos de EC” o “polinucleótidos EC” y los polipéptidos codificados correspondientes se denominan en el presente documento “polipéptidos de EC” o “proteínas de EC”.

20 Por tanto, se da a conocer en el contexto de la presente invención un método para detectar, diagnosticar, proporcionar un pronóstico o determinar una predisposición a cáncer de esófago en un sujeto determinando un nivel de expresión de un gen asociado a EC en una muestra biológica de un paciente, por ejemplo, un tejido sólido o muestra de fluido corporal. La expresión “gen asociado a EC” se refiere a un gen que se caracteriza por un nivel de expresión que difiere en una célula de EC en comparación con una célula normal. Una célula normal es una obtenida de tejido de esófago a partir de un individuo que se sabe que no tiene EC. En el contexto de la presente invención, un gen asociado a EC es un gen enumerado en las tablas 1-2 y 4-7 (es decir, genes de EC n.^{os} 1-1716), o un gen que tiene al menos el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98% o el 99% de identidad de secuencia con un gen enumerado en las tablas 1-2 y 4-7 y la misma función (por ejemplo, homólogos, variantes genéticas y polimorfismos). Pueden usarse algoritmos conocidos en la técnica para determinar la identidad de secuencia de dos o más secuencias de ácido nucleico (por ejemplo, BLAST, véase a continuación). Una alteración, por ejemplo, un aumento o una disminución en el nivel de expresión de un gen en comparación con un nivel de control normal del gen, indica que el sujeto padece o corre el riesgo de desarrollar EC.

30 En el contexto de la presente invención, la frase “nivel de control” se refiere a un nivel de expresión de proteína o ARNm detectado en una muestra control e incluye tanto un nivel de control normal como un nivel de control de cáncer de esófago. Un nivel de control puede ser un único patrón de expresión a partir de una única población de referencia o a partir de una pluralidad de patrones de expresión. Por ejemplo, el nivel de control puede ser una base de datos de patrones de expresión a partir de células sometidas a prueba previamente. Un “nivel de control normal” se refiere a un nivel de expresión génica detectado en un individuo sano, normal o en una población de individuos que se sabe que no padecen cáncer de esófago. Un individuo normal es uno sin síntomas clínicos de cáncer de esófago. Por otro lado, un “nivel de control de EC” se refiere a un perfil de expresión de genes asociados a EC encontrados en una población que padece cáncer de esófago.

40 Un aumento en el nivel de expresión de uno o más genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7 (es decir, genes de EC n.^{os} 728-1543, 1603-1679 y 1689-1716) detectado en una muestra de prueba en comparación con el nivel de expresión de una muestra control normal indica que el sujeto (del que se obtuvo la muestra de prueba) padece o corre el riesgo de desarrollar EC. En cambio, una disminución en el nivel de expresión de uno o más genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 4, y 6 (es decir, genes de EC n.^{os} 1-727, 1544-1602 y 1680-1688) detectada en una muestra de prueba en comparación con el nivel de expresión de una muestra control normal indica que el sujeto (del que se obtuvo la muestra de prueba) padece o corre el riesgo de desarrollar EC.

Alternativamente, los niveles de expresión de un panel de genes asociados a EC en una muestra de prueba pueden compararse con los niveles de expresión de un panel de control de EC de los mismos genes. Una similitud en los niveles de expresión entre los genes en el panel de muestras de prueba y los genes en el panel de control de EC indica que el sujeto (del que se obtuvo la muestra de prueba) padece o corre el riesgo de desarrollar EC.

50 Según la presente invención, el nivel de expresión génica se considera “alterado” o que “difiere” cuando la expresión génica aumenta o disminuye en un 10%, un 25% o un 50% en comparación con el nivel de control. Alternativamente, un nivel de expresión se considera “aumentado” o “disminuido” cuando la expresión génica aumenta o disminuye en al menos 0,1, al menos 0,2, al menos 1, al menos 2, al menos 5 o al menos 10 o más veces en comparación con un nivel de control. La expresión se determina detectando la hibridación, por ejemplo, en un microalineamiento, de una sonda génica asociada a EC con un transcrito génico en una muestra de tejido de un paciente.

55 En el contexto de la presente invención, la muestra de tejido de un paciente es cualquier tejido obtenido de un sujeto de muestra, por ejemplo, un paciente que se sabe o que se sospecha que tiene EC. Por ejemplo, el tejido puede contener células epiteliales. Más particularmente, el tejido puede ser células epiteliales de carcinoma de células

escamosas de esófago.

También se da a conocer en el presente documento un perfil de expresión de referencia de EC, que comprende un nivel de expresión génica de dos o más de genes asociados a EC enumerados en las tablas 1-2 y 4-7.

5 Además se dan a conocer en el presente documento métodos de identificación de un agente que inhibe o potencia la expresión o actividad de un gen asociado a EC, por ejemplo, un gen asociado a EC enumerados en las tablas 1-2 y 4-7, poniendo en contacto una célula de prueba que expresa un gen asociado a EC con un compuesto de prueba y determinando el nivel de expresión del gen asociado a EC o la actividad de su producto génico. La célula de prueba puede ser una célula epitelial, por ejemplo, una célula epitelial obtenida de un carcinoma de células escamosas de esófago. Una disminución en el nivel de expresión de un gen asociado a EC regulado por incremento o la actividad de su producto génico en comparación con un nivel de expresión de control normal o actividad del gen o producto génico indica que el agente de prueba es un inhibidor del gen asociado a EC y puede usarse para reducir un síntoma de EC, por ejemplo, la expresión de uno o más genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7. Alternativamente, un aumento en el nivel de expresión de un gen asociado a EC regulado por disminución o la actividad de su producto génico en comparación con un nivel de expresión de control normal o actividad del gen o producto génico indica que el agente de prueba es un potenciador de la expresión o función del gen asociado a EC y puede usarse para reducir un síntoma de EC, por ejemplo, la subexpresión de uno o más genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 4 y 6.

20 También se da a conocer en el presente documento un kit que comprende un reactivo de detección que se une a uno o más ácidos nucleicos de EC o polipéptidos de EC. También se da a conocer un microalineamiento (array) de ácidos nucleicos que se unen a uno o más ácidos nucleicos de EC.

25 Los métodos terapéuticos tal como se les hace referencia en el presente documento incluyen métodos de tratamiento o prevención de EC en un sujeto incluyendo la etapa de administrar al sujeto una composición que comprende uno o más oligonucleótidos antisentido. En el contexto de la presente invención, la composición antisentido reduce la expresión de uno o más genes diana específicos. Por ejemplo, la composición antisentido puede contener uno o más nucleótidos que son complementarios a una o más secuencias génicas asociadas con EC reguladas por incremento seleccionadas del grupo que consiste en los genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7. Alternativamente, los métodos a los que se hace referencia en el presente documento pueden incluir las etapas de administrar a un sujeto una composición que comprende uno o más oligonucleótidos de ARN de interferencia pequeño (ARNip). En el contexto de la presente invención, la composición de ARNip reduce la expresión de uno o más ácidos nucleicos de EC seleccionados del grupo que consiste en los genes asociados a EC regulados por incremento enumerados en las tablas 2, 5 y 7. Aún en otro método al que se hace referencia en el presente documento, el tratamiento o la prevención de EC en un sujeto puede llevarse a cabo administrando a un sujeto una composición que comprende uno o más oligonucleótidos de ribozima. En el contexto de la presente invención, la composición de ribozima específica de ácido nucleico reduce la expresión de uno o más ácidos nucleicos de EC seleccionados del grupo que consiste en los genes asociados a EC regulados por incremento enumerados en las tablas 2, 5 y 7. El efecto de inhibición del ARNip para genes asociados a EC enumerados en las tablas se confirma en el presente documento. Específicamente, se demuestra en el presente documento que un ARNip frente a un oncogén de secuencia transformante 2 de células epiteliales de *Homo sapiens* (ECT2) (SEQ ID NO; 30, 31) y un tipo de homólogo de *S. Cerevisiae* del ciclo de división celular 45 (CDC45L) (SEQ ID NO; 32, 33) inhiben la proliferación y viabilidad de células de cáncer de esófago. Por tanto, en algunos de los aspectos dados a conocer en el presente documento, los genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7, incluyendo ECT2 y CDC45L, son dianas terapéuticas de cáncer de esófago.

45 Otros métodos terapéuticos a los que se hace referencia en el presente documento incluyen aquellos en los que se le administra a un sujeto un compuesto que aumenta la expresión de uno o más de los genes asociados a EC regulados por disminución enumerados en las tablas 1, 4 y 6 o la actividad de un polipéptido codificado por uno o más de los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 4 y 6.

50 También se describen en el presente documento vacunas y métodos de vacunación. Por ejemplo, los métodos de tratamiento o prevención de EC en un sujeto tal como se les hace referencia en el presente documento pueden implicar administrar al sujeto una composición de vacuna que comprende uno o más polipéptidos codificados por uno o más ácidos nucleicos seleccionados del grupo que consiste en genes asociados a EC regulados por incremento enumerados en las tablas 2, 5 y 7 o fragmentos inmunológicamente activos de tales polipéptidos. En el contexto de la presente invención, un fragmento inmunológicamente activo es un polipéptido que es más corto en longitud que la proteína que se produce de manera natural de longitud completa que ya induce una respuesta inmunitaria análoga a la inducida por la proteína de longitud completa. Por ejemplo, un fragmento inmunológicamente activo tiene al menos 8 residuos de longitud y puede estimular una célula inmunitaria incluyendo una célula T o una célula B. La estimulación de células inmunitarias puede medirse detectando la proliferación celular, la elaboración de citocinas (por ejemplo, IL-2) o la producción de un anticuerpo. Véase, por ejemplo, Harlow y Lane, *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, 1998, Cold Spring Harbor Laboratory Press; y Coligan, *et al.*, *Current Protocols in Immunology*, 1991-2006, John Wiley & Sons.

60 Se dan a conocer adicionalmente en el presente documento dianas moleculares novedosas y patrones de expresión

únicos para EC. Los genes identificados sirven como candidatos en el desarrollo de fármacos terapéuticos novedosos o inmunoterapia. Por ejemplo, *ECT2* y *CDC45L* se caracterizan en el presente documento como dos candidatos representativos identificados mediante el sistema de selección prometedor de la presente invención. Adicionalmente, se dan a conocer en el presente documento moléculas diana para tratar o prevenir cáncer de

5 esófago maligno, más particularmente para tratar o prevenir metástasis o recidiva tras cirugía de cáncer de esófago. Los genes enumerados en las tablas 4-5 (es decir, los genes de EC n.^{os} 1544-1679) se identificaron como genes que tenían patrones de expresión alterada únicos en células de cáncer de esófago con metástasis de ganglios linfáticos y los genes enumerados en las tablas 6-7 (es decir, genes de EC n.^{os} 1680-1716) se identificaron como genes que

10 tenían patrones de expresión alterada únicos en cánceres de esófago asociados con recidiva tras cirugía. Por tanto, la metástasis y/o recidiva de cáncer de esófago puede tratarse o prevenirse por medio de la supresión de la expresión o actividad de los genes regulados por incremento de las tablas 5 y 7 o sus productos génicos. Alternativamente, la metástasis y/o recidiva de cáncer de esófago puede tratarse o prevenirse potenciando la expresión o actividad en células cancerosas de los genes regulados por disminución de las tablas 4 y 6 o sus productos génicos.

15 En el presente documento, también se hace referencia a métodos para predecir la metástasis de cáncer de esófago. Específicamente, un método de este tipo comprende la etapa de medir el nivel de expresión de uno o más genes marcadores seleccionados del grupo que consiste en los genes enumerados en las tablas 4 y 5. Estos genes marcadores se identifican en el presente documento como genes que tienen patrones de expresión alterada únicos en las células de cáncer de esófago aisladas de pacientes con metástasis de ganglios linfáticos. Por tanto, la metástasis del cáncer de esófago en un sujeto puede predecirse determinando si el nivel de expresión detectado en una muestra del sujeto es más cercano al nivel de expresión medio de casos positivos o casos negativos de metástasis de ganglios linfáticos en muestras de referencia.

25 En el contexto de esta memoria descriptiva, también se hace referencia a métodos para predecir la recidiva tras cirugía del cáncer de esófago. Específicamente, un método de este tipo comprende la etapa de medir el nivel de expresión de uno o más genes marcadores seleccionados del grupo que consiste en los genes enumerados en las tablas 6 y 7. Estos genes marcadores se identifican en el presente documento como genes que tienen patrones de expresión alterada únicos en las células de cáncer de esófago aisladas de pacientes con recidiva tras cirugía. Por tanto, la recidiva del cáncer de esófago en un sujeto puede predecirse determinando si el nivel de expresión detectado en una muestra del sujeto es más cercano al nivel de expresión medio de casos positivos o casos negativos de recidiva en muestras de referencia.

30 Una ventaja de los métodos descritos en el presente documento es que el cáncer de esófago se identifica antes de la detección de síntomas clínicos manifiestos. Estos y otros objetos y características descritas en el presente documento resultarán más completamente evidentes cuando se lee la siguiente descripción detallada conjuntamente con las figuras y los ejemplos adjuntos. Sin embargo, debe entenderse que tanto el sumario precedente como la siguiente descripción detallada no son restrictivos de la invención u otras realizaciones alternativas de la invención.

Breve descripción de los dibujos

35 La figura 1 ilustra la microdissección con microhaz láser (LMM) de un ESCC representativo. La fila superior (A) muestra las muestras antes de la disección; la fila inferior (B), las mismas secciones tras la microdissección (tinción con H.E. X100). También se mostraron las células cancerosas microdissecadas capturadas sobre el tapón de recogida (C).

40 Figura 2. Expresiones de 38 genes candidatos en tumores, líneas celulares y tejidos normales. La figura 2A representa los resultados de RT-PCR semicuantitativa de 38 genes candidatos. ACTB es un control interno. La figura 2B representa la expresión de *DKK1* en un tejido de pulmón normal y 15 muestras clínicas de cáncer de pulmón. La figura 2C representa 25 líneas celulares de cáncer de pulmón, detectadas mediante análisis de RT-PCR semicuantitativa. La figura 2D representa la expresión de la proteína *DKK1* en 5 pares representativos de muestras de NSCLC, detectadas mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western.

45 La figura 3 representa los resultados de un análisis de transferencia de tipo Northern. La figura 3A representa la expresión de *ECT2* en órganos normales usando transferencia de tipo Northern de múltiples tejidos (MTN). Un transcrito de aproximadamente 4,3 kb se expresaba sólo en testículos. La figura 3B representa la expresión de *CDC45L* en órganos normales usando transferencia de tipo Northern de múltiples tejidos (MTN). Un transcrito de aproximadamente 2,2 kb se expresaba sólo en testículos. La figura 3C representa el análisis de transferencia de tipo Northern del transcrito de *DKK1* en tejidos humanos adultos normales. Se observó una señal fuerte en la placenta y una señal muy débil en la próstata. La figura 3D representa la ubicación subcelular de la proteína *DKK1* endógena en células TE8. *DKK1* se teñía en el citoplasma de la célula.

55 La figura 4 representa los resultados de un experimento de ARN de interferencia pequeño (ARNip) contra *ECT2*. En la parte (A), el efecto de desactivación de si-*ECT2-1* y si-*ECT2-2* se confirmó mediante RT-PCR. El ensayo de MTT (C) y el ensayo de formación de colonias (B) revelaron la inhibición del crecimiento celular en células transfectadas con si-*ECT2-1* y si-*ECT2-2*.

La figura 5 representa los resultados de un experimento de ARN de interferencia pequeño (ARNip) contra CDC45L. En la parte (A), el efecto de desactivación de si-CDC45L-1 y si-CDC45L-2 se confirmó mediante RT-PCR. El ensayo de MTT (C) y el ensayo de formación de colonias (B) revelaron la inhibición del crecimiento celular en células transfectadas con si-CDC45L-1 y si-CDC45L-2.

5 La figura 6 representa los resultados de un análisis de agrupamiento jerárquico bidimensional supervisado usando 136 genes asociados con metástasis de ganglios linfáticos que se seleccionaron mediante prueba de permutación al azar.

La figura 7 representa los resultados de un análisis de agrupamiento jerárquico bidimensional supervisado usando 37 genes asociados con recidiva tras cirugía que se seleccionaron mediante prueba de permutación al azar.

10 Figura 8. Asociación de la sobreexpresión de DKK1 con un mal pronóstico de pacientes con NSCLC y ESCC. La figura 8A, C representa ejemplos tal como se muestran de expresión de DKK1 fuerte, débil y ausente en cáncer y de no expresión en tejido normal (aumentos originales x100); (A) cáncer de esófago, (C) cáncer de pulmón. La figura 8B, D representa el análisis de Kaplan-Meier de la supervivencia de pacientes con ESCC (B) y NSCLC (D) según las expresiones de DKK1.

15 Figura 9. Concentración serológica de DKK1 determinada mediante ELISA en pacientes con ESCC, cánceres de pulmón y en controles sanos. La figura 9A representa la distribución de DKK1 en sueros de pacientes con ESCC, ADC de pulmón, SCC de pulmón o SCLC. Las diferencias eran significativas entre pacientes con ESCC e individuos sanos ($P < 0,001$, prueba de la U de Mann-Whitney), pacientes con ADC e individuos sanos ($P < 0,001$, prueba de la U de Mann-Whitney), entre pacientes con SCC e individuos sanos ($P < 0,001$) y entre pacientes con SCLC e individuos sanos ($P < 0,001$). Figura 9B, análisis de la curva de rendimiento diagnóstico (ROC) de DKK1 (negro) como marcadores séricos para cáncer de esófago y de pulmón (eje X, especificidad 1; eje Y, sensibilidad).

20 Figura 10. La figura 10A representa la modificación postraducciona de DKK1 secretada en células cancerosas. El mutante de sustitución de alanina de DKK1 aparecía como bandas inmunorreactivas con peso molecular similar a la forma desglucosilada de DKK1 de tipo natural. El tratamiento con N-glicosidasa F no provocó ningún desplazamiento de una banda de la DKK1 mutante en el medio condicionado así como en el sedimento celular, lo que sugiere que DKK1 está N-glicosilada sólo en la asparagina 256. Promoción de la invasividad de células de mamífero transfectadas con plásmidos que expresan DKK1. La figura 10B representa un ensayo que demuestra la naturaleza invasiva de células NIH3T3 y COS-7 en matriz Matrigel tras la transfección con plásmidos de expresión para DKK1 humana. Paneles superiores, expresión transitoria de DKK1 en células NIH3T3 y COS-7 detectada mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western. Paneles medios y paneles inferiores, tinción con Giemsa (x200) y el número de células que migran a través de los filtros recubiertos con Matrigel. Los ensayos se realizaron tres veces, y en pocillos por triplicado.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

I. Visión general

35 Las palabras “un”, “una” y “el/la” tal como se usan en el presente documento significan “al menos uno” a menos que se indique específicamente lo contrario.

40 Generalmente, las células de cáncer de esófago existen como una masa sólida que tiene una reacción altamente inflamatoria y que contiene diversos componentes celulares, incluyendo células no cancerosas tales como células mesenquimales y células inflamatorias. Por tanto, datos de expresión génica publicados anteriormente reflejan perfiles heterogéneos y no reflejan necesariamente cambios de expresión precisos durante la carcinogénesis de esófago.

45 Por consiguiente, para evitar la contaminación de estas células normales, se utiliza un sistema de microdissección por microhaz láser (LMM) para purificar las poblaciones de células cancerosas y células epiteliales normales a partir de muestras quirúrgicas (Gjerdrum *et al.*, J Mol Diagn. 2001; 3(3):105-10; Kitahara *et al.*, Cancer Res. 2001; 61(9):3544-9; Kakiuchi *et al.*, Hum Mol Genet. 2004; 13(24):3029-43). Se cree que es el primer estudio de los perfiles de expresión génica de ESCC humano en microalineamiento de ADNc combinado con un sistema de LMM.

50 Específicamente, en el presente documento, se establece una base de datos en todo el genoma detallada para conjuntos de genes que se expresan diferencialmente en ESCC. Los datos en los 32.256 genes se vincularon con su expresión en ESCC y se determinó su distribución mediante el microalineamiento de ADNc en 34 tejidos humanos normales (4 órganos fetales y 30 adultos). Los datos en el presente documento no sólo proporcionan importante información sobre la carcinogénesis de esófago, sino que también facilitan la identificación de genes candidatos cuyos productos sirven como marcadores de diagnóstico y/o como dianas moleculares para el tratamiento de pacientes con cáncer de esófago y que proporcionan información clínicamente relevante.

55 Hasta la fecha, se han identificado 816 genes candidatos como marcadores tumorales o dianas terapéuticas (véase la tabla 2) específicamente regulados por incremento en cáncer. Los genes regulados por incremento representan una variedad de funciones, incluyendo genes que codifican para antígenos oncofetales o de cáncer de testículos así

- como unos importantes para el crecimiento, la proliferación, la supervivencia, la movilidad/invasión y la transformación celulares. Estas dianas encuentran utilidad como marcadores de diagnóstico/pronóstico así como dianas terapéuticas para el desarrollo de nuevos agentes moleculares dirigidos o la inmunoterapia en el tratamiento de cáncer de esófago. Los genes regulados por incremento también representan proteínas transmembrana/secretoras específicas de tumor que tienen ventajas significativas porque están presentes en la superficie celular o dentro del espacio extracelular, y/o en suero, lo que las hace fácilmente accesibles como marcadores moleculares y dianas terapéuticas. Algunos marcadores específicos tumorales ya disponibles, tales como CYFRA o ProGRP, son proteínas transmembrana/secretoras (Pujol JL, *et al.*, Cancer Res. 1993; 53(1):61-6; Miyake Y, *et al.*, Cancer Res. 15 de abril de 1994; 54(8):2136-40); el ejemplo de rituximab (Rituxan), un anticuerpo monoclonal humanizado contra linfomas positivos para CD20, proporciona la prueba de que la selección como diana de proteínas de superficie celular específicas puede dar como resultado beneficios clínicos significativos (Hennessy BT, *et al.*, Lancet Oncol. 2004; 5(6):341-53). Entre los genes regulados por incremento, se seleccionaron 38 genes para su validación mediante experimentos de RT-PCR semicuantitativa y confirmaron su expresión específica de cáncer (figura 2).
- A continuación, se compararon perfiles de expresión de casos metástasis de ganglios linfáticos (ganglio positivo) con perfiles de expresión de casos de ganglio negativo, porque la metástasis de ganglios linfáticos es una etapa clave en la evolución tumoral y un factor de riesgo de un mal pronóstico. Por consiguiente, se identificaron 136 genes que están asociados con metástasis de ganglios linfáticos. Adicionalmente, se identificaron 37 genes que están asociados con recidiva tras cirugía. Los patrones de recidiva durante el periodo de observación de 32 meses incluían recidiva local, ganglio linfático regional y metástasis distante (pulmón). El tiempo medio (DE) de la recidiva tras la operación era de 21,8±11,1 meses (intervalo, 2-32). Estos genes son moléculas clave en el proceso de evolución del tumor de EC. Por consiguiente, estos datos permiten la identificación y selección de pacientes que pueden tomar terapia adyuvante tras la cirugía.
- A partir del sistema de microalineamiento de ADN de la presente invención, que contiene 32.256 genes, se identificó ECT2 (n.º de registro de GenBank AY376439; SEQ ID NO: 30, 31) como un gen regulado por incremento en cáncer de esófago. Esta molécula, que se ha descubierto que es un antígeno de cáncer de testículos activado en la gran mayoría de ESCC, se cree que desempeña un papel central en la supervivencia/crecimiento celular, tal como se demuestra mediante análisis de transferencia de tipo Northern y experimentos de ARNip tratados a continuación. El gen *ECT2* codifica para una proteína de 882 aminoácidos con un par de dominios BRCT, un dominio RhoGEF y un dominio PH. Se notifica que es un factor de intercambio de nucleótidos, y está implicado en la regulación de la citocinesis (Tatsumoto *et al.*, J Cell Biol. 1999; 147(5):921-8; Saito *et al.*, J Cell Biochem. 2003; 90(4):819-36, Liu *et al.*, Mol Cell Biol. 2004; 24(15):6665-75).
- Además, se aisló CDC45L (n.º de registro de GenBank AJ223728; SEQ ID NO: 32, 33) como un gen regulado por incremento. Se descubrió que esta molécula era un antígeno de cáncer de testículos activados en la mayoría de ESCC. Tal como se demuestra mediante análisis de transferencia de tipo Northern y experimentos de ARNip, se sugirió que CDC45L estaba asociado con la supervivencia y el crecimiento celulares. El gen *CDC45L* codifica para una proteína de 566 aminoácidos. La proteína se identificó mediante su fuerte similitud con Cdc45 de *Saccharomyces cerevisiae*, una proteína esencial para la iniciación de la replicación del DNA (Saha *et al.*, J Biol Chem. 1998; 273(29):18205-9).
- Entre los antígenos tumorales identificados hasta la fecha, los antígenos de cáncer de testículos se han reconocido como un grupo de dianas altamente atractivas para una vacuna contra el cáncer (Li *et al.*, Clin Cancer Res. 2005; 11(5):1809-14). Aunque otros factores, incluyendo la inmunogenicidad *in vivo* de la proteína, son también importantes (Wang *et al.*, Clin Cancer Res. 2004; 10(19):6544-50), ECT2 y CDC45L parecen ser ambas buenas dianas para la inmunoterapia así como para el desarrollo de nuevos fármacos anticancerígenos.
- En resumen, el microalineamiento de ADNc combinado con un sistema de LMM descrito en el presente documento reveló perfiles de expresión génica característicos de ESCC que estaban asociados con carcinogénesis; metástasis de ganglios linfáticos y recidiva tras cirugía. El uso de la base de datos de expresión génica integrada de ESCC humano ofrece una estrategia poderosa para la identificación rápida y evaluación adicional de moléculas diana como ECT2 y CDC45L para una terapia personalizada del cáncer de esófago.
- Los perfiles de expresión génica de carcinomas de esófago y de pulmón y los análisis posteriores revelaron que Dkkopf-1 (DKK1; n.º de registro NM_012242; SEQ ID NO: 109, 110) estaba transactivado en la gran mayoría de los diversos tipos de cánceres de pulmón y carcinomas de células escamosas de esófago (ESCC). El análisis de transferencia de tipo Northern detectó la expresión del gen DKK1 sólo en la placenta y la próstata entre los tejidos normales. La tinción inmunohistoquímica usando microalineamientos de tejido tumoral que consistían en 279 cánceres de células de pulmón no pequeñas archivados y (NSCLC) y 220 muestras de ESCC confirmaron que la proteína DKK1 estaba frecuentemente sobreexpresada en estos tumores; su tinción positiva se observó en 227 de 279 (81,4%) NSCLC y en 135 de 220 (61,4%) ESCC examinados. Además, un alto nivel de expresión de DKK1 estaba asociado con un mal pronóstico de pacientes con NSCLC así como ESCC, y el análisis multivariante confirmó su valor de pronóstico independiente. Los niveles séricos de DKK1 eran significativamente superiores en pacientes con cáncer de esófago y de pulmón que en controles sanos. La proporción de los casos positivos para DKK1 sérico definida por el criterio de los inventores era de 101 de 162 (62,3%) pacientes con NSCLC, 47 de 71

(66,2%) pacientes con SCLC y 45 de 67 (67,2%) pacientes con ESCC, mientras que sólo 11 de 220 (5,0%) voluntarios sanos se diagnosticaron falsamente como positivos. Un ensayo combinado usando tanto DKK1 como CEA aumentó la sensibilidad, ya que el 78,6% de los pacientes con NSCLC se diagnosticaron entonces como positivos mientras que sólo el 8,2% de los voluntarios sanos se diagnosticaron falsamente como positivos. El uso de tanto DKK1 como proGRP aumentó la sensibilidad para detectar SCLC hasta el 84,8%, mientras que la tasa de falsos positivos en donantes sanos era de solo el 6,2%. Además, la expresión exógena de DKK1 aumentó la actividad migratoria e invasiva de células de mamífero, una indicación de que DKK1 puede desempeñar un papel significativo en la evolución de ciertos tipos de cáncer. Los datos implican que DKK1 debe ser útil como marcador de diagnóstico/pronóstico novedoso y probablemente como diana terapéutica para cáncer de esófago y de pulmón.

10 II. Diagnóstico de cáncer de esófago

Los genes expresados diferencialmente identificados en el presente documento encuentran utilidad de diagnóstico y pronóstico como marcadores de EC y como dianas génicas de EC, cuya expresión puede alterarse para tratar o aliviar un síntoma de EC. Los genes cuyo nivel de expresión está modulado (es decir, aumentado o disminuido) en pacientes con EC se resumen en las tablas 1, 2 y 4-7 y se denominan colectivamente en el presente documento "Genes asociados a EC", "ácidos nucleicos de EC" o "polinucleótidos de EC" y los polipéptidos codificados correspondientes se denominan "polipéptidos de EC" o "proteínas de EC". A menos que se indique lo contrario, "EC" se refiere a cualquiera de las secuencias dadas a conocer en el presente documento (por ejemplo, los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7) y secuencias que comparten la misma función y que tienen al menos el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% de identidad de secuencia (es decir, homólogos, variantes y polimorfismos). Se presentan genes que se han descrito anteriormente junto con un número de registro de base de datos.

Midiendo la expresión de los diversos genes en una muestra de células, puede diagnosticarse EC. De manera similar, la medición de la expresión de estos genes en respuesta a diversos agentes puede identificar agentes para tratar EC.

Se describe en el presente documento la determinación (por ejemplo, medición) de la expresión de al menos uno, y hasta todos los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7. Usando la información de secuencia proporcionada por las entradas de la base de datos GenBank™ para secuencias conocidas, pueden detectarse y medirse los genes asociados a EC usando técnicas bien conocidas por un experto habitual en la técnica. Por ejemplo, secuencias dentro de las entradas de la base de datos de secuencias correspondientes a genes asociados a EC pueden usarse para construir sondas para detectar secuencias de ARN que corresponden a genes asociados a EC en, por ejemplo, análisis de hibridación de transferencia de tipo Northern. Las sondas incluyen normalmente al menos 10, al menos 20, al menos 50, al menos 100, o al menos 200 nucleótidos de una secuencia de referencia. Como otro ejemplo, las secuencias pueden usarse para construir cebadores para amplificar específicamente el ácido nucleico de EC en, por ejemplo, métodos de detección basados en amplificación, por ejemplo, reacción en cadena de la polimerasa basada en transcripción inversa.

El nivel de expresión de uno o más de los genes asociados a EC en una población celular de prueba, por ejemplo, una muestra de tejido de un paciente, se compara entonces con el/los nivel(es) de expresión del/de los mismo(s) gen(es) en una población celular de referencia. La población celular de referencia incluye una o más células para las que se conoce el parámetro comparado, es decir, células de carcinoma de células escamosas de esófago (por ejemplo, células de EC) o células epiteliales de esófago normales (por ejemplo, células que no son de EC).

Si un patrón de expresión génica en una población celular de prueba en comparación con una población celular de referencia indica o no EC o una predisposición al mismo depende de la composición de la población celular de referencia. Por ejemplo, si la población celular de referencia está compuesta por células que no son de EC, una similitud en el patrón de expresión génica entre la población celular de prueba y la población celular de referencia indica que la población celular de prueba no es de EC. A la inversa, si la población celular de referencia está constituida por células de EC, una similitud en el perfil de expresión génica entre la población celular de prueba y la población celular de referencia indica que la población celular de prueba incluye células de EC.

Un nivel de expresión de un gen marcador de EC en una población celular de prueba se considera "alterado" o "que difiere" si varía con respecto al nivel de expresión del gen marcador de EC correspondiente en una población celular de referencia en más de 1,1, más de 1,5, más de 2,0, más de 5,0, más de 10,0 o más veces.

La expresión génica diferencial entre una población celular de prueba y una población celular de referencia puede normalizarse con respecto a un ácido nucleico de control, por ejemplo, un gen de mantenimiento. Por ejemplo, un ácido nucleico de control es uno que se sabe que no difiere dependiendo del estado canceroso o no canceroso de la célula. El nivel de expresión de un ácido nucleico de control puede usarse para normalizar los niveles de señales en las poblaciones celulares de prueba y de referencia. Los genes de control a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, β -actina, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y proteína ribosómica P1.

La población celular de prueba puede compararse con múltiples poblaciones celulares de referencia. Cada una de las múltiples poblaciones celulares de referencia puede diferir en el parámetro conocido. Por tanto, una población

celular de prueba puede compararse con una primera población celular de referencia que se sabe que contiene, por ejemplo, células de EC, así como una segunda población celular de referencia que se sabe que contiene, por ejemplo, células que no son de EC (células normales). La población celular de prueba puede estar incluida en una muestra celular o tisular de un sujeto que se sabe que contiene, o se sospecha que contiene, células de EC.

5 La población celular de prueba puede obtenerse a partir de un tejido corporal o un fluido corporal, por ejemplo, líquido biológico (por ejemplo, sangre, esputos, saliva). Por ejemplo, la población celular de prueba puede purificarse a partir de tejido de esófago. Preferiblemente, la población celular de prueba comprende una célula epitelial. La célula epitelial es preferiblemente de un tejido que se sabe o se sospecha que es un carcinoma de células escamosas de esófago. Las células en la población celular de referencia son de un tipo de tejido similar al de la población celular de prueba. Opcionalmente, la población celular de referencia es una línea celular, por ejemplo una línea celular de EC (es decir, un control positivo) o una línea celular que no es de EC normal (es decir, un control negativo). Alternativamente, la población celular de control puede proceder de una base de datos de información molecular de células para las que se conoce la condición o el parámetro sometido a ensayo.

10 El sujeto es preferiblemente un mamífero. Los mamíferos a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, un ser humano, primate no humano, ratón, rata, perro, gato, caballo o vaca.

15 La expresión de los genes dados a conocer en el presente documento puede determinarse al nivel de proteína o ácido nucleico, usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, pueden usarse análisis de hibridación de tipo Northern, usando sondas que reconocen específicamente uno o más de estas secuencias de ácido nucleico para determinar la expresión génica. Alternativamente, la expresión génica puede medirse usando ensayos de PCR basada en transcripción inversa, por ejemplo, usando cebadores específicos para las secuencias génicas expresadas diferencialmente. La expresión también puede determinarse al nivel de proteína, es decir, midiendo el nivel de polipéptidos codificados por un gen descrito en el presente documento, o la actividad biológica del mismo. Tales métodos se conocen bien en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, inmunoensayos que utilizan anticuerpos frente a proteínas codificadas por los genes. Las actividades biológicas de las proteínas codificadas por los genes generalmente se conocen bien. Véase, Sambrook y Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª edición, 2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, *Current Protocols in Molecular Biology*, 1987-2006, John Wiley and Sons; y Harlow y Lane, *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, 1998, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

20 Tal como se da a conocer en el presente documento, EC va a diagnosticarse midiendo el nivel de expresión de uno o más ácidos nucleicos de EC a partir de una población de células de prueba, (es decir, una muestra biológica de un paciente). Preferiblemente, la población celular de prueba contiene una célula epitelial, por ejemplo, una célula obtenida de tejido de esófago. La expresión génica también puede medirse a partir de sangre u otros fluidos corporales, por ejemplo, saliva o esputos. Pueden usarse otras muestras biológicas para medir los niveles de proteína. Por ejemplo, el nivel de proteína en la sangre o el suero de un sujeto que va a diagnosticarse puede medirse mediante inmunoensayo u otro ensayo biológico convencional.

25 La expresión de uno o más genes asociados a EC, por ejemplo, los genes enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7, se determina en la población celular de prueba o muestra biológica y se compara con el nivel de expresión de control normal asociado con el uno o más genes asociados a EC sometidos a ensayo. Un nivel de control normal es un perfil de expresión de un gen asociado a EC normalmente encontrado en una población celular de un sujeto que se sabe que no padece EC. Una alteración o diferencia (por ejemplo, un aumento o una disminución) en el nivel de expresión de uno o más genes asociados a EC en una muestra de tejido de un paciente en comparación con la expresión a partir de una muestra control normal indica que el paciente padece o corre el riesgo de desarrollar EC. Por ejemplo, un aumento en la expresión de uno o más genes asociados a EC regulados por incremento enumerados en las tablas 2, 5 y 7 en la población celular de prueba en comparación con la expresión en una población celular de control normal indica que el sujeto padece o corre el riesgo de desarrollar EC. A la inversa, una disminución en la expresión de uno o más genes asociados a EC regulados por disminución enumerados en las tablas 1, 4 y 6 en la población celular de prueba en comparación con la expresión en una población celular de control normal indica que el sujeto padece o corre el riesgo de desarrollar EC.

30 Una alteración en los niveles de expresión de uno o más de los genes asociados a EC en la población celular de prueba en comparación con los niveles de expresión de control normal indica que el sujeto padece o corre el riesgo de desarrollar EC. Por ejemplo, una alteración en los niveles de expresión de al menos el 1%, al menos el 5%, al menos el 25%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90% o más del panel de genes asociados a EC (genes enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7) indica que el sujeto padece o corre el riesgo de desarrollar EC.

55 III. Ensayos de selección

Identificación de agentes que inhiben o potencian la expresión génica asociada a EC:

Un agente que inhibe la expresión de un gen asociado a EC o la actividad de su producto génico puede identificarse poniendo en contacto una población celular de prueba que expresa un gen regulado por incremento asociado a EC

5 con un agente de prueba y determinado entonces el nivel de expresión del gen asociado a EC o la actividad de su producto génico. Una disminución en el nivel de expresión del gen asociado a EC o en el nivel de actividad de su producto génico en presencia del agente en comparación con el nivel de actividad o expresión en ausencia del agente de prueba indica que el agente es un inhibidor de un gen regulado por incremento asociado a EC y es útil en la inhibición de EC.

10 Alternativamente, un agente que potencia la expresión de un gen regulado por disminución asociado a EC o la actividad de su producto génico puede identificarse poniendo en contacto una población celular de prueba que expresa un gen asociado a EC con un agente de prueba y determinando entonces el nivel de expresión o la actividad del gen regulado por disminución asociado a EC. Un aumento en el nivel de expresión del gen asociado a EC o en el nivel de actividad de su producto génico en presencia del agente de prueba en comparación con la expresión o el nivel de actividad en ausencia del agente de prueba indica que el agente de prueba aumenta la expresión del gen regulado por disminución asociado a EC o la actividad de su producto génico.

15 La población celular de prueba puede ser cualquier célula que expresa los genes asociados a EC. Por ejemplo, la población celular de prueba puede contener células epiteliales, por ejemplo, células de tejido de esófago. Además, la población celular de prueba puede ser una línea celular inmortalizada a partir de una célula de carcinoma de células escamosas de esófago. Alternativamente, la población celular de prueba puede estar compuesta por células que se han transfectado con un gen asociado a EC o que se han transfectado con una secuencia reguladora (por ejemplo secuencia promotora) de un gen asociado a EC unida operativamente a un gen indicador.

20 El agente puede ser, por ejemplo, un oligonucleótido inhibidor (por ejemplo, un oligonucleótido antisentido, un ARNip, una ribozima), una anticuerpo, un polipéptido, una molécula orgánica pequeña. La selección de agentes puede llevarse a cabo usando métodos de alto rendimiento, seleccionando simultáneamente una pluralidad de agentes usando placas de múltiples pocillos (por ejemplo, 96 pocillos, 192 pocillos, 384 pocillos, 768 pocillos, 1536 pocillos). Están disponibles comercialmente sistemas automatizados para la selección de alto rendimiento de, por ejemplo, Caliper Life Sciences, Hopkinton, MA. Pueden adquirirse bibliotecas de moléculas orgánicas pequeñas disponibles para la selección de, por ejemplo, Reaction Biology Corp., Malvern, PA; TimTec, Newark, DE.

25 Identificación de agentes terapéuticos:

30 Los genes asociados a EC expresados diferencialmente dados a conocer en el presente documento pueden usarse también para identificar agentes terapéuticos candidatos para tratar EC. Los métodos dados a conocer en el presente documento implican la selección de un agente terapéutico candidato para determinar si el agente de prueba puede convertir un perfil de expresión de uno o más genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7 característico de un estado de EC en un patrón de expresión génica característico de un estado que no es de EC.

35 En el presente método al que se hace referencia en el presente documento, una población celular de prueba va a exponerse a un agente de prueba o una pluralidad de agentes de prueba (secuencialmente o en combinación) y se mide la expresión de uno o más de los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7 en las células. El perfil de expresión del/de los gen(es) asociado(s) a EC sometido(s) a ensayo en la población celular de prueba se compara con el nivel de expresión del/de los mismo(s) gen(es) asociado(s) a EC en una población celular de referencia que no se expone al agente de prueba.

40 Un agente que puede estimular la expresión de un gen subexpresado o suprimir la expresión de un gen sobreexpresado tiene beneficio clínico. Tales agentes pueden someterse a prueba adicionalmente para determinar la capacidad para prevenir el crecimiento de carcinoma de esófago en animales o sujetos de prueba.

45 En el presente documento, se hace referencia además a métodos para seleccionar agentes candidatos que actúan sobre las dianas en el tratamiento de EC. Tal como se trató en detalle anteriormente, controlando los niveles de expresión de genes marcadores o las actividades de sus productos génicos, puede controlarse la aparición y evolución de EC. Por tanto, pueden identificarse agentes candidatos, que actúan sobre las dianas en el tratamiento de EC, a través de métodos de selección que usan tales niveles de expresión y las actividades como índices del estado canceroso o no canceroso. En el contexto de la presente descripción, tal selección puede comprender, por ejemplo, las siguientes etapas:

50 (a) poner en contacto un compuesto de prueba con un polipéptido codificado por un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en los genes enumerados en la tabla 1, 2, 4, 5, 6 ó 7

(b) detectar la actividad de unión entre el polipéptido y el compuesto de prueba; y

(c) seleccionar el compuesto de prueba que se une al polipéptido.

Alternativamente, los métodos de selección tal como se les hace referencia en el presente documento pueden comprender las siguientes etapas:

55 (a) poner en contacto un compuesto candidato con una célula que expresa uno o más genes marcadores, en los que

el uno o más genes marcadores se seleccionan del grupo que consiste en los genes enumerados en la tabla 1, 2, 4, 5, 6 ó 7; y

- 5 (b) seleccionar el compuesto candidato que reduce el nivel de expresión de uno o más genes marcadores seleccionados del grupo que consiste en los genes enumerados en la tabla 2, 5 y 7, o eleva el nivel de expresión de uno o más genes marcadores seleccionados del grupo que consiste en los genes enumerados en la tabla 1, 4 y 6, en comparación con el nivel de expresión detectado en ausencia del compuesto candidato.

Las células que expresan un gen marcador incluyen, por ejemplo, líneas celulares establecidas a partir de EC; tales células pueden usarse para la selección anterior.

- 10 Alternativamente, los métodos de selección tal como se les hace referencia en el presente documento pueden comprender las siguientes etapas:

(a) poner en contacto un compuesto de prueba con un polipéptido codificado por un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en los genes enumerados en tabla 1, 2, 4, 5, 6 ó 7;

(b) detectar la actividad biológica del polipéptido de la etapa (a); y

- 15 (c) seleccionar un compuesto que suprime la actividad biológica del polipéptido codificado por el polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en los genes enumerados en la tabla 2, 5 y 7, o potencia la actividad biológica del polipéptido codificado por el polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en los genes enumerados en la tabla 1, 4 y 6, en comparación con la actividad biológica detectada en ausencia del compuesto de prueba.

- 20 Una proteína para su uso en los métodos de selección dados a conocer en el presente documento puede obtenerse como una proteína recombinante usando la secuencia de nucleótidos del gen marcador. Basándose en la información referente al gen marcador y su proteína codificada, un experto en la técnica puede seleccionar cualquier actividad biológica de la proteína como índice para la selección y cualquier método de medición adecuado para someter a ensayo la actividad biológica seleccionada.

Alternativamente, los métodos de selección dados a conocer en el presente documento pueden comprender las siguientes etapas:

- 25 (a) poner en contacto un compuesto candidato con una célula en la que se ha introducido un vector, que comprende la región reguladora de la transcripción de uno o más genes marcadores y un gen indicador que se expresa bajo el control de la región reguladora de la transcripción, en los que el uno o más genes marcadores se seleccionan del grupo que consiste en los genes enumerados en la tabla 1, 2, 4, 5, 6 ó 7;

(b) medir la expresión o actividad de dicho gen indicador; y

- 30 (c) seleccionar el compuesto candidato que reduce el nivel de expresión o actividad de dicho gen indicador cuando dicho gen marcador es un gen marcador regulado por incremento seleccionado del grupo que consiste en los genes enumerados en la tabla 2, 5 y 7, o que potencia el nivel de expresión o actividad de dicho gen indicador cuando dicho gen marcador es un gen marcador regulado por disminución seleccionado del grupo que consiste en los genes enumerados en la tabla 1, 4 y 6, en comparación con el nivel de expresión o actividad detectado en ausencia del compuesto candidato.
- 35

Se conocen bien en la técnica células huésped y genes indicadores adecuados. Un constructo indicador adecuado para los métodos de selección tal como se les hace referencia en el presente documento puede prepararse usando la región reguladora de la transcripción de un gen marcador. Cuando la región reguladora de la transcripción del gen marcador la conocen los expertos en la técnica, puede prepararse un constructo indicador usando la información de secuencia previa. Cuando la región reguladora de la transcripción del gen marcador sigue sin identificarse, puede aislarse un segmento de nucleótidos que contiene la región reguladora de la transcripción a partir de una biblioteca genómica basada en la información de secuencia de nucleótidos del gen marcador.

40

Selección de un agente terapéutico para tratar EC:

- 45 Diferencias en la constitución genética de los individuos pueden dar como resultado diferencias en sus capacidades relativas para metabolizar diversos fármacos. Un agente que se metaboliza en un sujeto para actuar como agente anti-EC puede manifestarse por sí mismo induciendo un cambio en un patrón de expresión génica en las células del sujeto a partir del característico de un estado canceroso con respecto a un patrón de expresión génica característico de un estado no canceroso. Por consiguiente, los genes asociados a EC expresados diferencialmente dados a conocer en el presente documento permiten que un inhibidor profiláctico o terapéutico supuesto de EC se someta a prueba en una población celular de prueba de un sujeto seleccionado con el fin de determinar si el agente es un inhibidor adecuado de EC en el sujeto.
- 50

Para identificar un inhibidor de EC que es apropiado para un sujeto específico, se expone una población celular de prueba del sujeto a un agente terapéutico, y se determina la expresión de uno o más de los genes asociados a EC enumerados en la tabla 1, 2 y 4-7.

5 En el contexto de los métodos a los que se hace referencia en el presente documento, la población celular de prueba contiene células de EC que expresan uno o más genes asociados a EC. Preferiblemente, la población celular de prueba comprende células epiteliales. Por ejemplo, una población celular de prueba puede incubarse en presencia de un agente candidato y el patrón de expresión génica de la población celular de prueba puede medirse y compararse con uno o más perfiles de expresión de referencia, por ejemplo, un perfil de expresión de referencia de EC o un perfil de expresión de referencia que no es de EC.

10 Una disminución en la expresión de uno o más de los genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7 o un aumento en la expresión de uno o más de los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 4 y 6 en una población celular de prueba en relación con una población celular de referencia que contiene EC indica que el agente tiene uso terapéutico.

En el contexto de la descripción de la presente memoria descriptiva, el agente de prueba puede ser cualquier compuesto o composición. Los agentes de prueba a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, agentes inmunomoduladores (por ejemplo, anticuerpos), oligonucleótidos inhibidores (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido, oligonucleótidos inhibidores cortos y ribozimas) y compuestos orgánicos pequeños.

15 *Identificación de agentes terapéuticos para cáncer de esófago metastásico:*

Se dan a conocer en el presente documento moléculas diana que van a usarse para tratar o prevenir la metástasis de cáncer de esófago. Pueden realizarse ensayos de selección para la metástasis de EC tal como se da a conocer en el presente documento según el método para EC descrito anteriormente, usando genes marcadores asociados con metástasis de EC.

20 Genes marcadores seleccionados del grupo que consiste en genes enumerados en las tablas 4 y 5 son útiles para la selección. Un agente que suprime la expresión de uno o más de los genes regulados por incremento o la actividad de sus productos génicos obtenidos según la descripción de la presente memoria descriptiva son útiles para tratar o prevenir EC con metástasis de ganglios linfáticos. Alternativamente, un agente que potencia la expresión de uno o más genes regulados por disminución o la actividad de sus productos génicos obtenidos según la descripción de la presente memoria descriptiva es también útil para tratar o prevenir EC con metástasis de ganglios linfáticos.

25 El agente que regula el nivel de expresión de los genes enumerados en las tablas 4 y 5 puede identificarse de la misma manera que para identificar agentes que inhiben o potencian la expresión génica asociada a EC. Alternativamente, el agente que regula la actividad de sus productos génicos también puede identificarse de la misma manera que para identificar genes que inhiben o potencian un producto génico asociado a EC.

30 *Identificación de agentes terapéuticos para cáncer de esófago recurrente:*

Se dan a conocer en el presente documento moléculas diana para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer de esófago recurrente. Pueden realizarse ensayos de selección para metástasis de EC a los que se hace referencia en el presente documento según el método para EC descrito anteriormente, usando genes marcadores asociados con metástasis de EC.

35 Genes marcadores seleccionados del grupo que consiste en los genes enumerados en las tablas 6 y 7 son útiles para la selección. Un agente que suprime la expresión de uno o más genes regulados por incremento o la actividad de sus productos génicos obtenidos según la descripción de la presente memoria descriptiva son útiles para tratar o prevenir EC con recidiva tras cirugía. Alternativamente, un agente que potencia la expresión de uno o más genes regulados por disminución o la actividad de sus productos génicos obtenidos según la descripción de la presente memoria descriptiva es también útil para tratar o prevenir EC con recidiva tras cirugía.

40 El agente que regula el nivel de expresión de los genes enumerados en las tablas 6 y 7 puede identificarse de la misma manera que para identificar agentes que inhiben o potencian la expresión génica asociada a EC. Alternativamente, el agente que regula la actividad de sus productos génicos también puede identificarse de la misma manera que para identificar agentes que inhiben o potencian un producto génico asociado a EC.

45 *Kits:*

50 También se da a conocer en el presente documento un reactivo de detección de EC, por ejemplo, un ácido nucleico que se une específicamente a o identifica uno o más ácidos nucleicos de EC, incluyendo secuencias oligonucleotídicas que son complementarias a una parte de un ácido nucleico de EC, o un anticuerpo que se une a una o más proteínas codificadas por un ácido nucleico de EC. Los reactivos de detección pueden envasarse juntos en forma de un kit. Por ejemplo, los reactivos de detección pueden envasarse en recipientes separados, por ejemplo, un ácido nucleico o anticuerpo (o bien unido a una matriz sólida o bien envasado por separado con reactivos para unirlos a la matriz), un reactivo de control (positivo y/o negativo) y/o un marcador detectable. También pueden incluirse en el kit instrucciones (por ejemplo, escritas, cinta magnética, VCR, CD-ROM, etc.) para llevar a cabo el ensayo. El formato de ensayo del kit puede ser una hibridación de tipo Northern o un ELISA de tipo "sándwich", ambos de los cuales se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook y Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3ª edición, 2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press; y Using Antibodies, citado

anteriormente.

Por ejemplo, un reactivo de detección de EC puede inmovilizarse sobre una matriz sólida, por ejemplo una tira porosa, para formar al menos un sitio de detección de EC. La región de detección o medición de la tira porosa puede incluir una pluralidad de sitios, que contienen cada uno un ácido nucleico. Una tira de prueba también puede contener sitios para controles negativos y/o positivos. Alternativamente, pueden estar ubicados sitios de control sobre una tira separada de la tira de prueba. Opcionalmente, los diferentes sitios de detección pueden contener diferentes cantidades de ácidos nucleicos inmovilizados, es decir, una cantidad superior en el primer sitio de detección y cantidades menores en sitios posteriores. Tras la adición de la muestra de prueba, el número de sitios que presentan una señal detectable proporciona una indicación cuantitativa de la cantidad de EC presente en la muestra. Los sitios de detección pueden estar configurados en cualquier forma adecuadamente detectable y están normalmente en forma de una barra o punto que abarca la anchura de una tira de prueba.

Alternativamente, el kit puede contener un microalineamiento de sustrato de ácidos nucleicos que comprende uno o más ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos en el microalineamiento identifican específicamente una o más secuencias de ácido nucleico representadas por los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7. La expresión de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 40 ó 50 o más de los ácidos nucleicos representados por los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7 puede identificarse en virtud del nivel de unión a un chip o tira de prueba de microalineamiento. El sustrato de microalineamiento puede ser sobre, por ejemplo, un sustrato sólido, por ejemplo un "chip" descrito en la patente estadounidense n.º 5.744.305. Están disponibles comercialmente sustratos de microalineamiento de uso en los presentes métodos, por ejemplo, de Affymetrix, Santa Clara, CA.

Microalineamientos y pluralidades

También se da a conocer en el presente documento un sustrato de microalineamiento de ácidos nucleicos que comprende uno o más ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos en el microalineamiento corresponden específicamente a una o más secuencias de ácido nucleico representadas por los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7. El nivel de expresión de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 40 ó 50 o más de los ácidos nucleicos representados por los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7 pueden identificarse detectando la unión de ácido nucleico al microalineamiento.

También se da a conocer en el presente documento una pluralidad aislada (es decir, una mezcla de dos o más ácidos nucleicos) de ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos pueden estar en una fase líquida o una fase sólida, por ejemplo, inmovilizados sobre un soporte sólido, por ejemplo, una membrana de nitrocelulosa. La pluralidad incluye uno o más de los ácidos nucleicos representados por los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7. En diversos aspectos, la pluralidad incluye 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 40 ó 50 o más de los ácidos nucleicos representados por los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7.

Compuestos candidatos:

Un compuesto aislado mediante la selección sirve como candidato para el desarrollo de fármacos que inhiben la expresión del gen marcador o la actividad de la proteína codificada por el gen marcador y pueden aplicarse al tratamiento o la prevención de cáncer de esófago.

Además, compuestos en los que una parte de la estructura del compuesto que inhibe la actividad de proteínas codificadas por genes marcadores se convierte mediante adición, delección y/o sustitución también se incluyen como los compuestos que pueden obtenerse mediante los métodos de selección dados a conocer en el presente documento.

Cuando se administra un compuesto aislado mediante los métodos dados a conocer en el presente documento como un producto farmacéutico para seres humanos y otros mamíferos, incluyendo sin limitación ratones, ratas, hámsteres, cobayas, gatos, perros, ovejas, cerdos, ganado, monos, babuinos y chimpancés, el compuesto aislado puede administrarse directamente o puede formularse en una forma farmacéutica usando métodos de preparación farmacéuticos conocidos. Por ejemplo, según las necesidades del paciente, los fármacos pueden tomarse por vía oral, como comprimidos recubiertos de azúcar, cápsulas, elixires y microcápsulas, o por vía no oral, en forma de inyecciones de suspensiones o disoluciones estériles con agua o cualquier otro líquido farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, los compuestos pueden mezclarse con medios o portadores farmacéuticamente aceptables, específicamente, agua esterilizada, solución salina fisiológica, aceites vegetales, emulsionantes, agentes de suspensión, tensioactivos, estabilizantes, agentes aromatizantes, excipientes, vehículos, conservantes, aglutinantes y similares, en una forma de dosis unitaria requerida para implementación farmacológica generalmente aceptada. La cantidad de principio activo contenida en una preparación de este tipo produce una dosificación adecuada dentro del intervalo indicado adquirible.

Los ejemplos de aditivos que pueden mezclarse en comprimidos y cápsulas incluyen, pero no se limitan a, aglutinantes, incluyendo gelatina, almidón de maíz, goma tragacanto y goma arábiga; excipientes, incluyendo celulosa cristalina; agentes de hinchamiento, incluyendo almidón de maíz, gelatina y ácido algínico; lubricantes, incluyendo estearato de magnesio; edulcorantes, incluyendo sacarosa, lactosa o sacarina; y agentes aromatizantes, incluyendo menta, menta verde, aceite de *Gaultheria adenothis* y cereza. Cuando la forma de dosis unitaria es una

cápsula, un portador líquido, incluyendo un aceite, puede incluirse adicionalmente en los componentes anteriores. Pueden formularse composiciones estériles para inyección siguiendo implementaciones farmacológicas normales usando vehículos, por ejemplo, agua destilada o solución salina, adecuados para inyección.

5 Pueden usarse solución salina fisiológica, glucosa y otros líquidos isotónicos, incluyendo adyuvantes, tales como D-sorbitol, D-manosa, D-manitol y cloruro de sodio, como disoluciones acuosas para inyección. Éstas pueden usarse conjuntamente con solubilizantes adecuados, por ejemplo, alcoholes incluyendo etanol; polialcoholes, incluyendo propilenglicol y polietilenglicol; y tensioactivos no iónicos, incluyendo polisorbato 80 (TM) y HCO-50.

10 Pueden usarse aceite de sésamo y aceite de semilla de soja como líquido oleaginoso, conjuntamente con benzoato de bencilo o alcohol bencílico como solubilizante, y pueden formularse con un tampón, incluyendo tampón fosfato y tampón acetato de sodio; un analgésico, incluyendo clorhidrato de procaína; un estabilizante, incluyendo alcohol bencílico y fenol; y/o un antioxidante. Puede llenarse una inyección preparada en una ampolla adecuada..

15 Pueden usarse métodos bien conocidos por los expertos en la técnica para administrar la composición farmacéutica dada a conocer en el presente documento, por ejemplo como una inyección intraarterial, intravenosa o percutánea o como una administración intranasal, transbronquial, intramuscular u oral. La dosificación y el método de administración varían según el peso corporal y la edad de un paciente y el método de administración; sin embargo, un experto en la técnica puede seleccionar rutinariamente un método de administración adecuado. Si dicho compuesto puede codificarse por un ADN, el ADN puede insertarse en un vector para terapia génica y el vector administrarse a un paciente para realizar la terapia. La dosificación y el método de administración varían según el peso corporal, la edad y los síntomas del paciente; sin embargo, un experto en la técnica puede seleccionarlos adecuadamente.

20 Por ejemplo, aunque la dosis de un compuesto que se une a una proteína dada a conocer en el presente documento y que regula su actividad depende de los síntomas, generalmente la dosis es de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 100 mg al día, preferiblemente de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 50 mg al día y más preferiblemente de aproximadamente 1,0 mg a aproximadamente 20 mg al día, cuando se administra por vía oral a un ser humano adulto normal (que pesa aproximadamente 60 kg).

25 Cuando se administra el compuesto por vía parenteral, en forma de una inyección a un ser humano adulto normal (que pesa aproximadamente 60 kg), aunque hay algunas diferencias según el paciente, el órgano diana, los síntomas y el método de administración, es conveniente inyectar por vía intravenosa una dosis de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 30 mg al día, preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg al día y más preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg al día. En el caso de otros animales, la cantidad de dosificación apropiada puede calcularse rutinariamente convirtiendo a 60 kg de peso corporal.

30 IV. Monitorización y pronóstico del cáncer de esófago

Evaluación de la eficacia del tratamiento:

35 Los genes asociados a EC expresados diferencialmente identificados en el presente documento también permiten que se monitoree el ciclo de tratamiento de EC. En este método, se proporciona una población celular de prueba de un sujeto que se somete a tratamiento para EC. Si se desea, se obtienen poblaciones celulares de prueba a partir del sujeto a diversos puntos de tiempo, antes, durante y/o tras el tratamiento. La expresión de uno o más de los genes asociados a EC en la población celular de prueba se determina entonces y se compara con la expresión de los mismos genes en una población celular de referencia que incluye células cuyo estado de EC se conoce. En el contexto de la presente memoria descriptiva, las células de referencia no se han expuesto al tratamiento de interés.

40 Si la población celular de referencia no contiene células de EC, una similitud en la expresión de un gen asociado a EC en la población celular de prueba y la población celular de referencia indica que el tratamiento de interés es eficaz. Sin embargo, una diferencia en la expresión de un gen asociado a EC en la población celular de prueba y una población celular de referencia de control normal indica un pronóstico o desenlace clínico menos favorable. De manera similar, si la población celular de referencia contiene células de EC, una diferencia entre la expresión de un gen asociado a EC en la población celular de prueba y la población celular de referencia indica que el tratamiento de interés es eficaz, mientras que una similitud en la expresión de un gen asociado a EC en la población de prueba y una población celular de referencia de control de EC indica un pronóstico o desenlace clínico menos favorable.

45 Adicionalmente, el nivel de expresión de uno o más genes asociados a EC determinado en una muestra biológica de un sujeto obtenida tras el tratamiento (es decir, niveles tras el tratamiento) puede compararse con el nivel de expresión del uno o más genes asociados a EC determinado en una muestra biológica de un sujeto obtenida antes del comienzo del tratamiento (es decir, niveles antes del tratamiento). Si el gen asociado a EC es un gen regulado por incremento, una disminución en el nivel de expresión en una muestra tras el tratamiento indica que el tratamiento de interés es eficaz mientras que un aumento o mantenimiento en el nivel de expresión en la muestra tras el tratamiento indica un pronóstico o desenlace clínico menos favorable. A la inversa, si el gen asociado a EC es un gen regulado por disminución, un aumento en el nivel de expresión en una muestra tras el tratamiento puede indicar que el tratamiento de interés es eficaz mientras que una disminución o un mantenimiento en el nivel de expresión en la muestra tras el tratamiento indica un pronóstico o desenlace clínico menos favorable.

Tal como se usa en el presente documento, el término “eficaz” indica que el tratamiento conduce a una reducción en la expresión de un gen regulado por incremento patológicamente, un aumento en la expresión de un gen regulado por disminución patológicamente o una disminución en el tamaño, la prevalencia o el potencial metastásico de carcinoma ductal de esófago en un sujeto. Cuando se aplica un tratamiento de interés profilácticamente, el término “eficaz” significa que el tratamiento retrasa o previene que se forme un tumor de esófago o retrasa, previene o alivia un síntoma de EC clínico. La evaluación de los tumores de esófago puede hacerse usando protocolos clínicos convencionales.

Además, la eficacia puede determinarse en asociación con cualquier método conocido para diagnosticar o tratar EC. EC puede diagnosticarse, por ejemplo, identificando anomalías sintomáticas, por ejemplo, pérdida de peso, dolor abdominal, dolor de espalda, anorexia, náuseas, vómitos y malestar generalizado, debilidad e ictericia.

Evaluación del pronóstico de un sujeto con cáncer de esófago:

En el presente documento, se hace referencia a métodos de evaluación del pronóstico de un sujeto con EC que incluye la etapa de comparar la expresión de uno o más genes asociados a EC en una población celular de prueba con la expresión de los mismos genes asociados a EC en una población celular de referencia de pacientes a lo largo de un espectro de estadios de la enfermedad. Comparando la expresión génica de uno o más genes asociados a EC en la población celular de prueba y la(s) población/poblaciones celular(es) de referencia, o comparando el patrón de expresión génica a lo largo del tiempo en poblaciones celulares de prueba del sujeto, puede evaluarse el pronóstico del sujeto.

Por ejemplo, un aumento en la expresión de uno o más de los genes asociados a EC regulados por incremento, incluyendo los enumerados en la tabla 2, 5 ó 7, en una muestra de prueba en comparación con una muestra de control normal, o una disminución en la expresión de uno o más de los genes asociados a EC regulados por disminución, incluyendo los enumerados en las tablas 1, 4 ó 6, en una muestra de prueba en comparación con una muestra de control normal, indica un pronóstico menos favorable. A la inversa, una similitud en la expresión de uno o más de los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7, en una muestra de prueba en comparación con una muestra de control normal, indica un pronóstico más favorable prognosis para el sujeto. Preferiblemente, el pronóstico de un sujeto puede evaluarse comparando el perfil de expresión de los genes seleccionados del grupo que consiste en los genes enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7.

Además, se hace referencia en el presente documento a un método para predecir metástasis de cáncer de esófago en un sujeto, comprendiendo el método las etapas de:

(a) detectar el nivel de expresión de uno o más genes marcadores en una muestra recogida de dicho sujeto, en el que el uno o más genes marcadores se seleccionan del grupo que consiste en los genes de EC n.^{os} 1544-1679 (tablas 4-5);

(b) comparar el nivel de expresión del uno o más genes marcadores en dicha muestra con el de un caso positivo de metástasis y un caso negativo de metástasis; y

(c) en el que un nivel de expresión de la muestra similar al de un caso positivo de metástasis indica un alto riesgo de metástasis de cáncer de esófago, y en el que un nivel de expresión de la muestra similar al de un caso negativo de metástasis indica un bajo riesgo de metástasis cáncer de esófago.

Alternativamente, se hace referencia en el presente documento a un método para predecir la recidiva de cáncer de esófago en un sujeto, comprendiendo el método las etapas de:

(a) detectar el nivel de expresión de uno o más genes marcadores en una muestra recogida de dicho sujeto, en el que el uno o más genes marcadores se seleccionan del grupo que consiste en los genes de EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7);

(b) comparar el nivel de expresión del uno o más genes marcadores en dicha muestra con el de un caso positivo de recidiva y un caso negativo de recidiva; y

(c) en el que un nivel de expresión de la muestra similar al de un caso positivo de recidiva indica un alto riesgo de recidiva de cáncer de esófago, y en el que un nivel de expresión de la muestra similar al de un caso negativo de recidiva indica un bajo riesgo de recidiva de cáncer de esófago.

Los EC n.^{os} 1544-1679 (tablas 4-5) o EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7) expresados diferencialmente identificados en el presente documento también puede permitir predecir la metástasis y recidiva de cáncer de esófago en un sujeto respectivamente. En este método, se proporciona una muestra biológica de prueba de un sujeto que se somete a tratamiento para cáncer de esófago. Si se desea, se obtienen múltiples muestras biológicas de prueba del sujeto a diversos puntos de tiempo antes, durante y tras el tratamiento, por ejemplo cirugía. La expresión de uno o más genes seleccionados de EC n.^{os} 11544-1679 (tablas 4-5) o EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7) en la muestra se determina entonces y se compara la expresión de los mismos genes en una muestra de referencia con y/o sin una metástasis y recidiva de cáncer de esófago.

Tal como se da a conocer en el presente documento, las células de cáncer de esófago obtenidas de pacientes negativos para metástasis pueden usarse como muestra de referencia de un caso negativo de metástasis. Por ejemplo, generalmente, cuando no se observó metástasis de ganglios linfáticos en tumores resecados quirúrgicamente mediante diagnóstico patológico, el paciente es negativo para metástasis. Por consiguiente, en algunos aspectos preferidos, la metástasis de cáncer de esófago puede predecirse mediante el método que comprende las etapas de:

(i) detectar el nivel de expresión de uno o más genes marcadores seleccionados del grupo que consiste en EC n.^{os} 1544-1679 (tablas 4-5) en una muestra recogida de un sujeto cuya metástasis de cáncer de esófago va a predecirse,

(ii) comparar el nivel de expresión del uno o más genes marcadores en dicha muestra con el nivel de expresión del mismo uno o más genes marcadores de una muestra negativa para metástasis; y

(iii) en el que una disminución en el nivel de expresión de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en EC n.^{os} 1544-1602 (tabla 4) en la etapa (i), o un aumento en el nivel de expresión de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en EC n.^{os} 1603-1679 (tabla 5) en la etapa (i) en comparación con los niveles de expresión de los mismos genes de la muestra negativa para metástasis indica que dicho sujeto padece o corre el riesgo de metástasis de cáncer de esófago.

De manera similar, pueden usarse células de cáncer de esófago obtenidas de pacientes negativos para recidiva como muestra de referencia de un caso negativo de recidiva. Por ejemplo, generalmente, cuando no se observa recidiva en el plazo de 32 meses tras la cirugía, el paciente es negativo para recidiva. Por consiguiente, en algunas realizaciones preferidas, puede predecirse la recidiva de cáncer de esófago mediante el método que comprende las etapas de:

(i) detectar el nivel de expresión de uno o más genes marcadores seleccionados del grupo que consiste en EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7) en una muestra recogida de un sujeto cuya recidiva de cáncer de esófago va a predecirse,

(ii) comparar el nivel de expresión del uno o más genes marcadores en dicha muestra con los niveles de expresión del uno o más genes marcadores de una muestra negativa para recidiva; y

(iii) en el que una disminución en el nivel de expresión de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en EC n.^{os} 1680-1688 (tabla 6) de la etapa (i), o un aumento en el nivel de expresión de uno o más genes seleccionados del grupo que consiste en EC n.^{os} 1689-1716 (tabla 7) de la etapa (i) en comparación con los niveles de expresión de los mismos genes en una muestra negativa para recidiva indica que dicho sujeto padece o corre el riesgo de recidiva de cáncer de esófago.

En los métodos a los que se hace referencia en el presente documento, el nivel de expresión de EC n.^{os} 1544-1679 (tablas 4-5) o EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7) puede detectarse mediante uno de los siguientes métodos:

(a) detectar el ARNm de EC n.^{os} 1544-1679 (tablas 4-5) o EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7),

(b) detectar la proteína de EC n.^{os} 1544-1679 (tablas 4-5) o EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7), y

(c) detectar la actividad biológica de la proteína de EC n.^{os} 1544-1679 (tablas 4-5) o EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7).

La presente invención también da a conocer kits para predecir una metástasis o recidiva, comprendiendo el kit cualquier componente seleccionado del grupo que consiste en:

(a) reactivo para determinar el ARNm de EC n.^{os} 1544-1679 (tablas 4-5) o EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7),

(b) reactivo para detectar la proteína de EC n.^{os} 1544-1679 (tablas 4-5) o EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7), y

(c) reactivo para detectar la actividad biológica de la proteína de EC n.^{os} 1544-1679 (tablas 4-5) o EC n.^{os} 1680-1716 (tablas 6-7).

II. Tratamiento y prevención del cáncer de esófago

Métodos de inhibición del cáncer de esófago:

Se dan a conocer adicionalmente en el presente documento composiciones para su uso en un método para prevenir, tratar o aliviar uno o más síntomas de EC en un sujeto disminuyendo la expresión de uno o más de los genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7 (o la actividad de su producto génico) o aumentando la expresión de uno o más de los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 4 y 6 (o la actividad de su producto génico). Pueden administrarse profiláctica o terapéuticamente compuestos terapéuticos adecuados a un sujeto que padece o corre el riesgo de (o es susceptible a) desarrollar EC. Tales sujetos pueden identificarse usando métodos clínicos convencionales o detectando un nivel de expresión aberrante de uno o más de los genes asociados a EC enumerados en las tablas 1, 2 y 4-7 o la actividad aberrante de su producto génico. Los agentes terapéuticos adecuados incluyen, por ejemplo, inhibidores de la regulación del ciclo celular, proliferación celular y actividad

proteína cinasa.

Los métodos terapéuticos tal como se les hace referencia en el presente documento pueden incluir la etapa de aumentar la expresión, función o ambas de uno o más productos génicos de genes cuya expresión está disminuida (genes "regulados por disminución" o "subexpresados") en una célula de EC en relación con células normales del mismo tipo de tejido del que se recuperan las células de EC. En estos métodos, el sujeto se trata con una cantidad eficaz de un compuesto que aumenta la cantidad de uno o más de los genes subexpresados (regulados por disminución) en el sujeto. La administración puede ser sistémica o local. Los compuestos terapéuticos adecuados incluyen un producto de polipéptido de un gen subexpresado, un fragmento biológicamente activo del mismo, y un ácido nucleico que codifica para un gen subexpresado y que tiene elementos de control de la expresión que permiten la expresión en las células de EC; por ejemplo, un agente que aumenta el nivel de expresión de un gen de este tipo endógeno para las células de EC (es decir, que regula por incremento la expresión del gen o genes subexpresados). La administración de tales compuestos contrarresta los efectos del gen o genes subexpresados de manera aberrante en las células del esófago del paciente y mejora el estado clínico del sujeto.

Alternativamente, los métodos terapéuticos tal como se les hace referencia en el presente documento pueden incluir la etapa de disminuir la expresión, función o ambas de uno o más productos génicos de genes cuya expresión está aumentada de manera aberrante (genes "regulados por incremento" o "sobrexpresados") en células de esófago. La expresión puede inhibirse administrando al sujeto un compuesto, por ejemplo, un ácido nucleico que inhibe o antagoniza la expresión del gen o genes sobrexpresados, por ejemplo, un oligonucleótido antisentido o ARN de interferencia pequeño que altera la expresión del gen o genes sobrexpresados.

Ácidos nucleicos inhibidores

Tal como se indicó anteriormente, pueden usarse ácidos nucleicos inhibidores (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido, ARNip, ribozimas) complementarios a la secuencia de nucleótidos de los genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7 para reducir el nivel de expresión de los genes. Por ejemplo, ácidos nucleicos inhibidores complementarios a los genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7 que están regulados por incremento en cáncer de esófago son útiles para el tratamiento de cáncer de esófago. Específicamente, los ácidos nucleicos inhibidores tal como se da a conocer en el presente documento pueden actuar uniéndose a los genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7, o los ARNm que corresponden a los mismos, inhibiendo de ese modo la transcripción o traducción de los genes, promoviendo la degradación de los ARNm y/o inhibiendo la expresión de las proteínas codificadas por los genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7, inhibiendo de ese modo la función de las proteínas.

La expresión "ácidos nucleicos inhibidores" tal como se usa en el presente documento abarca tanto nucleótidos que son totalmente complementarios a la secuencia diana como los que tienen un apareamiento erróneo de uno o más nucleótidos, siempre que los ácidos nucleicos inhibidores puedan hibridarse específicamente con las secuencias diana. Los ácidos nucleicos inhibidores de la presente invención incluyen polinucleótidos que tienen una identidad de secuencia de al menos el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o superior con respecto a un tramo de al menos 15 nucleótidos continuos. Pueden usarse algoritmos conocidos en la técnica para determinar la identidad de secuencia.

Un algoritmo útil es BLAST 2.0, descrito originalmente en Altschul *et al.*, (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-10. El software para realizar análisis BLAST está disponible públicamente del Centro Nacional de Información Biotecnológica ("*National Center for Biotechnology Information*") (disponible en Internet en ncbi.nlm.nih.gov). Este algoritmo implica en primer lugar identificar pares de secuencia de alta puntuación (HSP) identificando palabras cortas de longitud W en la secuencia de consulta, que o bien coinciden o bien satisfacen alguna puntuación T umbral de valor positivo cuando se alinean con una palabra de la misma longitud en una secuencia de la base de datos. T se denomina umbral de puntuación de palabra vecina (Altschul *et al.*, citado anteriormente). Estos aciertos de palabra vecina inicial actúan como simientes para iniciar búsquedas para encontrar HSP más largos que las contienen. Los aciertos de palabras se extienden entonces en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia durante tanto como pueda aumentarse la puntuación de alineación acumulativa. Se calculan las puntuaciones acumulativas usando, para secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de recompensa para un par de residuos coincidentes; siempre >0) y N (puntuación de penalización para residuos no coincidentes; siempre <0). Para secuencias de aminoácidos, se usa una matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulativa. La extensión de los aciertos de palabra en cada dirección se detiene cuando: la puntuación de alineación acumulativa cae en la cantidad X desde su valor logrado máximo; la puntuación acumulativa llega hasta cero o inferior, debido a la acumulación de una o más alineaciones de residuos de puntuación negativa; o se alcanza el final de cualquier secuencia. Los parámetros W, T y X del algoritmo BLAST determinan la sensibilidad y velocidad de la alineación. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) usa por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, un valor de corte de 100, M=5, N=-4 y una comparación de ambas hebras. Para secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP usa por defecto una longitud de palabra (W) de 3, una expectativa (E) de 10 y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase, Henikoff & Henikoff (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915-9).

Un ejemplo adicional de un algoritmo de alineación de secuencias útil es PILEUP. PILEUP crea una alineación de

5 secuencias múltiple a partir de un grupo de secuencias relacionadas usando alineaciones por parejas, progresivas. También puede representar gráficamente un árbol que muestra las relaciones de agrupamiento usadas para crear la alineación. PILEUP usa una simplificación del método de alineación progresiva de Feng & Doolittle, (1987) J. Mol. Evol. 35: 351-60. El método usado es similar al método descrito por Higgins & Sharp, (1989) CABIOS 5:151-3. El programa puede alinear, por ejemplo, hasta 300 secuencias de una longitud máxima de 5.000 letras. El procedimiento de alineación múltiple comienza con la alineación por parejas de las dos secuencias más similares, producto una agrupación de dos secuencias alineadas. Esta agrupación puede alinearse entonces con la siguiente secuencia más relacionada o agrupación de secuencias alineadas. Pueden alinearse dos agrupaciones de secuencias mediante una simple extensión de la alineación por parejas de dos secuencias individuales. La alineación final se logra mediante una serie de alineaciones por parejas, progresivas. El programa puede usarse también para representar gráficamente un dendrograma o representación en árbol de las relaciones de agrupamiento. El programa se ejecuta designando secuencias específicas y sus coordenadas de nucleótidos o aminoácidos para regiones de comparación de secuencias. Por ejemplo, con el fin de determinar los aminoácidos conservados en una familia de dominios monoméricos o para comparar las secuencias de dominios monoméricos en una familia, se alinean la secuencia dada a conocer en el presente documento, o ácidos nucleicos codificantes, para proporcionar información de estructura-función.

10 Los ácidos nucleicos antisentido dados a conocer en el presente documento actúan sobre células que producen las proteína codificadas por genes marcadores asociados a EC uniéndose a los ADN o ARNm que codifican para las proteínas, inhibiendo su transcripción o traducción, promoviendo la degradación de los ARNm e inhibiendo la expresión de las proteínas, dando como resultado de ese modo la inhibición de la función de la proteína.

15 Puede prepararse un ácido nucleico antisentido tal como se da a conocer en el presente documento en una preparación externa, por ejemplo, un linimento o un emplasto, mezclándolo con un material de base adecuado que es inactivo contra el ácido nucleico.

20 Además, según se necesite, los ácidos nucleicos antisentido dados a conocer en el presente documento pueden formularse en comprimidos, polvos, gránulos, cápsulas, cápsulas de liposomas, inyecciones, disoluciones, gotas nasales y agentes de secado por congelación añadiendo excipientes, agentes isotónicos, solubilizantes, estabilizantes, conservantes, analgésicos y similares. Estos pueden prepararse mediante los siguientes métodos conocidos.

25 Los ácidos nucleicos antisentido dados a conocer en el presente documento pueden administrarse al paciente mediante aplicación directa en el sitio enfermo o mediante inyección directa en un vaso sanguíneo de modo que alcanzará el sitio de enfermedad. También puede usarse un medio de montaje antisentido para aumentar la durabilidad y permeabilidad de la membrana. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, liposomas, poli-L-lisina, lípidos, colesterol, lipofectina o derivados de estos.

30 La dosificación de los ácidos nucleicos inhibidores dados a conocer en el presente documento puede ajustarse adecuadamente según el estado del paciente y usarse en cantidades deseadas. Por ejemplo, puede administrarse un intervalo de dosificación de 0,1 a 100 mg/kg, preferiblemente de 0,1 a 50 mg/kg.

35 Los ácidos nucleicos antisentido dados a conocer en el presente documento inhiben la expresión de una proteína de la presente invención y de ese modo son útiles para suprimir la actividad biológica de la proteína de la invención. Además, inhibidores de la expresión, que comprenden ácidos nucleicos antisentido de la presente invención, son útiles porque pueden inhibir la actividad biológica de una proteína tal como se da a conocer en el presente documento.

40 Los métodos a los que se hace referencia en el presente documento pueden usarse para alterar la expresión en una célula de un gen asociado a EC regulado por incremento, por ejemplo, dando como resultado la regulación por incremento la transformación maligna de las células. La unión del ARNip a un transcrito complementario a uno de los genes asociados a EC enumerados en las tablas 2, 5 y 7 en la célula diana da como resultado una reducción en la producción de proteínas por la célula. La longitud del oligonucleótido es de al menos 10 nucleótidos y puede ser tan largo como el transcrito que se produce de manera natural. Preferiblemente, el oligonucleótido tiene menos de 75, 50, 25 nucleótidos de longitud. Lo más preferiblemente, el oligonucleótido tiene 19-25 nucleótidos de longitud.

45 Los ácidos nucleicos antisentido dados a conocer en el presente documento incluyen oligonucleótidos modificados. Por ejemplo, pueden usarse oligonucleótidos tioados para conferir resistencia a nucleasas a un oligonucleótido.

50 Además, puede usarse un ARNip contra un gen marcador para reducir el nivel de expresión del gen marcador. En el presente documento, el término "ARNip" se refiere a una molécula de ARN bicatenario que impide la traducción de un ARNm diana. Pueden usarse técnicas convencionales para introducir ARNip en la célula, incluyendo aquellas en las que el ADN es un molde a partir del cual se transcribe el ARN. En el contexto de la presente invención, el ARNip comprende una secuencia de ácido nucleico sentido y una secuencia de ácido nucleico antisentido contra un gen marcador regulado por incremento, tal como un gen asociado a EC enumerado en las tablas 2, 5 y 7. El ARNip se construye de manera que un único transcrito tiene las secuencias tanto sentido como antisentido complementarias del gen diana, por ejemplo una horquilla.

Un ARNip de un gen asociado a EC, incluyendo los enumerados en las tablas 2, 5 y 7, se hibrida con el ARNm diana y de ese modo disminuye o inhibe la producción de los polipéptidos codificados por el gen asociado a EC enumerado en las tablas 2, 5 y 7 asociándose con el transcrito de ARNm monocatenario, interfiriendo de ese modo con la traducción y por tanto la expresión de la proteína. En el contexto de la presente invención, un ARNip tiene preferiblemente menos de 500, 200, 100, 50 ó 25 nucleótidos de longitud. Más preferiblemente, un ARNip tiene 19-25 nucleótidos de longitud. Una secuencia de ácido nucleico a modo de ejemplo para la producción de ARNip de ECT2 incluye las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 8 y 9 como secuencia diana. Una secuencia de ácido nucleico a modo de ejemplo para la producción de ARNip de CDC45L incluye las secuencias de nucleótidos de SEQ ID NO: 10 y 11 como secuencia diana. Con el fin de potenciar la actividad de inhibición del ARNip, pueden añadirse uno o más nucleótidos de uridina ("u") al extremo 3' de la hebra antisentido de la secuencia diana. El número de "u" que va a añadirse es al menos 2, generalmente de 2 a 10, preferiblemente de 2 a 5. Las "u" añadidas forman una única hebra en el extremo 3' de la hebra antisentido del ARNip.

Un ARNip de un gen asociado a EC, incluyendo los enumerados en las tablas 2, 5 y 7, puede introducirse directamente en las células en una forma que puede unirse a los transcritos de ARNm. Alternativamente, puede portarse un ADN que codifica para el ARNip en un vector.

Pueden producirse vectores, por ejemplo, clonando una secuencia diana de un gen asociado a EC en un vector de expresión que tiene secuencias reguladoras operativamente unidas que flanquean la secuencia de una manera que permite la expresión (mediante transcripción de la molécula de ADN) de ambas hebras (Lee, N.S., *et al.*, (2002) Nature Biotechnology 20: 500-5). Una molécula de ARN que es antisentido con respecto al ARNm de un gen asociado a EC se transcribe por un primer promotor (por ejemplo, una secuencia promotora en 3' del ADN clonado) y una molécula de ARN que es la hebra sentido para el ARNm de un gen asociado a EC se transcribe por un segundo promotor (por ejemplo, una secuencia promotora en 5' del ADN clonado). Las hebras sentido y antisentido se hibridan *in vivo* para generar constructos de ARNip para silenciar el gen asociado a EC. Alternativamente, los dos constructos pueden utilizarse para crear las hebras sentido y antisentido de un constructo de ARNip. Los genes asociados a EC clonados pueden codificar para un constructo que tiene una estructura secundaria, por ejemplo, horquillas, en el que un único transcrito tiene las secuencias tanto sentido como antisentido complementarias del gen diana.

Una secuencia de bucle que consiste en una secuencia de nucleótidos arbitraria puede estar ubicada entre la secuencia sentido y antisentido con el fin de formar la estructura de bucle en horquilla. Por tanto, también se dan a conocer en el presente documento ARNip que tienen la fórmula general 5'-[A]-[B]-[A']-3', en la que [A] es una secuencia de ribonucleótidos que corresponde a una secuencia de un gen seleccionado de la tabla 2, 5 ó 7,

[B] es una secuencia de ribonucleótidos que consiste en los nucleótidos 3 a 23 y

[A'] es una secuencia de ribonucleótidos que consiste en la secuencia complementaria de [A].

La región [A] se hibrida con [A'], y entonces se forma un bucle que consiste en la región [B]. La secuencia de bucle puede tener de 3 a 23 nucleótidos de longitud. La secuencia de bucle, por ejemplo, puede seleccionarse de las siguientes secuencias (encontradas en Internet en ambion.com/techlib/tb/tb_506.html). Además, una secuencia de bucle que consiste en 23 nucleótidos también proporciona ARNip activo (Jacque, J. M., *et al.*, (2002) Nature 418: 435-8).

CCC, CCACC o CCACACC: Jacque, J. M., *et al.*, (2002) Nature, vol. 418: 435-8.

UUCG: Lee, N.S., *et al.*, (2002) Nature Biotechnology 20: 500-5.; Fruscoloni, P., *et al.*, (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100(4): 1639-44.

UUCAAGAGA: Dykxhoorn, D. M., *et al.*, (2003) Nature Reviews Molecular Cell Biology 4: 457-67.

Por consiguiente, en algunos aspectos, la secuencia de bucle puede seleccionarse del grupo que consiste en CCC, UUCG, CCACC, CCACACC y UUCAAGAGA. Una secuencia de bucle preferible es UUCAAGAGA ("ttcaagaga" en ADN). ARNip en horquilla a modo de ejemplo adecuado para su uso según la descripción de la presente memoria descriptiva incluye:

para ARNip de ECT2

gaugcacucaccuuguagu-[b]-acuacaaggugagugcauc (para la secuencia diana de SEQ ID NO: 8)

ggcaaaucuccugagcuc-[b]-gagcucaggaguauuugcc (para la secuencia diana de SEQ ID NO: 9)

para ARNip de CDC45L

gagacaucccuugacua-[b]-uagucaaagaggaugcuc (para la secuencia diana de SEQ ID NO: 10)

cagaccaguggugcaaga-[b]-ucuugcaccacuggucug (para la secuencia diana de SEQ ID NO: 11)

La secuencia de nucleótidos de ARNip adecuados puede diseñarse usando un programa informático de diseño de ARNip disponible del sitio Web de Ambion en Internet en ambion.com/techlib/misc/siRNA_finder.html. El programa informático selecciona secuencias de nucleótidos para la síntesis de ARNip basándose en el siguiente protocolo.

Selección de sitios diana de ARNip:

- 5 1. Comenzando con el codón de iniciación AUG del transcrito objeto, explorar en el sentido de 3' para detectar secuencias de dinucleótidos AA. Registrar la aparición de cada AA y los 19 nucleótidos adyacentes en 3' como sitios diana de ARNip. Tuschl, *et al.* Genes Dev 13(24):3191-7(1999) no recomiendan el diseño de ARNip contra las regiones no traducidas en 5' y 3' (UTR) y regiones cerca del codón de iniciación (dentro de 75 bases) puesto que éstas pueden ser más ricas en sitios de unión de proteínas reguladoras. Proteínas de unión a UTR y/o complejos de iniciación de la traducción pueden interferir con la unión del complejo de ARNip-endonucleasa.
- 10 2. Comparar los sitios diana con la base de datos del genoma humano y eliminar de su consideración cualquier secuencia diana con identidad de secuencia significativa con otras secuencias codificantes. La búsqueda de identidad de secuencia puede realizarse usando BLAST 2.0 (Altschul SF, *et al.*, Nucleic Acids Res. 1997; 25(17):3389-402; Altschul SF, J Mol Biol. 1990; 215(3): 403-10.), que puede encontrarse en el servidor del NCBI en ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/.
- 15 3. Seleccionar secuencias diana calificadas para la síntesis. Usando el algoritmo de Ambion, pueden seleccionarse preferiblemente varias secuencias diana junto con la longitud del gen que va a evaluarse.

Las secuencias reguladoras que flanquean las secuencias génicas asociadas a EC pueden ser idénticas o diferentes, de manera que su expresión puede modularse independientemente, o de una manera temporal o espacial. Se transcriben los ARNip intracelularmente clonando los moldes de genes asociados a EC, respectivamente, en un vector que contiene, por ejemplo, una unidad de transcripción de ARN polimerasa III del ARN nuclear pequeño (ARNnp) U6 o el promotor de ARN H1 humano. Para introducir el vector en la célula, puede usarse un agente de potenciación de la transfección. FuGENE (Roche diagnostics), Lipofectamine 2000 (Invitrogen), Oligofectamine (Invitrogen) y Nucleofector (Wako pure Chemical) son útiles como agente de potenciación de la transfección.

El oligonucleótido antisentido o ARNip tal como se da a conocer en el presente documento inhibe la expresión de un polipéptido dado a conocer en el presente documento y de ese modo es útil para suprimir la actividad biológica de un polipéptido dado a conocer en el presente documento. Además, inhibidores de la expresión, que comprenden el oligonucleótido antisentido o ARNip dado a conocer en el presente documento, son útiles en el momento en el que pueden inhibir la actividad biológica del polipéptido dado a conocer en el presente documento. Por tanto, una composición que comprende uno o más oligonucleótidos antisentido o ARNip tal como se da a conocer en el presente documento es útil para tratar un cáncer de esófago.

Anticuerpos:

Alternativamente, la función de uno o más productos génicos de los genes sobreexpresados en EC puede inhibirse administrando un compuesto que se une a, o inhibe de otro modo la función de, los productos génicos. Por ejemplo, el compuesto puede ser un anticuerpo que se une al producto génico o a los productos génicos sobreexpresados.

La presente memoria descriptiva se refiere al uso de anticuerpos, particularmente anticuerpos frente a una proteína codificada por un gen marcador regulado por incremento, o un fragmento de tal anticuerpo. Tal como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo" se refiere a una molécula de inmunoglobulina que tiene una estructura específica, que interacciona (es decir, se une) sólo con el antígeno que se usó para sintetizar el anticuerpo (es decir, el producto génico de un marcador regulado por incremento) o con un antígeno estrechamente relacionado con el mismo. Además, un anticuerpo puede ser un fragmento de un anticuerpo o un anticuerpo modificado, siempre que se una a una o más de las proteínas codificadas por los genes marcadores. Por ejemplo, el fragmento de anticuerpo puede ser Fab, F(ab')₂, Fv, o Fv monocaténario (scFv), en el que los fragmentos Fv de cadenas H y L están ligados mediante un ligador apropiado (Huston J. S. *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:5879-83 (1988)). Más específicamente, un fragmento anticuerpo puede generarse tratando un anticuerpo con una enzima, incluyendo papaína o pepsina. Alternativamente, puede construirse un gen que codifica para el fragmento de anticuerpo, insertarse en un vector de expresión, y expresarse en una célula huésped apropiada (véase, por ejemplo, Co M. S. *et al.* J. Immunol. 152:2968-76 (1994); Better M. y Horwitz A. H. Methods Enzymol. 178:476-96 (1989); Pluckthun A. y Skerra A. Methods Enzymol. 178:497-515 (1989); Lamoyi E. Methods Enzymol. 121:652-63 (1986); Rousseaux J. *et al.* Methods Enzymol. 121:663-9 (1986); Bird R. E. y Walker B. W. Trends Biotechnol. 9:132-7 (1991)).

Un anticuerpo puede modificarse mediante conjugación con una variedad de moléculas, incluyendo polietilenglicol (PEG). La presente invención proporciona tales anticuerpos modificados. El anticuerpo modificado puede obtenerse modificando químicamente un anticuerpo. Tales métodos de modificación son convencionales en el campo.

Alternativamente, un anticuerpo puede comprender un anticuerpo quimérico que tiene una región variable de un anticuerpo no humano y una región constante de un anticuerpo humano, o un anticuerpo humanizado, que comprende una región determinante de la complementariedad (CDR) de un anticuerpo no humano, una región de

entramado (FR) y una región constante de un anticuerpo humano. Tales anticuerpos pueden prepararse usando tecnologías conocidas.

Se han validado terapias contra el cáncer dirigidas a alteraciones moleculares específicas que se producen en células cancerosas mediante desarrollo clínico y aprobación normativa de fármacos anticancerígenos incluyendo trastuzumab (Herceptin) para el tratamiento de cáncer de mama avanzado, metilato de imatinib (Gleevec) para leucemia mieloide crónica, gefitinib (Iressa) para cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), y rituximab (AcM anti-CD20) para linfoma de células B y linfoma de células del manto (Ciardiello F y Tortora G. Clin Cancer Res. 2001;7 (10):2958-7Q. Review.; Slamon DJ, *et al.*, N Engl J Med. 2001; 344(11):783-92.; Rehwald U, *et al.*, Blood. 2003;101 (2):420-4.; Fang G, *et al.*, (2000). Blood, 96, 2246-53.). Estos fármacos son clínicamente eficaces y se toleran mejor que agentes anticancerígenos tradicionales porque se dirigen sólo a células transformadas. Por tanto, tales fármacos no sólo mejoran la supervivencia y calidad de vida para pacientes con cáncer, sino que también validan el concepto de terapia contra el cáncer dirigida molecularmente. Además, los fármacos dirigidos pueden potenciar la eficacia de la quimioterapia convencional cuando se usan en combinación con la misma (Gianni L. (2002). Oncology, 63 Sup. 1, 47-56.; Klejman A, *et al.*, (2002). Oncogene, 21, 5868-76.). Por tanto, futuros tratamientos contra el cáncer supondrán la combinación de fármacos convencionales con agentes específicos de diana dirigidos a diferentes características de células tumorales, por ejemplo, angiogénesis e invasividad.

Estos métodos moduladores pueden realizarse *ex vivo* o *in vitro* (por ejemplo, cultivando la célula con el agente) o, alternativamente, *in vivo* (por ejemplo, administrando el agente a un sujeto). Los métodos suponen administrar una proteína o combinación de proteínas o una molécula de ácido nucleico o combinación de moléculas de ácido nucleico como terapia para contrarrestar la expresión aberrante de los genes expresados de manera diferencial o la actividad aberrante de sus productos génicos.

Enfermedades y trastornos que se caracterizan por niveles de expresión o actividades biológicas de genes y productos génicos aumentados (con respecto a un sujeto que no padece la enfermedad o trastorno), respectivamente, pueden tratarse con productos terapéuticos que antagonizan (es decir, reducen o inhiben) la actividad del gen o los genes sobreexpresados. Productos terapéuticos que antagonizan la actividad pueden administrarse de manera terapéutica o profiláctica.

Por consiguiente, productos terapéuticos que pueden usarse según la descripción proporcionada en el presente documento incluyen, por ejemplo, (i) un polipéptido del gen o los genes sobreexpresados o subexpresados, o análogos, derivados, fragmentos u homólogos de los mismos; (ii) anticuerpos frente al gen o los productos génicos sobreexpresados; (iii) ácidos nucleicos que codifican para el gen o genes sobreexpresados o subexpresados; (iv) ácidos nucleicos antisentido o ácidos nucleicos que son "disfuncionales" (es decir, debido a una inserción heteróloga dentro de los ácidos nucleicos de uno o más gen o genes sobreexpresados); (v) ARN de interferencia pequeño (ARNip); o (vi) moduladores (es decir, inhibidores, agonistas y antagonistas que alteran la interacción entre un polipéptido sobreexpresado o subexpresado y su pareja de unión). Las moléculas antisentido disfuncionales se usan para "desactivar" la función endógena de un polipéptido mediante recombinación homóloga (véase, por ejemplo, Capecchi, Science 244: 1288-92 1989).

Enfermedades y trastornos que se caracterizan por actividad biológica disminuida (con respecto a un sujeto que no padece la enfermedad o trastorno) pueden tratarse con productos terapéuticos que aumentan (es decir, son agonistas de) la actividad. Productos terapéuticos que regulan por incremento la actividad pueden administrarse de una manera terapéutica o profiláctica. Productos terapéuticos que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, un polipéptido (o análogos, derivados, fragmentos u homólogos del mismo) o un agonista que aumenta la biodisponibilidad.

Pueden detectarse fácilmente niveles aumentados o disminuidos cuantificando el péptido y/o ARN, obteniendo una muestra de tejido de un paciente (por ejemplo, de tejido de biopsia) y sometiénola a ensayo *in vitro* para detectar niveles de ARN o péptido, estructura y/o actividad de los péptidos expresados (o ARNm de un gen cuya expresión está alterada). Métodos que se conocen bien en la técnica incluyen, pero no se limitan a, inmunoensayos (por ejemplo, mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western, inmunoprecipitación seguida por electroforesis en gel de poliacrilamida y dodecilsulfato de sodio (SDS), inmunocitoquímica, etc.) y/o ensayos de hibridación para detectar la expresión de ARNm (por ejemplo, ensayos de tipo Northern, transferencias puntuales, hibridación *in situ*, etc.).

La administración profiláctica se produce antes de la manifestación de síntomas clínicos manifiestos de la enfermedad o trastorno, de tal manera que se previene una enfermedad o trastorno o, alternativamente, se retrasa su progresión.

Los métodos terapéuticos según se hace referencia en el presente documento pueden incluir la etapa de poner en contacto una célula con un agente que modula una o más de las actividades de los productos génicos de los genes expresados de manera diferencial. Ejemplos de agentes que modulan la actividad de proteína incluyen, pero no se limitan a, ácidos nucleicos, proteínas, ligandos relacionados que se producen de manera natural de tales proteínas, péptidos, agentes peptidomiméticos y otras moléculas pequeñas. Por ejemplo, un agente adecuado puede estimular una o más actividades de proteínas de uno o más genes subexpresados de manera diferencial.

Vacunación contra cáncer de esófago:

En el presente documento también se hace referencia a métodos de tratamiento o prevención de cáncer de esófago en un sujeto que comprende la etapa de administrar a dicho sujeto una vacuna que comprende uno o más polipéptidos codificados por uno o más ácidos nucleicos seleccionados del grupo que consiste en los genes asociados a EC indicados en las tablas 2, 5 y 7 (es decir, genes regulados por incremento), un fragmento inmunológicamente activo de dicho polipéptido (es decir, un epítopo), o un polinucleótido que codifica para tal polipéptido o fragmento del mismo. La administración del polipéptido induce una inmunidad antitumoral en un sujeto. Para inducir inmunidad antitumoral, uno o más polipéptidos codificados por uno o más ácidos nucleicos seleccionados del grupo que consiste en los genes asociados a EC indicados en las tablas 2, 5 y 7, un(os) fragmento(s) inmunológicamente activo(s) de dichos polipéptidos, o polinucleótido(s) que codifica(n) para tal(es) polipéptido(s) o fragmento(s) del/de los mismo(s), se administran a un sujeto que lo necesita. Además, el uno o más polipéptidos codificados por el uno o más ácidos nucleicos seleccionados del grupo que consiste en los genes asociados a EC indicados en las tablas 5 y 7 pueden inducir inmunidad antitumoral contra cáncer de esófago metastásico y recurrente, respectivamente. El polipéptido o los fragmentos inmunológicamente activos del mismo son útiles como vacunas contra EC. En algunos casos, las proteínas o fragmentos de las mismas pueden administrarse en una forma unida al receptor de células T (TCR) o presentarse por una célula presentadora de antígeno (CPA), incluyendo macrófagos, células dendríticas (CD), o células B. Debido a la fuerte capacidad de presentación de antígeno de las CD, el uso de CD es lo más preferible entre las CPA.

La identificación de fragmentos inmunológicamente activos (es decir, epítomos) se conoce bien en la técnica. Pueden formarse epítomos de células B tanto a partir de aminoácidos contiguos como de aminoácidos no contiguos yuxtapuestos mediante plegamiento terciario de una proteína. Los epítomos formados a partir de aminoácidos contiguos se conservan normalmente tras la exposición a disolventes desnaturizantes mientras que los epítomos formados por plegamiento terciario (es decir, determinados conformacionalmente) se pierden normalmente tras el tratamiento con disolventes desnaturizantes. Un epítopo incluye normalmente al menos 3, y más habitualmente, al menos 5 u 8-10 aminoácidos en una conformación espacial única. Métodos de determinación de la conformación espacial de epítomos incluyen, por ejemplo, cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear de 2 dimensiones. Véase, por ejemplo, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996). Pueden identificarse anticuerpos que reconocen el mismo epítopo en un inmunoensayo sencillo que muestra la capacidad de un anticuerpo para bloquear la unión de otro anticuerpo a un antígeno diana (por ejemplo, un ELISA competitivo o radioinmunoensayo en fase sólida (SPRIA)). Las células T reconocen epítomos continuos de aproximadamente nueve aminoácidos para células CD8 o aproximadamente 13-15 aminoácidos para células CD4. Las células T que reconocen el epítopo pueden identificarse mediante ensayos *in vitro* que miden la proliferación dependiente de antígeno, según se determina mediante incorporación de ³H-timidina por células T estimuladas en respuesta a un epítopo (Burke *et al.*, J. Inf. Dis. 170, 1110-19 (1994)), mediante destrucción dependiente de antígeno (ensayo de linfocitos T citotóxicos, Tigges *et al.*, J. Immunol. (1996) 156:3901-10) o mediante secreción de citocinas. Se describen métodos para determinar epítomos inmunogénicos, por ejemplo, en Reineke, *et al.*, Curr Top Microbial Immunol (1999) 243:23-36; Mahler, *et al.*, Clin Immunol (2003) 107:65-79; Anthony y Lehmann, Methods (2003) 29:260-9; Parker y Tomer, Methods Mol Biol (2000) 146: 185-201; DeLisser, Methods Mol Biol (1999) 96:11-20; Van de Water, *et al.*, Clin Immunol Immunopathol (1997) 85: 229-35; Carter, Methods Mol Biol (1994) 36:207-23; y Pettersson, Mol Biol Rep (1992) 16:149-53.

En la presente memoria descriptiva, una vacuna contra EC se refiere a una sustancia que tiene la capacidad de inducir inmunidad antitumoral tras su inoculación en animales. Según la presente memoria descriptiva, polipéptidos codificados por los genes asociados a EC indicados en las tablas 2, 5 y 7, o fragmentos de los mismos, son péptidos de epítomos limitados a HLA-A24 o HLA-A*0201 que inducen una respuesta inmunitaria potente y específica contra células de EC que expresan los genes asociados a EC indicados en las tablas 2, 5 y 7. Por tanto, en el presente documento también se hace referencia a métodos de inducción de inmunidad antitumoral usando los polipéptidos. En general, inmunidad antitumoral incluye respuestas inmunitarias incluyendo las siguientes:

- inducción de linfocitos citotóxicos contra tumores,
- inducción de anticuerpos que reconocen tumores, e
- inducción de producción de citocinas antitumorales.

Por tanto, cuando una determinada proteína induce una cualquiera de esas respuestas inmunitarias tras su inoculación en un animal, se determina que la proteína tiene efecto de inducción de inmunidad antitumoral. La inducción de la inmunidad antitumoral por una proteína puede detectarse observando *in vivo* o *in vitro* la respuesta del sistema inmunitario del huésped contra la proteína.

Por ejemplo, se conoce bien un método para detectar la inducción de linfocitos T citotóxicos. Específicamente, una sustancia extraña que entra en el organismo vivo se presenta a células T y células B mediante la acción de células presentadoras de antígeno (CPA). Las células T que responden al antígeno presentado por las CPA de una manera específica del antígeno, se diferencian para dar células T citotóxicas (o linfocitos T citotóxicos; CTL) debido a la estimulación por el antígeno, y después proliferan (a esto se le denomina activación de células T). Por tanto, la

inducción de CTL mediante un determinado péptido puede evaluarse presentando el péptido a una célula T mediante una CPA, y detectando la inducción de CTL. Además, las CPA tienen el efecto de activar células T CD4+, células T CD8+, macrófagos, eosinófilos y células NK. Dado que las células T CD4+ y células T CD8+ también son importantes en la inmunidad antitumoral, la acción de inducción de inmunidad antitumoral del péptido puede evaluarse usando el efecto de activación de estas células como indicadores. Véase, Coligan, Current Protocols in Immunology, citado anteriormente.

En la técnica se conoce bien un método para evaluar la acción de inducción de CTL usando células dendríticas (CD) como CPA. Las CD son unas CPA representativas que tienen la acción de inducción de CTL más fuerte entre las CPA. En este método, el polipéptido de prueba se pone inicialmente en contacto con CD, y después se ponen las CD en contacto con células T. La detección de células T que tienen efectos citotóxicos contra las células de interés tras el contacto con CD muestra que el polipéptido de prueba tiene una actividad de inducción de las células T citotóxicas. La actividad de CTL contra tumores puede detectarse, por ejemplo, usando la lisis de células tumorales marcadas con ⁵¹Cr como indicador. Alternativamente, también se conocen bien métodos de evaluación del grado de daño de células tumorales usando la actividad de captación de ³H-timidina o la liberación de LDH (lactosa deshidrogenasa) como indicador.

Aparte de CD; también pueden usarse células mononucleares de sangre periférica (CMSP) como CPA. Se ha notificado que la inducción de CTL se potencia cultivando CMSP en presencia de GM-CSF e IL-4. De manera similar, se ha mostrado que se inducen CTL cultivando CMSP en presencia de hemocianina de lapa californiana (KLH) e IL-7.

Se considera que polipéptidos de prueba que se confirma que presentan actividad de inducción de CTL mediante estos métodos son polipéptidos que tienen un efecto de activación de CD y consiguiente actividad de inducción de CTL. Por tanto, los polipéptidos que inducen inducen CTL contra células tumorales son útiles como vacunas contra tumores. Además, las CPA que han adquirido la capacidad de inducir CTL contra tumores mediante contacto con los polipéptidos también son útiles como vacunas contra tumores. Además, también pueden usarse CTL que han adquirido citotoxicidad debido a la presentación de los antígenos polipeptídicos mediante CPA como vacunas contra tumores. Tales métodos terapéuticos para tumores, usando inmunidad antitumoral debida a CPA y CTL, se denominan inmunoterapia celular.

Generalmente, cuando se usa un polipéptido para inmunoterapia celular, se sabe que la eficacia de la inducción de CTL se aumenta combinando una pluralidad de polipéptidos que tienen diferentes estructuras y poniéndolos en contacto con CD. Por tanto, cuando se estimulan CD con fragmentos de proteína, resulta ventajoso usar una mezcla de múltiples tipos de fragmentos.

Alternativamente, la inducción de inmunidad antitumoral mediante un polipéptido puede confirmarse observando la inducción de producción de anticuerpos contra tumores. Por ejemplo, cuando se inducen anticuerpos contra un polipéptido en un animal de laboratorio inmunizado con el polipéptido, y cuando se suprime el crecimiento de células tumorales por esos anticuerpos, se considera que el polipéptido tiene la capacidad de inducir inmunidad antitumoral.

Se induce inmunidad antitumoral administrando la vacuna dada a conocer en el presente documento, y la inducción de inmunidad antitumoral permite el tratamiento y la prevención de EC. La terapia contra cáncer o la prevención del inicio de cáncer incluye cualquiera de las siguientes etapas, incluyendo inhibición del crecimiento de células cancerosas, involución de cáncer, y supresión de la aparición de cáncer. En la terapia o prevención de cáncer también se incluye una disminución de la morbimortalidad de individuos que tienen cáncer, disminución de los niveles de marcadores tumorales en la sangre, alivio de síntomas detectables que acompañan al cáncer, y similares. Preferiblemente, tales efectos terapéuticos y preventivos son estadísticamente significativos. Por ejemplo, en la observación, un nivel de significación del 5% o inferior, en el que un efecto terapéutico o preventivo de una vacuna contra enfermedades de proliferación celular se compara con un control sin administración de vacuna. Por ejemplo, puede usarse la prueba de la t de Student, la prueba de la U de Mann-Whitney o ANOVA para el análisis estadístico.

La proteína mencionada anteriormente que tiene actividad inmunológica o un vector que codifica para la proteína pueden combinarse con un adyuvante. Un adyuvante se refiere a un compuesto que potencia la respuesta inmunitaria contra la proteína cuando se administra junto con (o sucesivamente a) la proteína que tiene actividad inmunológica. Adyuvantes a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, toxina del cólera, toxina de *Salmonella*, alumbre, y similares, pero no se limitan a los mismos. Además, la vacuna de esta invención puede combinarse apropiadamente con un portador farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de tales portadores incluyen agua esterilizada, solución salina fisiológica, tampón fosfato, fluido de cultivo y similares. Además, la vacuna puede contener según sea necesario estabilizantes, suspensiones, conservantes, tensioactivos y similares. La vacuna puede administrarse de manera sistemática o por vía local, por ejemplo, por vías intradérmica, intramuscular, subcutánea, transdérmica, bucal o intranasal. La administración de la vacuna puede realizarse mediante una única administración, o reforzarse mediante múltiples administraciones. Las dosis son tal como se expone a continuación.

Cuando se usa una CPA o CTL como vacuna, pueden tratarse o prevenirse tumores, por ejemplo, mediante el método *ex vivo*. Más específicamente, se extraen CMSP del sujeto que recibe tratamiento o prevención, se ponen las células en contacto con el polipéptido *ex vivo*, y tras la inducción de CPA o CTL, pueden administrarse las

células al sujeto. También pueden inducirse CPA introduciendo un vector que codifica para el polipéptido en CMSP *ex vivo*. Pueden clonarse CPA o CTL inducidas *in vitro* antes de la administración. Clonando y haciendo crecer células que tienen una alta actividad de daño de células diana, puede realizarse la inmunoterapia celular más eficazmente. Además, pueden usarse CPA y CTL aisladas de esta manera para inmunoterapia celular no sólo contra individuos de quienes se extraen las células, sino también contra tipos similares de tumores de otros individuos.

Se describen métodos generales para desarrollar vacunas, por ejemplo, en Vaccine Protocols, Robinson and Cranage, Eds., 2003, Humana Press; Marshall, Vaccine Handbook: A Practical Guide for Clinicians, 2003, Lippincott Williams & Wilkins; y Vaccine Delivery Strategies, Dietrich, *et al.*, Eds., 2003, Springer Verlag.

Composiciones farmacéuticas:

Además, se describe una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad de proliferación celular, por ejemplo cáncer, que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz del polipéptido dado a conocer en el presente documento. La composición farmacéutica puede usarse para provocar inmunidad antitumoral.

En el contexto de la presente invención, formulaciones farmacéuticas adecuadas incluyen las adecuadas para su administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sub-lingual), vaginal o parenteral (incluyendo intramuscular, subcutánea e intravenosa), o para su administración mediante inhalación o insuflación. Preferiblemente, la administración es intravenosa. Las formulaciones se envasan opcionalmente en unidades de dosificación diferenciadas.

Formulaciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral incluyen cápsulas, sobres o comprimidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de principio activo. Formulaciones adecuadas también incluyen polvos, gránulos, disoluciones, suspensiones y emulsiones. El principio activo se administra opcionalmente como pasta o electuario en bolo. Los comprimidos y cápsulas para su administración oral pueden contener excipientes convencionales, incluyendo agentes aglutinantes, cargas, lubricantes, disgregantes y/o agentes humectantes. Un comprimido puede fabricarse mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más componentes de formulación. Pueden prepararse comprimidos sometidos a compresión mediante compresión en una máquina adecuada de los principios activos en una forma de flujo libre, por ejemplo, polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, lubricante, tensioactivo y/o agente dispersante. Pueden prepararse comprimidos moldeados mediante moldeo en una máquina adecuada de una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden recubrirse según métodos bien conocidos en la técnica. Las preparaciones fluidas orales pueden estar en forma de, por ejemplo, suspensiones acuosas o aceitosas, disoluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o pueden presentarse como un producto seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Tales preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales, por ejemplo, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), y/o conservantes. Los comprimidos pueden formularse opcionalmente de modo que proporcionen una liberación lenta o controlada del principio activo en los mismos. Un envase de comprimidos puede contener un comprimido para tomarse en cada del mes.

Formulaciones adecuadas para su administración parenteral incluyen disoluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas, opcionalmente contienen antioxidantes, tampones, agentes bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto; así como suspensiones estériles acuosas y no acuosas que incluyen agentes de suspensión y/o agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes de dosis unitarias o de múltiples dosis, por ejemplo tal como ampollas selladas y viales, y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado), que sólo requiere la adición del portador líquido estéril, por ejemplo, solución salina, agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Alternativamente, las formulaciones pueden presentarse para su infusión continua. Pueden prepararse suspensiones y disoluciones para inyección extemporánea a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito anteriormente.

Formulaciones adecuadas para su administración rectal incluyen supositorios con portadores convencionales, por ejemplo, manteca de cacao y polietilenglicol. Formulaciones adecuadas para su administración tópica en la boca, por ejemplo, por vía bucal o por vía sublingual, incluyen pastillas para chupar, que contienen el principio activo en una base aromatizada, por ejemplo, sacarosa y goma arábiga o tragacanto, y pastillas, que comprenden el principio activo en una base, por ejemplo, gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábiga. Para su administración intranasal, los compuestos de la invención pueden usarse con una pulverización líquida, un polvo dispersable o en forma de gotas. Las gotas pueden formularse con una base acuosa o no acuosa que también comprende uno o más agentes dispersantes, agentes solubilizantes y/o agentes de suspensión.

Para administración mediante inhalación los compuestos pueden administrarse convenientemente a partir de un insuflador, nebulizador, envases presurizados u otros medios convenientes de administración de una pulverización de aerosol. Los envases presurizados pueden comprender un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad dosificada.

- 5 Alternativamente, para la administración mediante inhalación o insuflación, los compuestos pueden adoptar la forma de una composición en polvo seca, por ejemplo una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada, por ejemplo, lactosa o almidón. La composición en polvo puede presentarse en una forma farmacéutica unitaria, por ejemplo, como cápsulas, cartuchos, gelatina o envases de blíster, a partir de la cual puede administrarse el polvo con ayuda de un inhalador o insufladores.
- Otras formulaciones incluyen dispositivos implantables y parches adhesivos que liberan un agente terapéutico.
- Cuando se desea, pueden emplearse las formulaciones descritas anteriormente, adaptadas para proporcionar una liberación sostenida del principio activo. Las composiciones farmacéuticas también pueden contener otros principios activos, incluyendo agentes antimicrobianos, inmunosupresores y/o conservantes.
- 10 Debe entenderse que además de los componentes particularmente mencionados anteriormente, las formulaciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica con respecto al tipo de formulación en cuestión. Por ejemplo, formulaciones adecuadas para su administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.
- Formulaciones farmacéuticas unitarias preferidas contienen una dosis eficaz, tal como se menciona a continuación, o una fracción apropiada de la misma, del principio activo.
- 15 Para cada uno de los estados mencionados anteriormente, las composiciones, por ejemplo, polipéptidos y compuestos orgánicos, pueden administrarse por vía oral o mediante inyección a una dosis que oscila entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 250 mg/kg al día. El intervalo de dosis para seres humanos adultos es generalmente de desde aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 17,5 g/día, preferiblemente de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 10 g/día, y lo más preferiblemente de aproximadamente 100 mg a
- 20 aproximadamente 3 g/día. Comprimidos u otras formas farmacéuticas unitarias de presentación proporcionadas en unidades diferenciadas pueden contener convenientemente una cantidad que es eficaz a tal dosificación o como múltiplo de la misma, por ejemplo, unidades que contienen de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg, habitualmente desde aproximadamente 100 mg hasta aproximadamente 500 mg.
- 25 La dosis empleada dependerá de varios factores, incluyendo la edad y el sexo del sujeto, el trastorno preciso que está tratándose, y su gravedad. Además la vía de administración puede variar dependiendo del estado y su gravedad. En cualquier caso, pueden calcularse rutinariamente dosificaciones apropiadas y óptimas por los expertos en la técnica, teniendo en consideración los factores mencionados anteriormente.
- VI. Serodiagnóstico de cáncer:
- 30 Midiendo el nivel de DKK1 en una muestra biológica derivada de un sujeto, puede determinarse la aparición de cáncer o una predisposición a desarrollar cáncer en un sujeto. Preferiblemente, el cáncer es o bien cáncer de esófago o de pulmón, o bien ambos. Por consiguiente, la presente invención implica determinar (por ejemplo, medir) el nivel de DKK1 en una muestra biológica.
- Puede usarse cualquier material biológico como muestra biológica para determinar el nivel de DKK1 siempre que pueda detectarse o bien el gen de DKK1 o bien la proteína DKK1 en la muestra. Preferiblemente, la muestra
- 35 biológica comprende sangre, suero u otros fluidos corporales tales como esputo. La muestra biológica preferida es sangre o muestra derivada de sangre. La muestra derivada de sangre incluye suero, plasma o sangre completa.
- El sujeto al que se le diagnostica cáncer según el método es preferiblemente un mamífero e incluye ser humano, primate no humano, ratón, rata, perro, gato, caballo y vaca.
- 40 En un aspecto, se detecta un transcrito génico del gen de DKK1 (por ejemplo, la proteína DKK1) para determinar el nivel de DKK1. El gen de DKK1 puede detectarse y medirse usando técnicas bien conocidas por un experto habitual en la técnica. Los transcritos génicos detectados mediante el método incluyen tanto productos de transcripción como de traducción, tales como ARNm y proteínas. Por ejemplo, pueden usarse secuencias correspondientes al gen de DKK1 para construir sondas para detectar ARNm de DKK1 mediante, por ejemplo, análisis de hibridación por transferencia de tipo Northern. La hibridación de la sonda con un transcrito génico en una muestra biológica de un
- 45 sujeto también puede llevarse a cabo en un microalineamiento de ADN. Como otro ejemplo, la secuencia de DKK1 puede usarse para construir cebadores para amplificar específicamente el polinucleótido de DKK1 en, por ejemplo, métodos de detección basados en amplificación tales como reacción en cadena de la polimerasa basada en transcripción inversa (RT-PCR).
- 50 En un aspecto alternativo, el nivel de DKK1 se determina midiendo la cantidad de proteína DKK1 en una muestra biológica. Un método para determinar la cantidad de la proteína DKK1 en una muestra biológica incluye métodos de inmunoensayo. En un aspecto preferido, el inmunoensayo comprende un ELISA.
- Entonces se compara el nivel de DKK1 en la muestra biológica con un nivel de DKK1 asociado con una muestra de referencia, tal como una muestra control normal. La frase "nivel de control normal" se refiere al nivel de DKK1 encontrado normalmente en una muestra biológica de una población que no presenta cáncer. La muestra de
- 55 referencia es preferiblemente de una naturaleza similar a la de la muestra de prueba. Por ejemplo, si la muestra de

5 prueba comprende suero extraído de un paciente que se va a someter a diagnóstico o pronóstico, la muestra de referencia también debe ser suero. El nivel de DKK1 en las muestras biológicas de sujetos control y de prueba puede determinarse al mismo tiempo o, alternativamente, el nivel de control normal puede determinarse mediante un método estadístico basándose en los resultados obtenidos analizando el nivel de DKK1 en muestras previamente extraídas de un grupo control.

10 El nivel de DKK1 también puede usarse para monitorizar el transcurso del tratamiento de cáncer. En este método, se proporciona una muestra biológica de prueba de un sujeto que se somete a tratamiento para cáncer. Preferiblemente, el cáncer es cáncer de esófago y de pulmón. Preferiblemente, se obtienen múltiples muestras biológicas de prueba del sujeto en diversos puntos de tiempo antes, durante o después del tratamiento. El nivel de DKK1 en la muestra tras el tratamiento puede compararse entonces con el nivel de DKK1 en la muestra previa al tratamiento o, alternativamente, con una muestra de referencia (por ejemplo, un nivel de control normal). Por ejemplo, si el nivel de DKK1 tras el tratamiento es inferior al nivel de DKK1 previo al tratamiento, puede concluirse que el tratamiento fue eficaz. Asimismo, si el nivel de DKK1 tras el tratamiento es similar al nivel de DKK1 de control normal, también puede concluirse que el tratamiento fue eficaz.

15 Un tratamiento “eficaz” es uno que conduce a una reducción del nivel de DKK1 o una disminución del tamaño, prevalencia o potencial metastásico de cáncer en un sujeto. Cuando se aplica un tratamiento de manera profiláctica, “eficaz” significa que el tratamiento retrasa o previene la aparición de cáncer o alivia un síntoma clínico del cáncer. La evaluación del cáncer puede realizarse usando protocolos clínicos convencionales. Además, la eficacia de un tratamiento puede determinarse en asociación con cualquier método conocido para diagnosticar o tratar cáncer. Por ejemplo, el cáncer se diagnostica rutinariamente de manera histopatológica o identificando anomalías sintomáticas tales como tos crónica, ronquera, toser sangre, pérdida de peso, pérdida de apetito, dificultad para respirar, respiración sibilante, ataques repetidos de bronquitis o neumonía y dolor en el tórax.

20 Además, el presente método para diagnosticar cáncer también puede aplicarse para evaluar el pronóstico de un paciente con cáncer comparando el nivel de DKK1 en una muestra biológica derivada de un paciente con el de una muestra de referencia. Preferiblemente, el cáncer es cáncer de esófago y de pulmón. Alternativamente, el nivel de DKK1 en la muestra biológica puede medirse a lo largo de una gama de estadios de la enfermedad para evaluar el pronóstico del paciente. Un aumento en el nivel de DKK1 en comparación con un nivel de control normal indica un pronóstico menos favorable. Una similitud en el nivel de DKK1 en comparación con un nivel de control normal indica un pronóstico más favorable del paciente.

30 VII. Método para evaluar el pronóstico del cáncer

Según la descripción proporcionada con el presente documento, se descubrió recientemente que la expresión de DKK1 está significativamente asociada con un peor pronóstico de pacientes (véase la figura 2). Por tanto, en el presente documento se hace referencia a un método para determinar o evaluar el pronóstico de un paciente con cáncer, en particular, cáncer de esófago y de pulmón, detectando el nivel de expresión del gen de DKK1 en una muestra biológica del paciente; comparando el nivel de expresión detectado con un nivel de control; y determinando un aumento el nivel de expresión con respecto al nivel de control como indicativo de un mal pronóstico (mala supervivencia).

35 En el presente documento, el término “pronóstico” se refiere a una previsión en cuanto al posible desenlace de la enfermedad así como a la perspectiva de recuperación de la enfermedad según se indica por la naturaleza y los síntomas del caso. Por consiguiente, un pronóstico malo, negativo, menos favorable, se define por una tasa de supervivencia o plazo de supervivencia tras el tratamiento inferior. Por el contrario, un pronóstico bueno, positivo, favorable, se define por una tasa de supervivencia o plazo de supervivencia tras el tratamiento elevado.

40 La expresión “evaluar el pronóstico” se refiere a la capacidad de predecir, prever o correlacionar una detección o medición dada con un desenlace futuro del cáncer del paciente (por ejemplo, malignidad, posibilidad de curar el cáncer, supervivencia y similares). Por ejemplo, una determinación del nivel de expresión de DKK1 a lo largo del tiempo permite una predicción de un desenlace para el paciente (por ejemplo, aumento o disminución de la malignidad, aumento o disminución del grado de un cáncer, probabilidad de curar el cáncer, supervivencia y similares).

45 Tal como se usa en el presente documento, se pretende que la frase “evaluar (o determinar) el pronóstico” abarque predicciones y análisis de probabilidad del cáncer, progresión, particularmente recidiva de cáncer, expansión metastásica y recidiva de la enfermedad. El presente método para evaluar el pronóstico está previsto para usarse clínicamente en la toma de decisiones referentes a modalidades de tratamiento, incluyendo intervención terapéutica, criterios de diagnóstico tales como determinación del estadio de la enfermedad, y monitorización de la enfermedad y vigilancia para detectar metástasis o recidiva de enfermedad neoplásica.

50 La muestra biológica derivada de un paciente usada para el método puede ser cualquier muestra derivada del sujeto que va a evaluarse siempre que pueda detectarse el gen de DKK1 en la muestra. Preferiblemente, la muestra biológica comprende una célula de esófago y pulmonar (una célula obtenida del esófago y del pulmón). Además, la muestra biológica incluye fluidos corporales tales como esputo, sangre, suero, o plasma. Además, la muestra puede

ser células purificadas de un tejido. Las muestras biológicas pueden obtenerse a partir de un paciente en diversos puntos de tiempo, incluyendo antes, durante y/o después de un tratamiento.

Según la descripción proporcionada con el presente documento, se mostró que cuanto mayor es el nivel de expresión del gen de DKK1 medido en la muestra biológica derivada del paciente, peor es el pronóstico para la remisión, recuperación y/o supervivencia tras el tratamiento y mayor es la posibilidad de un mal desenlace clínico. Por tanto, según el presente método, el "nivel de control" usado para la comparación puede ser, por ejemplo, el nivel de expresión del gen de DKK1 detectado antes de cualquier clase de tratamiento en un individuo o una población de individuos que mostró un pronóstico de cáncer bueno o positivo, después del tratamiento, que se denominará en el presente documento "nivel de control de buen pronóstico". Alternativamente, el "nivel de control" puede ser el nivel de expresión del gen de DKK1 detectado antes de cualquier clase de tratamiento en un individuo o una población de individuos que mostró un pronóstico de cáncer malo o negativo, después del tratamiento, que se denominará en el presente documento "nivel de control de mal pronóstico". El "nivel de control" es un patrón de expresión individual derivado de una población de referencia individual o de una pluralidad de patrones de expresión. Por tanto, el nivel de control puede determinarse basándose en el nivel de expresión del gen de DKK1 detectado antes de cualquier clase de tratamiento en un paciente con cáncer, o una población de pacientes cuyo estado patológico (pronóstico bueno o malo) se conoce. Preferiblemente, el cáncer es cáncer de esófago y de pulmón. Se prefiere usar el valor estándar de los niveles de expresión del gen de DKK1 en un grupo de pacientes con un estado patológico conocido. El valor estándar puede obtenerse mediante cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, puede usarse un intervalo de media \pm D.E. o media \pm 3 D.E. como valor estándar.

El nivel de control puede determinarse al mismo tiempo con la muestra biológica de prueba usando una(s) muestra(s) previamente extraída(s) y almacenada(s) antes de cualquier clase de tratamiento de paciente(s) con cáncer (control o grupo control) cuyo estado patológico (buen pronóstico o mal pronóstico) se conoce.

Alternativamente, el nivel de control puede determinarse mediante un método estadístico basándose en los resultados obtenidos analizando el nivel de expresión del gen de DKK1 en muestras previamente extraídas y almacenadas de un grupo control. Además, el nivel de control puede ser una base de datos de patrones de expresión de células previamente sometidas a prueba. Además, según un aspecto dado a conocer en el presente documento, el nivel de expresión del gen de DKK1 en una muestra biológica puede compararse con múltiples niveles de control, niveles de control que se determinan a partir de múltiples muestras de referencia. Se prefiere usar un nivel de control determinado a partir de una muestra de referencia derivada de un tipo de tejido similar al de la muestra biológica derivada del paciente.

Según la presente descripción, una similitud en el nivel de expresión del gen de DKK1 con el nivel de control de buen pronóstico indica un pronóstico más favorable del paciente y un aumento en el nivel de expresión con respecto al nivel de control de buen pronóstico indica un pronóstico peor, menos favorable, para la remisión, recuperación, supervivencia y/o desenlace clínico tras el tratamiento. Por otro lado, una disminución en el nivel de expresión del gen de DKK1 con respecto al nivel de control de mal pronóstico indica un pronóstico más favorable del paciente y una similitud en el nivel de expresión con respecto al nivel de control de mal pronóstico indica un pronóstico peor, menos favorable, para la remisión, recuperación, supervivencia y/o desenlace clínico tras el tratamiento.

Un nivel de expresión del gen de DKK1 en una muestra biológica puede considerarse alterado cuando el nivel de expresión se diferencia del nivel de control en más de 1,0, 1,5, 2,0, 5,0, 10,0 o más veces. Alternativamente, un nivel de expresión del gen de DKK1 en una muestra biológica puede considerarse alterado cuando el nivel de expresión aumenta o disminuye con respecto al nivel de control en al menos el 10%, el 20%, el 30%, el 40%, el 50%, el 60%, el 80%, el 90% o más.

La diferencia en el nivel de expresión entre la muestra biológica de prueba y el nivel de control puede normalizarse con respecto a un control, por ejemplo, gen de mantenimiento. Por ejemplo, pueden usarse polinucleótidos cuyos niveles de expresión se sabe que no se diferencian entre células cancerosas y no cancerosas, incluyendo los que codifican para β -actina, gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, y proteína ribosómica P1, para normalizar los niveles de expresión del gen de DKK1.

El nivel de expresión puede determinarse detectando el transcrito génico en la muestra biológica derivada del paciente usando técnicas bien conocidas en la técnica. Los transcritos génicos detectados mediante el presente método incluyen tanto los productos de transcripción como de traducción, tales como ARNm y proteína.

Por ejemplo, el producto de transcripción del gen de DKK1 puede detectarse mediante hibridación, por ejemplo, análisis de hibridación de transferencia de tipo Northern, que usan una sonda de gen de DKK1 para el transcrito génico. La detección puede llevarse a cabo en un chip o un microalineamiento. El uso de un microalineamiento es preferible para detectar el nivel de expresión de una pluralidad de genes incluyendo el gen de DKK1. Como otro ejemplo, pueden emplearse métodos de detección basados en amplificación, tales como reacción en cadena de la polimerasa basada en transcripción inversa (RT-PCR) que usan cebadores específicos para el gen de DKK1, para la detección (véase el ejemplo). Los cebadores o la sonda específicos del gen de DKK1 pueden diseñarse y prepararse usando técnicas convencionales haciendo referencia a la secuencia completa del gen de DKK1 (SEQ ID NO: 109). Por ejemplo, los cebadores (SEQ ID NO: 74 y 111, 73 y 74) usados en el ejemplo pueden emplearse para

la detección mediante RT-PCR, pero la presente invención no se limita a los mismos.

Específicamente, una sonda o cebador usado para el presente método se hibrida en condiciones rigurosas, de rigurosidad moderada o de baja rigurosidad con el ARNm del gen de DKK1. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "condiciones (de hibridación) rigurosas" se refiere a condiciones en las que una sonda o cebador se hibridará con su secuencia diana, pero no con otras secuencias. Las condiciones rigurosas son dependientes de la secuencia y serán diferentes en circunstancias diferentes. Se observa la hibridación específica de secuencias más largas a temperaturas superiores que secuencias más cortas. Generalmente, la temperatura de una condición rigurosa se selecciona para ser aproximadamente 5°C inferior al punto de fusión térmica (T_f) para una secuencia específica a una fuerza iónica y pH definidos. La T_f es la temperatura (con una fuerza iónica, pH y concentración de ácido nucleico definidos) a la que el 50% de las sondas complementarias a la secuencia diana se hibridan con la secuencia diana en equilibrio. Dado que las secuencias diana están generalmente presentes en exceso, a la T_f, el 50% de las sondas están ocupadas en equilibrio. Normalmente, las condiciones rigurosas serán aquellas en las que la concentración de sal es inferior a aproximadamente 1,0 M de ión sodio, normalmente de aproximadamente 0,01 a 1,0 M de ión sodio (u otras sales) a pH de 7,0 a 8,3 y la temperatura es de al menos aproximadamente 30°C para sondas o cebadores cortos (por ejemplo, de 10 a 50 nucleótidos) y de al menos aproximadamente 60°C para sondas o cebadores más largos. También pueden lograrse condiciones rigurosas con la adición de agentes desestabilizantes, tales como formamida.

Alternativamente, puede detectarse el producto de traducción para la evaluación de la presente invención. Por ejemplo, puede determinarse la cantidad de la proteína DKK1. Un método para determinar la cantidad de la proteína como producto de traducción incluye métodos de inmunoensayo que usan un anticuerpo que reconoce específicamente la proteína DKK1. El anticuerpo puede ser monoclonal o policlonal. Además, puede usarse cualquier fragmento o modificación (por ejemplo, anticuerpo quimérico, scFv; Fab, F(ab')₂, Fv, etc.) del anticuerpo para la detección, siempre que el fragmento conserve la capacidad de unión a la proteína DKK1. En la técnica se conocen bien métodos para preparar estas clases de anticuerpos para la detección de proteínas, y puede emplearse cualquier método en la presente invención para preparar tales anticuerpos y equivalentes de los mismos.

Como otro método para detectar el nivel de expresión del gen de DKK1 basándose en su producto de traducción, puede observarse la intensidad de tinción mediante análisis inmunohistoquímico usando un anticuerpo frente a la proteína DKK1. Concretamente, la observación de fuerte tinción indica un aumento de la presencia de la proteína DKK1 y al mismo tiempo un alto nivel de expresión del gen de DKK1.

Además, se sabe que la proteína DKK1 tiene una actividad de proliferación celular. Por tanto, el nivel de expresión del gen de DKK1 puede determinarse usando tal actividad de proliferación celular como índice. Por ejemplo, se preparan células que expresan DKK1 y se cultivan en presencia de una muestra biológica, y después detectando la velocidad de proliferación, o midiendo el ciclo celular o la capacidad de formación de colonias, puede determinarse la actividad de proliferación celular de la muestra biológica.

Además, adicionalmente al nivel de expresión del gen de DKK1, también puede determinarse el nivel de expresión de otros genes asociados con células del esófago y pulmonares, por ejemplo, genes que se sabe que se expresan de manera diferencial en cáncer de esófago y de pulmón, para mejorar la precisión de la evaluación. Tales otros genes asociados con células pulmonares incluyen los descritos en los documentos WO 2004/031413 y WO 2005/090603.

El paciente que va a evaluarse para determinar el pronóstico de cáncer según el método es preferiblemente un mamífero e incluye ser humano, primate no humano, ratón, rata, perro, gato, caballo y vaca.

VIII. Un kit para evaluar el pronóstico de cáncer

En el presente documento se da a conocer un kit para evaluar el pronóstico de cáncer. Preferiblemente, el cáncer es cáncer de esófago y de pulmón. Específicamente, el kit comprende al menos un reactivo para detectar la expresión del gen de DKK1 en una muestra biológica derivada de un paciente, reactivo que puede seleccionarse del grupo de:

(a) un reactivo para detectar ARNm del gen de DKK1;

(b) un reactivo para detectar la proteína DKK1; y

(c) un reactivo para detectar la actividad biológica de la proteína DKK1.

Reactivos adecuados para detectar ARNm del gen de DKK1 incluyen ácidos nucleicos que se unen específicamente al, o identifican el, ARNm de DKK1, tales como oligonucleótidos que tienen una secuencia complementaria a una parte del ARNm de DKK1. Estas clases de oligonucleótidos se muestran a modo de ejemplo por cebadores y sondas que son específicos para el ARNm de DKK1. Estas clases de oligonucleótidos pueden prepararse basándose en métodos bien conocidos en la técnica. Si se necesita, el reactivo para detectar el ARNm de DKK1 puede inmovilizarse sobre una matriz sólida. Además, puede incluirse en el kit más de un reactivo para detectar el ARNm de DKK1.

5 Por otro lado, reactivos adecuados para detectar la proteína DKK1 incluyen anticuerpos frente a la proteína DKK1. El anticuerpo puede ser monoclonal o policlonal. Además, puede usarse cualquier fragmento o modificación (por ejemplo, anticuerpo quimérico, scFv, Fab, F(ab')₂, Fv, etc.) del anticuerpo como reactivo, siempre que el fragmento conserve la capacidad de unión a la proteína DKK1. En la técnica se conocen bien métodos para preparar estas clases de anticuerpos para la detección de proteínas, y puede emplearse cualquier método para preparar tales anticuerpos y equivalentes de los mismos. Además, el anticuerpo puede marcarse con moléculas generadoras de señal mediante enlace directo o una técnica de marcaje indirecto. En la técnica se conocen bien marcadores y métodos para marcar anticuerpos y detectar la unión de anticuerpos a sus dianas y puede emplearse cualquier marcador y método. Además, puede incluirse en el kit más de un reactivo para detectar la proteína DKK1.

10 Además, cuando se usa una célula que expresa LRP5/6 y Kremen como reactivo, la actividad biológica puede determinarse, por ejemplo, midiendo la actividad de proliferación celular debida a la proteína DKK1 expresada en proteína en el biológico. Por ejemplo, se cultiva la célula en presencia de una muestra biológica derivada de un paciente, y después detectando la velocidad de proliferación, o midiendo el ciclo celular o la capacidad de formación de colonias, puede determinarse la actividad de proliferación celular de la muestra biológica. Si se necesita, el reactivo para detectar el ARNm de DKK1 puede inmovilizarse sobre una matriz sólida. Además, puede incluirse en el kit más de un reactivo para detectar la actividad biológica de la proteína DKK1.

15 El kit puede comprender más de uno de los reactivos mencionados anteriormente. Además, el kit puede comprender una matriz sólida y reactivo para unirse a una sonda contra el gen de DKK1 o anticuerpo frente a la proteína DKK1, un medio y recipiente para cultivar células, reactivos de control positivo y negativo, y un anticuerpo secundario para detectar un anticuerpo frente a la proteína DKK1. Por ejemplo, muestras tisulares obtenidas de un paciente con buen pronóstico o mal pronóstico pueden servir como reactivos de control útiles. Un kit de la presente invención puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, incluyendo tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringuillas y prospectos (por ejemplo, por escrito, en cinta magnética, CD-ROM, etc.) con instrucciones de uso. Estos reactivos y similares pueden estar comprendidos en un recipiente con una etiqueta. Recipientes adecuados incluyen botellas, viales y tubos de ensayo. Los recipientes pueden formarse a partir de una variedad de materiales, tales como vidrio o plástico.

20 En un aspecto, cuando el reactivo es una sonda contra el ARNm de DKK1, el reactivo puede inmovilizarse sobre una matriz sólida, tal como una tira porosa, para formar al menos un sitio de detección. La región de medición o detección de la tira porosa puede incluir una pluralidad de sitios, conteniendo cada uno un ácido nucleico (sonda). Una tira de prueba también puede contener sitios para controles negativos y/o positivos. Alternativamente, pueden ubicarse sitios de control en una tira separada de la tira de prueba. Opcionalmente, los diferentes sitios de detección pueden contener diferentes cantidades de ácidos nucleicos inmovilizados, es decir, una cantidad superior en el primer sitio de detección y cantidades menores en sitios posteriores. Tras la adición de muestra de prueba, el número de sitios que presentan una señal detectable proporciona una indicación cuantitativa de la cantidad de ARNm de DKK1 presente en la muestra. Los sitios de detección pueden configurarse en cualquier forma detectable de manera adecuada y normalmente están en forma de una barra o punto que abarca el ancho de una tira de prueba.

35 El kit dado a conocer en el presente documento puede comprender además una muestra control positiva o una muestra patrón de DKK1. La muestra control positiva de la presente invención puede prepararse extrayendo muestras de sangre positivas para DKK1 y después se someten a ensayo esos niveles de DKK1. Adicionalmente, puede añadirse polinucleótido o proteína DKK1 purificada al suero libre de DKK1 para formar la muestra positiva o el patrón de DKK1. DKK1 purificada puede ser una proteína recombinante. El nivel de DKK1 de la muestra control positiva es, por ejemplo, más del valor de corte.

40 A continuación en el presente documento, la presente invención se describe con más detalle mediante referencia a los ejemplos. Sin embargo, los siguientes materiales, métodos y ejemplos sólo ilustran aspectos de la invención y no se pretende de ninguna manera que limiten el alcance de la presente invención. Como tales, en la práctica o las pruebas de la presente invención pueden usarse métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento.

Ejemplos

50 Ejemplo 1:

Materiales y métodos

Líneas celulares:

55 Las 10 líneas celulares de ESCC humano y una línea celular de carcinoma faríngeo usadas en el presente documento incluyeron 10 carcinomas de células escamosas (SCC; TE1, TE2, TE3, TE4, TE5, TE6, TE8, TE9, TE10 y FaDu), y un adenocarcinoma (ADC; TE7). Las 25 líneas celulares de cáncer de pulmón humano usadas en este estudio incluyeron nueve adenocarcinomas (ADC), A427, A549, LC319, PC-3, PC-9, PC-14, NCI-H1373, NCI-H1666 y NCI-H1781, dos carcinomas adenoescamosos (ASC), NCI-H226, NCI-H647, siete carcinomas de células escamosas (SCC), EBC-1, LU61, NCI-H520, NCI-H1703, NCI-H2170, RERF-LC-AI y SK-MES-1, un carcinoma de

células grandes (LCC), LX1 y seis cánceres de pulmón de células pequeñas (SCLC), DMS114, DMS273, SBC-3, SBC-5, NCI-H196 y NCI-H446. Todas las células se hicieron crecer en monocapas en medios apropiados complementados con suero bovino fetal al 10% (FCS) y se mantuvieron a 37°C en una atmósfera de aire humidificado con CO₂ al 5%.

5 **Muestras tisulares y microdissección:**

Se obtuvieron muestras tisulares de ESCC (n=19) y de esófago normal (n=5) de muestras quirúrgicas con consentimiento informado. Este estudio y el uso de todos los materiales clínicos mencionados se aprobaron por comités éticos institucionales individuales. Patólogos han confirmado histológicamente todos los tejidos cancerosos como carcinoma de células escamosas del esófago. Se obtuvo información clínica de historias médicas (cinco mujeres y 14 hombres; mediana de edad 66,6 con un intervalo de 51-76 años). Se consideró el estadio clínico según la clasificación de TNM de la UICC. Los tejidos de esófago normales se observaron como un epitelio patológicamente normal, y sin displasia. Todas las muestras se recogieron inmediatamente tras la resección quirúrgica y se introdujeron en medio TissueTek OCT (Sakura, Tokio, Japón) antes del almacenamiento a -80°C. Estos tejidos congelados se cortaron en cortes de 8 µm usando un criostato (Sakura, Tokio, Japón) y luego se tiñeron con hematoxilina y eosina para el examen histológico. Se recogieron selectivamente células de ESCC y células epiteliales esofágicas normales usando el sistema de corte EZ con un láser de enfoque de haz estrecho ultravioleta pulsado (SL Microtest GmbH, Alemania) según los protocolos del fabricante.

Para obtener perfiles de expresión precisos de células de ESCC, se empleó LMM para evitar la contaminación de las muestras por células no cancerosas. Tras la microdissección, se mezclaron las cinco células epiteliales esofágicas normales para obtener un "control universal" para hibridación por microalineamiento. La figura 1 muestra las imágenes microscópicas de cánceres representativos (A) antes y tras la microdissección (B) y células cancerosas disecadas (C).

Células epiteliales de vías respiratorias pequeñas (SAEC) humanas usadas como control normal se hicieron crecer en medio optimizado (SAGM) adquirido de Cambrex Bio Science Inc. Quince muestras de cáncer de pulmón primario, de las que 5 se clasificaron como ADC, 5 como SCC y 5 como SCLC, así como 10 muestras tisulares de ESCC primario se han obtenido de manera temprana con consentimiento informado (Kikuchi *et al.*, *Oncogene*. 10 de abril de 2003; 22(14):2192-205, Yamabuki *et al.*, *Int J Oncol*. Junio de 2006; 28(6):1375-84). Se consideró el estadio clínico según la clasificación de TNM de la UICC (Sobin *et al.*, *TNM Classification of Malignant Tumours*, 6ª edición. Nueva York: Wiley-Liss, Inc., 2002). Se han obtenido muestras de tumores de pulmón primarios fijados con formalina y tejido pulmonar normal adyacente usadas para inmunotinción en microalineamientos de tejido de 279 pacientes (161 ADC, 96 SCC, 18 LCC, 4 ASC; 96 mujeres y 183 hombres; mediana de edad 63,3 con un intervalo de 26 - 84 años) que se sometieron a cirugía en el Saitama Cancer Center (Saitama, Japón), y en la Universidad de Hokkaido y sus hospitales afiliados (Sapporo, Japón). También se han obtenido un total de 220 ESCC primarios fijados con formalina (18 mujeres y 202 hombres; mediana de edad 61,4 con un intervalo de 42 - 81 años) y muestras de tejido esofágico normales adyacentes de pacientes que se sometieron a cirugía. Este estudio y el uso de todos los materiales clínicos mencionados se aprobaron por comités éticos institucionales individuales.

Muestras séricas:

Se obtuvieron muestras séricas con consentimiento informado por escrito de 220 individuos control sanos (179 hombres y 41 mujeres; mediana de edad, 50,2 ± 6,8 DE; intervalo, 31 - 61 años) que no mostraban anomalías en los recuentos de células en sangre completa, proteína C reactiva, tasas de sedimentación de eritrocitos, pruebas de función hepática, pruebas de función renal, análisis de orina, exámenes fecales, rayos X de tórax, o electrocardiogramas. También se obtuvieron muestras séricas con consentimiento informado de 94 pacientes con cáncer de pulmón (72 hombres y 22 mujeres; mediana de edad, 65,5 ± 12,3 DE; intervalo, 30 - 86 años) ingresados en el Hospital Universitario de Hiroshima y en sus hospitales afiliados, 139 pacientes con cáncer de pulmón incluidos como parte del Japanese Project for Personalized Medicine (proyecto japonés para medicina personalizada) (BioBank Japan; 100 hombres y 39 mujeres; mediana de edad, 64,5 ± 8,8 DE; intervalo, 41 - 89 años). Estos 233 casos de cáncer de pulmón incluyeron 106 ADC, 56 SCC y 71 SCLC. También se obtuvieron muestras séricas con consentimiento informado de 67 pacientes con ESCC que se registraron en el mismo proyecto de BioBank Japan (55 hombres y 12 mujeres; mediana de edad, 63,8 ± 6,3 DE; intervalo, 46 - 74 años). Estas muestras séricas de 300 pacientes con cáncer en total se seleccionaron para el estudio basándose en los siguientes criterios: (a) los pacientes estaban recién diagnosticados y no se habían tratado previamente y (b) sus tumores se habían diagnosticado patológicamente como cánceres de pulmón o de esófago (estadios I - IV). Se obtuvo el suero en el momento del diagnóstico y se almacenó a -80°C. Los registros clinicopatológicos se documentaron completamente.

Microalineamiento de ADNc:

Se fabricó un microalineamiento de ADNc en todo el genoma con 32.256 ADNc seleccionados de la base de datos UniGene (construcción n.º 131) del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Este sistema de microalineamiento se construyó esencialmente tal como se describió anteriormente (Ono *et al.*, *Cancer Res*. 2000;60(18):5007-11). En resumen, se amplificaron los ADNc mediante RT-PCR usando ARN-poli (A) aislados de diversos órganos humanos como moldes; las longitudes de los amplicones oscilaron desde 200 hasta 1100 pb, sin

ninguna secuencia repetitiva o poli (A).

Extracción de ARN, amplificación de ARN basada en T7 e hibridación:

5 Se extrajeron ARN totales de cada muestra de células microdisecadas con láser en 350 μ l de tampón de lisis RLT (QIAGEN, Hilden, Alemania). Se trataron los ARN extraídos durante 30 min. a temperatura ambiente con 30 U de ADNasa I (Roche, Basilea, Suiza) en presencia de 1 U de inhibidor de ARNasa (TOYOBO, Osaka, Japón) para eliminar cualquier ADN genómico contaminante. Tras la inactivación a 70°C durante 10 min., se purificaron los ARN con un kit RNeasy Mini (QIAGEN) según las recomendaciones del fabricante. Todos los ARN tratados con ADNasa I se sometieron a amplificación de ARN basada en T7; dos rondas de amplificación dieron 50-100 μ g de ARNa de cada muestra. Luego se marcaron alícuotas de 2,5 μ g de ARNa de células de cáncer o células epiteliales esofágicas normales mediante transcripción inversa con Cy5-dCTP o Cy3-dCTP (GE Healthcare/Amersham Biosciences Corp.), respectivamente, tal como se describió en otra parte (Ono *et al.*, Cancer Res. 2000;60(18):5007-11). También se llevaron a cabo hibridación, lavado y exploración según los métodos descritos anteriormente (Ono *et al.*, Cancer Res. 2000;60(18):5007-11).

Análisis de los datos:

15 Se cuantificaron las intensidades de señal de Cy3 y Cy5 de las 32.256 manchas y se analizaron mediante fondos de sustitución, usando el software ArrayVision (Imaging Research, Inc., St Catharines, Ontario, Canadá). Posteriormente, se ajustaron las intensidades fluorescentes de Cy5 (tumor) y Cy3 (control) para cada punto diana de manera que la razón media Cy3/Cy5 de 52 genes de mantenimiento en el microalineamiento fue igual a uno. Dado que los datos derivados de intensidades de señal baja son menos fiables, se determinó un valor de punto de corte en cada portaobjetos tal como se describió anteriormente (Ono *et al.*, Cancer Res. 2000; 60(18): 5007-11) y se excluyeron los genes de análisis adicional cuando tanto las tinciones con Cy3 como con Cy5 dieron intensidades de señal menores al punto de corte (Saito-Hisaminato *et al.*, DNA Res. 2002;9(2):35-45). Para otros genes, se calculó la razón Cy5/Cy3 usando los datos sin procesar de cada muestra.

RT-PCR semicuantitativa:

25 Se seleccionaron genes altamente regulados por incremento y se examinaron sus niveles de expresión por medio de experimentos de RT-PCR semicuantitativa. Se sometieron a transcripción inversa un total de alícuota de 3 μ g de ARNa de cada muestra para obtener ADNc monocatenario usando un cebador aleatorio (Roche) y Superscript II (Invitrogen). Se diluyó cada mezcla de ADNc para la amplificación por PCR posterior con el mismo conjunto de cebadores que se preparó para las reacciones específicas de beta-actina (ACTB) o ADN diana. (La secuencia del cebador se muestra en la tabla 3). La expresión de ACTB sirvió como control interno. Se optimizaron las reacciones de PCR para el número de ciclos para garantizar la intensidad del producto dentro de la fase lineal de amplificación.

Análisis de transferencia de tipo Northern:

35 Para el análisis de transferencia de tipo Northern, se hibridaron múltiples transferencias de tipo Northern de tejido humano (BD Bioscience, Palo Alto, CA) con un producto de PCR de ECT2 de 269 pb marcado con [α -³²P]-dCTP (C9098) que se preparó como una sonda mediante transcripción inversa-PCR (RT-PCR) usando los cebadores

5'-CAATTTTCCCATGGTCTTATCC-3' (SEQ ID NO; 1) y

5'-GCGTTTTCAAGATCTAGCATGTG-3' (SEQ ID NO; 2). Se preparó el producto de PCR de CDC45L de 1019 pb (A2466) como una sonda mediante transcripción inversa-PCR (RT-PCR) usando los cebadores

5'-ATGAGGAGAACACACTCTCCGT-3' (SEQ ID NO; 3) y

40 5'-GCTTCTACATCTCAAATCATGTCC-3' (SEQ ID NO; 4). Se preparó el producto de PCR de DKK1 de 776 pb como una sonda usando los cebadores 5'-CATCAGACTGTGCCTCAGGA-3' (SEQ ID NO: 111) y 5'-CAAAACTATCACAGCCTAAAGGG-3' (SEQ ID NO: 74).

Se realizaron pre-hibridación, hibridación y lavado siguiendo las especificaciones del fabricante. Las transferencias se sometieron a autorradiografía con pantallas de intensificación a -80°C durante 7 días.

Ensayo de interferencia por ARN:

50 Para evaluar las funciones biológicas de ECT2 y CDC45L en las células cancerosas, se usó un vector psiH1BX3.0 para la expresión de ARN en horquilla pequeño frente al gen diana, tal como se describió anteriormente (Shimokawa T, *et al.*, Cancer Res. 2003;63(19):6116-20). Se clonó el promotor H1 en el sentido de 5' de la secuencia específica del gen (secuencia de 19 nucleótidos del transcrito diana, separada del complemento inverso de la misma secuencia por un espaciador corto, TTCAAGAGA (SEQ ID NO; 5)), con cinco timiditas como señal de terminación y un neo-casete para la selección mediante Geneticin (Sigma). Las secuencias diana de los oligonucleótidos sintéticos para el iARN fueron los siguientes: control 1 (EGFP: gen de proteína fluorescente verde (GFP) potenciado, un mutante de GPF de *Aequorea victoria*), 5'-GAAGCAGCACGACTTCTTC-3' (SEQ ID NO; 6); control 2 ((SCR) reorganizado al

azar: gen de cloroplasto de *Euglena gracilis* que codifica para ARNr 5S y 16S), 5'-GCGCGCTTTGTAGGATTCG-3' (SEQ ID NO; 7);

si-ECT2-1, 5'-GATGCACTCACCTTGTAGT-3' (SEQ ID NO; 8);

si-ECT2-2, 5'-GGCAAATACTCCTGAGCTC-3'; (SEQ ID NO; 9)

5 si-CDC45L-1, 5'-GAGACATCCTCTTTGACTA-3 ; (SEQ ID NO; 10)

10 si-CDC45L-2, 5'-CAGACCAGTGGGTGCAAGA-3' (SEQ ID NO; 11). Se sembraron en placa células FaDu y TE9 en placas de 10 cm (1,5 x 10⁶ células por placa), y se transfectaron con vectores psiH1BX que incluían las secuencias diana para EGFP, SCR, ECT2 y CDC45L, usando Lipofectamine 2000 (Invitrogen), según las instrucciones del fabricante. Se seleccionaron las células en medio que contenía 1 mg/ml de Geneticin (Invitrogen) durante 7 días y se recogieron tras 4 días para el análisis de RT-PCR de efectos de silenciamiento en genes individuales. Los cebadores para estos experimentos de RT-PCR fueron los mismos que los descritos anteriormente. Tras 7 días de incubación, se tiñeron estas células mediante disolución Giemsa para evaluar la formación de colonias, y se evaluaron los números de células mediante ensayo con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT).

15 **Inmunotransferencia de tipo Western:**

Se lisaron tejidos o células tumorales en tampón de lisis; Tris-HCl 50 mM (pH 8,0), NaCl 150 mM, NP40 al 0,5%, desoxicolato sódico al 0,5% y conjunto de cócteles de inhibidores de proteasa III (Calbiochem). Se determinó el contenido en proteínas de cada lisado mediante un ensayo de proteínas de Bio-Rad (Bio-Rad, Hercules, CA) con albúmina sérica bovina (BSA) como patrón. Se resolvieron diez microgramos de cada lisado en un gel de poliacrilamida desnaturizante a del 10% al 12% (con gel de apilamiento de poliacrilamida al 3%) y se transfirieron electroforéticamente a una membrana de nitrocelulosa (GE Healthcare Bio-sciences). Tras bloquear con leche en polvo desnatada al 5% en TBST, se incubó la membrana con anticuerpos primarios durante 1 hora a temperatura ambiente. Se incubaron las proteínas inmunorreactivas con anticuerpos secundarios conjugados con peroxidasa de rábano (GE Healthcare Bio-sciences) durante 1 hora a temperatura ambiente. Tras el lavado con TBST, se revelaron los reactivos usando el kit de quimioluminiscencia potenciado (GE Healthcare Bio-sciences). Se demostró que un anticuerpo policlonal de conejo disponible comercialmente frente a DKK1 humana (n.º de catálogo sc-25516, Santa Cruz, CA) era específico frente a DKK1 humana, mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western usando lisados de tejidos y líneas celulares de NSCLC y ESCC así como tejidos normales (véase la figura 2).

20 **Análisis inmunocitoquímico:**

30 Se sembraron células en portaobjetos de vidrio (Becton Dickinson Labware, Franklin Lakes, NJ), se fijaron con paraformaldehído al 4% y se permeabilizaron con Triton X-100 al 0,1% en PBS durante 3 minutos a temperatura ambiente. Se bloqueó la unión no específica mediante CASBLOCK (ZYMED) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Entonces se incubaron las células durante 60 minutos a temperatura ambiente con anticuerpos primarios diluidos en PBS que contenía BSA al 3%. Tras lavarse con PBS, se tiñeron las células mediante anticuerpo secundario conjugado con FITC (Santa Cruz) durante 60 minutos a temperatura ambiente. Tras otro lavado con PBS, se montó cada muestra con Vectashield (Vector Laboratories, Inc, Burlingame, CA) que contenía diclorhidrato de 4',6'-diamidin-2'-fenilindol (DAPI) y se visualizó con sistemas de exploración confocal espectral (TSC SP2 AOBs: Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania).

35 **Inmunohistoquímica y microalineamiento de tejido:**

40 Para investigar la presencia de proteína DKK1 en muestras clínicas que se habían embebido en bloques de parafina, los presentes inventores tiñeron los cortes de la siguiente forma. En resumen, se añadieron 3,3 mg/ml de un anticuerpo policlonal de conejo anti-DKK1 humana (Santa Cruz) a cada portaobjetos tras el bloqueo de las proteínas y la peroxidasa endógenas, y se incubaron los cortes con anticuerpo anti-IgG de conejo marcado con peroxidasa de rábano (Histofine Simple Stain MAX PO (G), Nichirei, Tokio, Japón) como el anticuerpo secundario. Se añadió sustrato-cromógeno y se contratiñeron las muestras con hematoxilina. Se construyeron microalineamientos de tejido tumoral con 220 cánceres de esófago primarios y 279 cánceres de pulmón primarios fijados con formalina, tal como se describió en otra parte (Chin *et al.*, Mol Pathol. Octubre de 2003; 56(5):275-9; Callagy *et al.*, Diagn Mol Pathol. Marzo de 2003; 12(1):27-34, J Pathol. Febrero de 2005; 205(3):388-96). Se seleccionó el área tisular para la toma de muestras basándose en el alineamiento visual con el corte teñido con H y E correspondiente en un portaobjetos. Se colocaron tres, cuatro o cinco núcleos de tejido (diámetro, 0,6 mm; profundidad, 3 - 4 mm) tomados de un bloque de tumor de donador en un bloque de parafina receptor con un dispositivo de microalineamiento tisular (Beecher Instruments, Sun Prairie, WI). Se perforó un núcleo de tejido normal de cada caso y se usaron cortes de 5 µm del bloque de microalineamiento resultante para el análisis inmunohistoquímico. Tres investigadores independientes evaluaron de manera semicuantitativa la positividad para DKK1 sin conocimiento previo de los datos clinicopatológicos, tal como se notificó anteriormente (Suzuki *et al.*, Cancer Res. 15 de diciembre de 2005; 65(24):11314-25; Ishikawa *et al.*, Clin Cancer Res. 15 de diciembre de 2004; 10(24):8363-70, Cancer Res. 15 de octubre de 2005; 65(20):9176-84; Kato *et al.*, Cancer Res. 1 de julio de 2005; 65(13):5638-46; Furukawa *et al.*, Cancer Res. 15 de agosto de 2005; 65(16):7102-10). Se evaluó la intensidad de la

tinción de DKK1 usando los siguientes criterios: fuerte positiva (puntuada como 2+), tinción marrón oscuro en más del 50% de las células tumorales que oscureció completamente el citoplasma; débil positiva (1+), cualquier grado inferior de tinción marrón apreciable en el citoplasma de la célula tumoral; ausente (puntuada como 0), sin tinción apreciable en células tumorales. Los casos se aceptaron como fuertemente positivos sólo si los revisores los definieron independientemente como tal.

Análisis estadístico:

Se realizaron análisis estadísticos usando el programa estadístico StatView (SaS, Cary, NC). Se calcularon curvas de supervivencia específicas de tumor desde la fecha de la cirugía hasta el momento del fallecimiento relacionado con NSCLC o ESCC, o hasta la última observación de seguimiento. Se calcularon curvas de Kaplan-Meier para cada variable relevante y para la expresión de DKK1; se analizaron las diferencias en los tiempos de supervivencia entre subgrupos de pacientes usando la prueba de rangos logarítmicos. Se realizaron análisis de una variable o de múltiples variables con el modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox para determinar asociaciones entre las variables clinicopatológicas y la mortalidad relacionada con el cáncer. En primer lugar, los presentes inventores analizaron las asociaciones entre el fallecimiento y posibles factores de pronóstico incluyendo edad, sexo, histología, clasificación de pT y clasificación de pN teniendo en cuenta un factor cada vez. En segundo lugar, se aplicó el análisis de múltiples variables de Cox en procedimientos anteriores (por etapas) que siempre forzaban una fuerte expresión de DKK1 en el modelo, junto con todas las variables que satisfacían un nivel de entrada de un valor de P inferior a 0,05. Puesto que el modelo continuaba añadiendo factores, los factores independientes no superaron un nivel de salida de $P < 0,05$.

ELISA:

Se midieron los niveles séricos de DKK1 mediante el sistema de ELISA que se había construido originalmente. En primer lugar, se añadió un anticuerpo policlonal de conejo específico para DKK1 (Santa Cruz) a una microplaca de 96 pocillos (Apogent, Dinamarca) como anticuerpo de captura y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente. Tras eliminar por lavado cualquier anticuerpo no unido, se añadió BSA al 5% a los pocillos y se incubaron durante 16 horas a 4°C para el bloqueo. Tras un lavado, se añadieron sueros diluidos 3 veces a los pocillos y se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente. Tras eliminar por lavado cualquier sustancia no unida, se añadió un anticuerpo policlonal biotinilado específico para DKK1 usando el kit de marcado Biotina-NH₂ (Dojindo Molecular Technologies, Inc.) a los pocillos como anticuerpo de detección y se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente. Tras un lavado para eliminar cualquier reactivo enzimático-anticuerpo no unido, se añadió, HRP-estreptavidina a los pocillos y se incubaron durante 20 minutos. Tras un lavado, se añadió una disolución de sustrato (R&D Systems, Inc.) a los pocillos y se dejó que reaccionara durante 30 minutos. Se detuvo la reacción añadiendo 100 µl de ácido sulfúrico 2 N. Se determinó la intensidad del color mediante un fotómetro a una longitud de onda de 450 nm, con una longitud de onda de referencia de 570 nm. Se midieron los niveles de CEA en suero mediante ELISA con un kit de prueba de enzimas disponible comercialmente (HOPE Laboratories, Belmont, CA), según las recomendaciones del proveedor. Se midieron los niveles de ProGRP en suero mediante ELISA con un kit de prueba de enzimas disponible comercialmente (TFB, Tokio, Japón), según el protocolo del fabricante. Se analizaron las diferencias en los niveles de DKK1, CEA y proGRP entre los grupos de tumor y un grupo control sano mediante pruebas U de Mann-Whitney. Se evaluaron adicionalmente los niveles de DKK1, CEA y ProGRP mediante análisis de la curva de características operativas del receptor (ROC) para determinar los niveles de punto de corte con razones de probabilidad y exactitud de diagnóstico óptimas. Se calcularon los coeficientes de correlación entre DKK1 y CEA/proGRP con la correlación de rangos de Spearman. Se definió la significación como $P < 0,05$.

Plásmidos de expresión de DKK1:

Se generaron constructos de una forma de tipo natural y una forma mutante puntual de DKK1 marcada con FLAG en el extremo C-terminal con la asparagina 256 cambiada por alanina, tal como se notificó en otra parte (Suzuki *et al.*, Cancer Res. 15 de diciembre de 2005; 65(24):11314-25). Se usaron células COS-7 transfectadas o bien con plásmidos marcados con p3XFLAG que expresan DKK1 (tipo natural o mutante puntual) o bien con plásmidos vacíos para los análisis de inmunotransferencia de tipo Western.

Ensayo de invasión en Matrigel:

Se transfectaron células NIH3T3 y COS-7 o bien con plásmidos marcados con p3XFLAG (extremo C-terminal) que expresan DKK1 o bien con plásmidos vacíos que se habían hecho crecer hasta casi la confluencia en medio DMEM que contenía FCS al 10%. Se recogieron las células mediante tripsinización, se lavaron en medio DMEM sin adición de suero o inhibidor de proteinasa, y se suspendieron en medio DMEM a 1×10^5 células/ml. Antes de preparar la suspensión celular, se rehidrató la capa seca de matriz Matrigel (Becton Dickinson Labware) con medio DMEM durante 2 horas a temperatura ambiente. Se añadió medio DMEM (0,75 ml) que contenía FCS al 10% a cada cámara inferior en cámaras de invasión Matrigel de 24 pocillos, y se añadieron 0,5 ml (5×10^4 células) de suspensión celular a cada inserto de la cámara superior. Se incubaron las placas de insertos durante 24 horas a 37°C. Tras la incubación, se procesaron las cámaras; las células que invadían a través de Matrigel se fijaron y se tiñeron mediante Giemsa según las indicaciones del proveedor (Becton Dickinson Labware).

Ejemplo 2:

Genes comúnmente regulados por incremento/disminución en ESCC

Se identificaron los genes comúnmente regulados por incremento y disminución en ESCC según los siguientes criterios: (1) genes para los que se disponía de datos de expresión en más del 50% (al menos 10 de los 19 casos) de los cánceres examinados; y (2) genes cuya razón de expresión era superior a 3,0 en células de ESCC (definidos como genes regulados por incremento) en más del 40% de los casos informativos o genes cuya razón de expresión era inferior a 0,33 (definidos como genes regulados por disminución) en más del 50% de los casos informativos. En la tabla 1 se enumeran un total de 727 genes comúnmente regulados por disminución en ESCC, mientras que en la tabla 2 se enumeran 816 genes comúnmente regulados por incremento.

Para validar los datos de expresión obtenidos mediante análisis de microalineamiento, se realizaron experimentos de RT-PCR semicuantitativa para los genes que estaban altamente sobreexpresados en casi todos los casos informativos. Entre los candidatos anteriores, se seleccionaron 38 genes (C1948, A9371, E0341, A3097, A2735, A5065, D9504, C6209, B3827, A4513, E0556, A8172, A3802, C8926, A9723, G3996, F5946, B7534, A7296, A8487, C9490, C9858, E0133, A7856, A7608, A7908, C9098, C9517, C9046, A8335, C9016, A6598, B4161, E2191, B6125N, D8457, B8814 y A2466) y se confirmó su patrón de expresión génica en tejidos tumorales y normales usando RT-PCR semicuantitativa (figura 2). Los resultados de los experimentos de RT-PCR concordaron de manera exclusiva con los datos de microalineamiento en los casos sometidos a prueba.

Ejemplo 3:

Genes asociados con metástasis de los ganglios linfáticos o recidiva tras cirugía.

Para detectar las relaciones entre los perfiles de expresión génica y las características clinicopatológicas, los presentes inventores buscaron genes que estaban posiblemente asociados con metástasis de los ganglios linfáticos, un factor importante en la determinación del pronóstico de un paciente.

Se escogieron genes asociados con características clinicopatológicas, tales como metástasis de los ganglios linfáticos positiva (ganglio linfático positivo) (r) y ganglio linfático negativo (n), recidiva positiva (r) y recidiva negativa (n), según dos criterios: (i) las intensidades de señal son superiores al valor de punto de corte en al menos el 80% de los casos; y (ii) $|Medr - Medn| \geq 0,5$, donde Med indica la mediana de la derivada de las razones de expresión relativa transformadas logarítmicamente en dos grupos. Se seleccionaron los genes como candidatos cuando cumplieran los criterios con un valor de P de permutación menor de 0,05 en cada estado clinicopatológico.

Para empezar, se examinaron los perfiles de expresión y el estado de metástasis de los ganglios linfáticos usando 13 casos de ganglio linfático positivo y seis de ganglio linfático negativo. Se aplicó una prueba de permutación aleatoria para identificar genes que se expresaban de manera diferente en los dos grupos. Se calcularon la media (μ) y la desviación estándar (σ) de las razones de expresión relativa transformadas logarítmicamente de cada gen en los casos de ganglio linfático positivo (r) y ganglio linfático negativo (n), recidiva positiva (r) y recidiva negativa (n), respectivamente. Se definió una puntuación de discriminación (PD) para cada gen de la siguiente forma:

$$DS = (\mu_r - \mu_n) / (\sigma_r + \sigma_n)$$

Se llevaron a cabo pruebas de permutación para estimar la capacidad de los genes individuales para distinguir entre dos grupos; se permutaron aleatoriamente las muestras entre las dos clases 10.000 veces. Puesto que el conjunto de datos de PD de cada gen mostró una distribución normal, los presentes inventores calcularon un valor de P para el agrupamiento definido por el usuario (Golub *et al.*, Science. 1999;286(5439):531-7).

En el presente documento, se utilizaron los datos de expresión de 19 casos que consistían en 13 casos de ganglio linfático positivo y 6 de ganglio linfático negativo, y los de 19 casos que consistían en seis casos de recidiva positiva y 13 casos de recidiva negativa. Los análisis dieron como resultado la identificación de 136 genes que se asociaron con el estado de los ganglios linfáticos mediante una permutación aleatoria (valor de P <0,05). De estos, 59 genes estaban regulados por disminución (tabla 4), y 77 genes estaban regulados relativamente por incremento (tabla 5) en tumores de ganglio linfático negativo (figura 6). Además, se compararon los perfiles de expresión de seis casos con recidiva con los de 13 casos sin recidiva tras cirugía durante periodos de observación de 32 meses. Los sitios de recidiva incluyeron ganglios linfáticos regionales, de pulmón y locales. Se identificaron 37 genes que mostraron patrones de expresión alterados únicamente en los casos que tenían recidiva: 28 de ellos (tabla 7) estaban regulados relativamente por incremento 9 de ellos (tabla 6) estaban regulados relativamente por disminución en tumores (figura 7). Los análisis de agrupamiento jerárquico supervisados usando estos conjuntos de genes identificados también pudieron clasificar claramente los grupos con respecto al estado de los ganglios linfáticos o a los que tienen recidiva (figuras 6 y 7).

Ejemplo 4: ECT2

El análisis de transferencia tipo Northern usando un fragmento de ADNc de ECT2 como sonda identificó un

transcrito de 4,3 kb que se expresaba sólo en testículo; no se observó expresión en ningún otro órgano examinado. Se pensó que ECT2 codificaba para un antígeno de cáncer de testículo (CTA) (figura 3A).

Para evaluar si ECT2 desempeña un papel en el crecimiento o la supervivencia de células cancerosas, se diseñaron y construyeron plásmidos para expresar ARNip frente a ECT2 (si-ECT2-1 (n.º 1) y -2 (n.º 2)), junto con dos plásmidos control diferentes (ARNip para EGFP y SCR), y se transfectaron con ellos células TE9 que expresaban endógenamente altos niveles de ECT2 para suprimir la expresión de ECT2 endógeno. La cantidad de ARNm de ECT2 en las células transfectadas con si-ECT2-1 y si- ECT2-2 disminuyó significativamente en comparación con las células transfectadas con cualquiera de los dos ARNip control (figura 4A). De acuerdo con su efecto supresor sobre los niveles de ECT2, si-ECT2-1 y si-ECT2-2 transfectados produjeron disminuciones significativas en los números de colonias y en la viabilidad celular medida mediante ensayos de MTT y formación de colonias (figuras 4B y 4C). Se observaron efectos similares en la línea celular FaDu (datos no mostrados).

Ejemplo 5: CDC45L

El análisis de transferencia tipo Northern usando un fragmento de ADNc de CDC45L como sonda identificó un transcrito de 2,2 kb que se expresaba sólo en testículo; no se observó expresión en ningún otro órgano examinado. Se pensó que CDC45L codificaba para un antígeno de cáncer de testículo (CTA) (figura 3B).

Para evaluar si CDC45L desempeña un papel en el crecimiento o la supervivencia de células cancerosas se diseñaron y construyeron plásmidos para expresar ARNip frente a CDC45L (si-CDC45L-1 (n.º 1) y -2 (n.º 2)), junto con dos plásmidos control diferentes (ARNip para EGFP y SCR), y se transfectaron con ellos células FaDu que expresaban endógenamente altos niveles de CDC45L para suprimir la expresión de CDC45L endógeno. La cantidad de ARNm de CDC45L en las células transfectadas con si-CDC45L-1 y si- CDC45L-2 disminuyó significativamente en comparación con las células transfectadas con cualquiera de los dos ARNip control (figura 5A). De acuerdo con su efecto supresor sobre los niveles de CDC45L, si-CDC45L-1 y si-CDC45L-2 transfectados produjeron disminuciones significativas en los números de colonias y en la viabilidad celular medida mediante ensayos de MTT y formación de colonias (figura 5B y 5C). Se observaron efectos similares en la línea celular TE9 (datos no mostrados).

Ejemplo 6: DKK1

Expresión de DKK1 en cánceres de esófago y de pulmón y tejidos normales:

Para identificar moléculas novedosas que pueden detectar células cancerosas en un estadio temprano y aplicarse para tratamientos individualizados basados en las características biológicas de las células cancerosas, los presentes inventores realizaron un análisis en todo el genoma de los perfiles de expresión génica de carcinoma de pulmón y células de ESCC purificadas mediante microdissección con láser usando un microalineamiento de ADNc (Kikuchi T *et al.*, Oncogene. 10 de abril de 2003; 22(14):2192-205, Int J Oncol: abril de 2006; 28(4):799-805, Kakiuchi S *et al.*, Mol Cancer Res. mayo de 2003; 1(7):485-99, Hum Mol Genet. 15 de diciembre de 2004; 13(24):3029-43. Epub 20 de octubre de 2004, Yamabuki *et al.*, Int J Oncol. Junio de 2006; 28(6):1375-84). Entre los 27.648 genes examinados, los presentes inventores identificaron el transcrito de DKK1, lo que indica una expresión de 3 veces o un número medio de veces superior en células cancerosas que en células epiteliales normales (control) en la gran mayoría de las muestras de cáncer de esófago y de pulmón examinadas. Los presentes inventores confirmaron su sobreexpresión por medio de experimentos de RT-PCR semicuantitativa en 10 de 15 tejidos de cáncer de pulmón, en 21 de 25 líneas celulares de cáncer de pulmón, en 10 de 10 tejidos de ESCC, y en 10 de 10 líneas celulares de ESCC (figuras 2A-C).

Los presentes inventores confirmaron posteriormente mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western usando un anticuerpo anti-DKK1 una expresión de proteína DKK1 de 35 kDa en tejidos tumorales en pares representativos de muestras de NSCLC analizadas (figura 2D).

El análisis de transferencia de tipo Northern usando un fragmento de ADNc de DKK1 como sonda identificó un transcrito de aproximadamente 1,8 kb que estaba altamente expresado en placenta y a un nivel muy bajo en la próstata; no se observó expresión en ningún otro tejido normal (figura 3C). Los presentes inventores realizaron análisis de inmunofluorescencia para examinar la ubicación subcelular de DKK1 endógeno en la línea celular de ESCC, TE8 y en la línea celular de NSCLC, LC319. Se detectó DKK1 en el citoplasma de las células tumorales con aspecto granular (en la figura 3D se muestran datos representativos de células TE8).

Asociación de expresión de DKK1 con mal pronóstico.

Para verificar la importancia biológica y clinicopatológica de DKK1, los presentes inventores llevaron a cabo tinción inmunohistoquímica en microalineamiento de tejido que contenía cortes de tejido de 279 casos de NSCLC y 220 de ESCC que se sometieron a resección quirúrgica curativa. La tinción de DKK1 con un anticuerpo policlonal específico para DKK1 se observó principalmente en el citoplasma de células tumorales, pero no se detectó en células normales (figuras 8A, C). Los presentes inventores clasificaron un patrón de expresión de DKK1 en el alineamiento de tejido que oscilaba desde ausente (puntuada como 0) hasta débil/fuerte positiva (puntuada como 1+ ~ 2+). De los 279 NSCLC, DKK1 se tiñó fuertemente en 125 (44,8%; puntuación 2+), se tiñó débilmente en 102 (36,6%; puntuación 1+), y no se tiñó en 52 casos (18,6%; puntuación 0) (en la tabla 10A se muestran los detalles). La mediana del

tiempo de supervivencia de los pacientes con NSCLC fue significativamente más corta según los niveles de expresión superiores de DKK1 (P = 0,0039 mediante la prueba de rango logarítmico; figura 8D). Los presentes inventores también aplicaron análisis de una variable para evaluar las asociaciones entre el pronóstico del paciente y varios factores incluyendo edad, sexo, histología (ADC frente a no ADC), estadio de pT (tamaño de tumor; T1+T2 frente a T3+T4), estadio de pN (N0 frente a N1+N2), y estado de DKK1 (puntuación 2+ frente a 0, 1+). Todos estos parámetros se asociaron significativamente con un mal pronóstico. El análisis de múltiples variables usando un modelo de riesgos proporcionales de Cox determinó que DKK1 (P = 0,0163) era un factor de pronóstico independiente para los pacientes con NSCLC tratados quirúrgicamente (tabla 10B). Por otra parte, de los 220 casos de ESCC examinados, DKK1 se tiñó fuertemente en 60 (27,3%; puntuación 2+), se tiñó débilmente en 75 (34,1%; puntuación 1+) y no se tiñó en 85 casos (38,6%; puntuación 0) (en la tabla 9A se muestran los detalles). La mediana del tiempo de supervivencia de los pacientes con ESCC fue significativamente más corta según los niveles de expresión superiores de DKK1 (P = 0,042 la prueba de rango logarítmico; figura 8B). Los presentes inventores también aplicaron análisis de una variable para evaluar las asociaciones entre el pronóstico de los pacientes con ESCC y varios factores incluyendo edad, sexo, estadio de pT (profundidad del tumor; T1+T2 frente a T3+T4), estadio de pN (N0 frente a N1), y estado de DKK1 (puntuación 2+ frente a 0, 1+). Todos estos parámetros se asociaron significativamente con un mal pronóstico. El análisis de múltiples variables usando un modelo de riesgos proporcionales de Cox determinó que DKK1 no era un factor de pronóstico independiente para los pacientes con ESCC tratados quirúrgicamente (tabla 9B).

N-glicosilación de DKK1 en células cancerosas.

Se notificó que la proteína DKK1 se expresaba como una proteína de aproximadamente 35 kDa en células transfectadas con un vector que expresaba DKK1, y se secretaba en el medio de cultivo como formas de proteína de 35 - 40 kDa (Fedi *et al.*, J Biol Chem. 2 de julio de 1999; 274(27):19465-72, Niida *et al.*, Oncogene. 4 de noviembre de 2004; 23(52):8520-6). Tal como se muestra en la figura 10A, la proteína DKK1 exógena se reconoció mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western como una banda de aproximadamente 35 - 40 kDa en el medio condicionado de células COS-7 transfectadas. La proteína DKK1 secretada se detectó como bandas dobles mediante inmunotransferencia de tipo Western. Por tanto, los presentes inventores incubaron en primer lugar extractos celulares y proteínas recogidas del medio condicionado de las células COS-7 transfectadas en presencia o ausencia de N-glicosidasa F y analizaron el peso molecular de la proteína DKK1 mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western. Tal como se esperaba, el peso medido de la mayoría de la proteína DKK1 en los extractos celulares y el medio condicionado tratado con N-glicosidasa F fue menor que en las células no tratadas (figura 10A). Dado que DKK1 posee un sitio potencial de N-glicosilación ubicado cerca del extremo C-terminal de la proteína (asparagina 256), los presentes inventores sustituyeron el sitio potencial de N-glicosilación (asparagina 256) en DKK1 por alanina. Se detectó la DKK1 mutada mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western como bandas inmunorreactivas de peso molecular similar al de la forma desglucosilada de DKK1 de tipo natural en el medio condicionado y en el sedimento celular (figura 10A). El tratamiento con N-glicosidasa F no produjo ningún cambio de una banda mutante de DKK1 en el sedimento celular y el medio condicionado (figura 10A). Estos resultados sugirieron que la asparagina 256 era un sitio de N-glicosilación relacionado de DKK1, pero no afectaba a la secreción de DKK1.

Niveles séricos de DKK1 en pacientes con cáncer de pulmón o ESCC.

Puesto que los hallazgos *in vitro* han sugerido una posibilidad de desarrollar un marcador tumoral novedoso usando las formas secretadas de DKK1, los presentes inventores investigaron si la proteína DKK1 se secreta en los sueros de pacientes con cáncer de pulmón o esófago. Los experimentos de ELISA detectaron la proteína DKK1 en muestras serológicas de estos pacientes. La media (\pm 1DE) de DKK1 sérica en pacientes con cáncer de pulmón fue de $27,2 \pm 21,0$ U/ml y en pacientes con ESCC fue de $33,5 \pm 25,3$ U/ml. Por el contrario, los niveles séricos medios (\pm 1DE) de DKK1 en individuos sanos fueron de $6,3 \pm 5,0$ U/ml. La diferencia fue significativa con un valor de P de $< 0,001$ (prueba U de Mann-Whitney). Cuando se clasificaron según el tipo histológico en el cáncer de pulmón, los niveles séricos de DKK1 fueron de $25,5 \pm 18,4$ U/ml en pacientes con ADC, $24,7 \pm 17,7$ U/ml en pacientes con SCC, y $31,8 \pm 25,8$ U/ml en pacientes con SCLC (figura 9A); las diferencias entre los tres tipos histológicos no fueron significativas.

Se analizaron adicionalmente los niveles de DKK1 en muestras séricas tanto de pacientes con cáncer de pulmón como con ESCC así como de individuos sanos trazando curvas de características operativas del receptor (ROC) para determinar sus niveles de punto de corte (figura 9B). Los niveles de punto de corte en este ensayo se establecieron para dar como resultado razones de probabilidad y exactitud de diagnóstico óptimas para DKK1, es decir, $14,7$ U/ml (con una sensibilidad del 63,7% (191/300) y una especificidad del 95,9% (211/220)). La media (\pm 2DE) de los niveles séricos de DKK1 en individuos sanos fue de $16,3$ U/ml, lo que sugiere que este punto de corte es apropiado.

Para evaluar la viabilidad de usar el nivel sérico de DKK1 como biomarcador de detección tumoral, los presentes inventores también midieron mediante ELISA los niveles séricos de CEA para pacientes con NSCLC y de proGRP para pacientes con SCLC, dos marcadores tumorales convencionales para estos tipos histológicos de cáncer de pulmón, en los mismos pacientes y controles. Se determinó que el valor de punto de corte de CEA era de $2,5$ ng/ml (con una sensibilidad del 40,3% (64/159) y una especificidad del 97,1% (204/210)) en pacientes con NSCLC. El

5 coeficiente de correlación entre los valores séricos de DKK1 y CEA no fueron significativos (coeficiente de correlación de rangos de Spearman: $\rho = -0,034$, $P = 0,668$), lo que indica que midiendo ambos marcadores en suero se puede mejorar la sensibilidad global para la detección de NSCLC hasta el 78,6% (125 de 159) (para diagnosticar NSCLC, la sensibilidad de CEA solo es del 40,3% (64 de 159) y la de DKK1 es del 61,6% (98 de 159)). Las tasas de falsos positivos para cualquiera de los dos marcadores tumorales entre voluntarios normales (grupo control) ascendieron al 8,2% (17 de 208), mientras que las tasas de falsos positivos para CEA y DKK1 en el mismo grupo control fueron del 2,9% (6 de 208) y del 5,3% (11 de 208) individualmente. Por otra parte, los análisis de ROC para proGRP en los pacientes con SCLC determinó el valor de punto de corte de ProGRP como 46,0 pg/ml (con una sensibilidad del 60,6% (40 de 66) y una especificidad del 99,3% (145 de 146)). El coeficiente de correlación entre los valores séricos de DKK1 y ProGRP no fueron significativos (coeficiente de correlación de rangos de Spearman: $\rho = 0,113$, $P = 0,362$), lo que indica que midiendo ambos marcadores en suero se puede mejorar la sensibilidad global para la detección de SCLC hasta el 84,8% (56 de 66) (para diagnosticar SCLC, la sensibilidad de ProGRP solo es del 60,6% (40 de 66) y la de DKK1 es del 63,6% (42 de 66)). Los resultados falsos positivos para cualquiera de los dos marcadores tumorales entre 146 voluntarios normales (grupo control) ascendieron al 6,2% (9 de 146), mientras que las tasas de falsos positivos para proGRP y DKK1 en el mismo grupo control fueron del 0,7% (1 de 146) y del 5,5% (8 de 146) individualmente.

Activación de actividad invasiva celular por DKK1.

20 Puesto que el análisis inmunohistoquímico en microalineamiento de tejido ha indicado que los pacientes con cáncer de esófago y de pulmón con tumores positivos para DKK1 mostraron un periodo de supervivencia específico de cáncer más corto que los pacientes cuyos tumores fueron negativos para DKK1, los presentes inventores examinaron un posible papel de DKK1 en la motilidad celular y la invasión en ensayos en Matrigel, usando células NIH3T3 y COS-7. Tal como se muestra en la figura 10B, C, la transfección de ADNc de DKK1 en cualquier línea celular potenció significativamente su actividad invasiva a través de Matrigel, en comparación con las células transfectadas con vector vacío.

25 Discusión

Pese a la mejora de las técnicas quirúrgicas modernas y la quimiorradioterapia adyuvante, se sabe que el cáncer de pulmón y ESCC revelan el peor pronóstico entre los tumores malignos. Por tanto, ahora se requiere urgentemente desarrollar biomarcadores de diagnóstico novedosos para la detección temprana del cáncer y para la mejor elección de las modalidades de tratamiento adyuvante para los pacientes apropiados. Los presentes inventores realizaron un análisis en todo el genoma de los perfiles de expresión génica de 101 cánceres de pulmón y 19 células de ESCC purificadas mediante microdissección con microhaz láser (LMM) usando un microalineamiento de ADNc que contiene 27.648 genes (Yamabuki *et al.* Int J Oncol. junio de 2006; 28(6):1375-84; Kikuchi *et al.*, Oncogene. 10 de abril de 2003; 22(14): 2192-205, Int J Oncol. Abril de 2006; 28(4):799-805; Kakiuchi *et al.*, Mol Cancer Res. Mayo de 2003; 1(7):485-99, Hum Mol Genet. 15 de diciembre de 2004; 13(24):3029-43. Epub 20 de octubre de 2004). En el procedimiento, los presentes inventores identificaron varios genes que eran potencialmente buenos candidatos para el desarrollo de marcadores de diagnóstico novedosos, fármacos terapéuticos y/o inmunoterapia (Suzuki *et al.*, Cancer Res. 1 de noviembre de 2003; 63(21):7038-41; Cancer Res. 15 de diciembre de 2005; 65(24):11314-25; Ishikawa *et al.*, Clin Cancer Res. 15 de diciembre de 2004; 10(24):8363-70, Cancer Res. 15 de octubre de 2005; 65(20):9176-84; Kato *et al.*, Cancer Res. 1 de julio de 2005; 65(13):5638-46; Furukawa *et al.*, Cancer Res. 15 de agosto de 2005; 65(16):7102-10). Entre ellos, se considera que los genes que codifican para supuestas proteínas transmembrana o secretoras específicas de tumor tienen ventajas significativas, porque están presentes en la superficie celular o dentro del espacio extracelular y/o en suero, lo que las hace fácilmente accesibles como marcadores moleculares y dianas terapéuticas. En este estudio, los presentes inventores seleccionaron un gen regulado por incremento (*DKK1*) que codifica para una proteína secretora, y examinaron el estado de expresión de la proteína por medio de análisis de microalineamiento de tejido y ELISA para identificar biomarcador(es) de diagnóstico y pronóstico novedoso(s) para el cáncer de pulmón y/o ESCC.

50 DKK1 es una proteína de 266 aminoácidos que contiene una secuencia de péptido señal y dos dominios ricos en cisteína (Fedi *et al.*, J Biol Chem. 2 de julio de 1999; 274(27):19465-72), y se sabe que es una proteína secretada que funciona como regulador negativo de la señalización de Wnt y desempeña un papel crucial en la formación de la cabeza en el desarrollo de vertebrados (Glinka *et al.*, Nature. 22 de enero de 1998; 391 (6665):357-62; Fedi *et al.*, J Biol Chem. 2 de julio de 1999; 274(27):19465-72; Mao *et al.*, Nature. 6 de junio de 2002; 417(6889):664-7. Epub 26 de mayo de 2002, Nature. 17 de mayo de 2001; 411(6835):321-5; Mukhopadhyay *et al.*, Dev Cell. Septiembre de 2001; 1(3):423-34). Además, se notifica que DKK1 es una diana en el sentido de 3' de β -catenina/TCF y participa en un bucle de retroalimentación negativa en la señalización de Wnt (Gonzalez *et al.*, Oncogene. 3 de febrero de 2005; 24(6):1098-103; Niida *et al.*, Oncogene. 4 de noviembre de 2004; 23(52):8520-6).

60 Una familia de genes relacionados con DKK humana (hDKK) estaba compuesta por DKK1, DKK2, DKK3 y DKK4, junto con una única proteína relacionada con DKK3 denominada Soggy (Sgy). hDKK 1-4 contienen dos dominios ricos en cisteína distintos en los que las posiciones de 10 residuos de cisteína están altamente conservadas entre miembros de la familia. hDKK1 y hDKK4, pero no hDKK2, hDKK3 o Sgy, suprimen la inducción del eje secundario inducida por Wnt en embriones de *Xenopus* (Krupnik *et al.*, Gene. 1 de octubre de 1999; 238(2):301-13). Se encontró que DKK4 mostraba alta especificidad por cáncer gástrico mediante análisis en serie de la expresión

génica (SAGE) y (RT)-PCR con transcripción inversa cuantitativa (Aung *et al.*, *Oncogene*. 20 de abril de 2006; 25(17):2546-57). Otros estudios han demostrado la sobreexpresión de DKK1 en tumor de Wilms, hepatoblastoma y carcinoma hepatocelular (HCC) (Wirths *et al.*, *Lab Invest*. Marzo de 2003; 83(3):429-34; Patil *et al.*, *Oncogene*. 26 de mayo de 2005; 24(23):3737-47), pero la utilidad clínica de la proteína DKK1 como marcador serológico/histoquímico en cáncer humano no se indicó anteriormente. Como una proteína DKK1, se sabía que el factor 1 inhibidor de Wnt (WIF-1) y la proteína relacionada con Frizzled (FRP) eran moléculas secretadas, que se ha indicado que se unen a proteínas Wnt e inhiben su actividad (Hsieh *et al.*, *Nature*. 1 de abril de 1999; 398(6726): 431-6; Wodarz *et al.*, *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1998; 14:59-88; Moon *et al.*, *Dev Suppl*. 1993;:85-94). Se notificó que estas dos proteínas estaban asociadas con cáncer humano incluyendo carcinoma colorrectal (Cebrat *et al.*, *Cancer Lett*. 31 de marzo de 2004; 206(1):107-13). La proteína FRP-4 mostró niveles marcadamente aumentados de expresión en cánceres colorrectales en comparación con mucosa normal, pero ninguna asociación significativa con características patológicas o con el desenlace de pacientes (Horvath *et al.*, *Clin Cancer Res*. 15 de enero de 2004; 10(2):615-25). Puesto que se había descrito que varias proteínas de la familia de DKK se sobreexpresaban en cánceres humanos (Aung *et al.*, *Oncogene*. 20 de abril de 2006; 25(17):2546-57; Horvath *et al.*, *Clin Cancer Res*. 15 de enero de 2004; 10(2):615-25), DKK1 parecía tener un probablemente un posible papel en la evolución o el desarrollo tumoral.

En la presente invención, los presentes inventores demostraron que la inducción de la expresión exógena de DKK1 potenciaba la migración celular/actividad invasiva de células de mamífero normales. En concordancia, la fuerte tinción de DKK1 en tejidos de NSCLC primario detectada mediante análisis de microalineamiento de tejidos se correlacionaba con un peor pronóstico. Aunque la función precisa de DKK1 en la carcinogénesis de esófago y de pulmón se desconoce, y los procesos de invasión de células cancerosas a tejidos adyacentes y metástasis distante consisten en una serie completa de etapas secuenciales, estos resultados indican que la expresión de DKK1 podría promover la diseminación de tumores estimulando la migración celular. DKK1 se ha descrito como una proteína secretada que desempeña un papel crucial en la formación de la cabeza en el desarrollo de vertebrados, y se conoce como regulador negativo de la señalización de Wnt (Niida *et al.*, *Oncogene*. 4 de noviembre de 2004; 23(52): 8520-6). DKK1 se une a proteínas LRP5/6 y Kremen, induciendo así la endocitosis de LRP, lo que previene la formación de complejos de Wnt-Frizzled-receptor LRP5/6 (Gonzalez *et al.*, *Oncogene*. 3 de febrero de 2005; 24(6):1098-103). Sin embargo, cuando los presentes inventores analizaron la expresión de ARNm de DKK1 y LRP5/6 en líneas celulares de cáncer de esófago y de pulmón y tejidos cancerosos mediante RT-PCR semicuantitativa, el patrón de expresión de LRP5/6 no concordaba con el de DKK1 (datos no mostrados). Estudios adicionales para identificar receptores y parejas de unión desconocidas de DKK1 en cánceres humanos pueden contribuir no sólo a la identificación de dianas terapéuticas y marcadores tumorales novedosos, sino que también deben proporcionar una nueva comprensión de la ruta de señalización mediada por la expresión de DKK1.

Los presentes inventores confirmaron que el posible sitio C-terminal, asparaginas 256 era un sitio de N-glicosilación en DKK1 usando tratamiento enzimático y un mutante de sustitución de alanina, pero no afectó a la secreción de DKK1. Recientemente, se notificaron diversos antígenos específicos de cáncer incluyendo antígenos de hidratos de carbono como marcadores tumorales séricos. Se ha usado la glicosilación específica para fines de diagnóstico; es decir, alfa-fetoproteína (AFP) para hepatocarcinoma (Poon *et al.*, *Clin Chem*. Julio de 2002; 48(7):1021-7), ribonucleasa pancreática humana, que tiene diferentes cadenas de oligosacáridos cuando se produce por células tumorales pancreáticas (Peracaula *et al.*, *Glycobiology*. Abril de 2003; 13(4):227-44. Epub 26 de noviembre de 2002), o antígeno específico de próstata (PSA), el marcador tumoral actualmente usado para el examen de cáncer de próstata (Tabards *et al.*, *Glycobiology*. Febrero de 2006; 16(2):132-45. Epub 21 de septiembre de 2005). Se notificó que se producían cambios en la glicosilación N-unida durante el desarrollo del cáncer. El aumento de la ramificación de los oligosacáridos se ha asociado con metástasis y se ha correlacionado con la evolución tumoral en cánceres humanos de la mama, el colon y melanomas (Comunale *et al.*, *J Proteome Res*. Febrero de 2006; 5(2):308-15). Aunque será necesaria evaluación adicional, la glicosilación de DKK1 podría ser una diana terapéutica y de diagnóstico novedosa para el tratamiento del cáncer de esófago y de pulmón.

Para examinar la viabilidad de aplicar DKK1 como herramienta de diagnóstico, los presentes inventores compararon los niveles séricos de DKK1 con los de CEA o ProGRP, unos marcadores de diagnóstico convencionales para NSCLC y SCLC, en cuanto a sensibilidad y especificidad para el diagnóstico. Las proporciones de casos positivos entre las mismas muestras séricas eran de más del 60% para DKK1, mientras que la tasa de falsos positivos para DKK1 era de aproximadamente el 5,0%, lo que indica una potencia de diagnóstico equivalente o mejor de DKK1 con respecto a la de CEA. Además, un ensayo que combinaba ambos marcadores (DKK1+CEA o DKK1+ProGRP) aumentó la sensibilidad de manera que aproximadamente al 80% de los pacientes con cáncer de pulmón se les diagnóstico como positivos mientras que al 6,2 - 8,2% de los voluntarios sanos se les diagnóstico falsamente como positivos. Aunque será necesaria validación adicional usando un conjunto más grande de muestras séricas que cubran diversos estadios clínicos, los datos presentados en el presente documento demuestran suficientemente una posible aplicación clínica de la propia DKK1 como marcador serológico/histológico para cánceres de esófago y de pulmón.

En conclusión, los presentes inventores han identificado DKK1 como posible biomarcador para el diagnóstico de cánceres de esófago y de pulmón así como la predicción del mal pronóstico de los pacientes con estas enfermedades. DKK1 se sobreexpresaba específicamente en la mayoría de los tejidos de cáncer de esófago y de pulmón que examinaron los presentes inventores, y estaba elevada en los sueros de una gran proporción de pacientes con estos tumores. DKK1, combinada con otros marcadores tumorales, podría mejorar significativamente

la sensibilidad del diagnóstico del cáncer. Además, esta molécula es también un candidato probable para el desarrollo de enfoques terapéuticos tales como terapia con anticuerpos.

Aplicabilidad industrial

5 El análisis de la expresión génica de cáncer de esófago descrito en el presente documento, obtenido a través de una combinación de disección por captura láser y microalineamiento de ADNc de todo el genoma, ha identificado genes específicos como dianas para la terapia y prevención del cáncer. Basándose en la expresión de un subconjunto de estos genes expresados diferencialmente, la presente invención proporciona marcadores de diagnóstico moleculares para identificar y detectar cáncer de esófago.

10 Los métodos descritos en el presente documento también son útiles en la identificación de dianas moleculares adicionales para la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de cáncer de esófago. Los datos notificados en el presente documento añaden una comprensión global del cáncer de esófago, facilitan el desarrollo de estrategias de diagnóstico novedosas y proporcionan claves para la identificación de dianas moleculares para fármacos terapéuticos y agentes preventivos. Tal información contribuye a una comprensión más profunda de la tumorigénesis de esófago, y proporciona indicadores para desarrollar estrategias novedosas para el diagnóstico, el tratamiento y en última instancia la prevención de cáncer de esófago.

15 Además, los métodos descritos en el presente documento también son útiles en el diagnóstico del cáncer incluyendo cánceres de esófago y de pulmón así como la predicción del mal pronóstico de los pacientes con estas enfermedades. Además, los datos notificados en el presente documento también proporcionan un probable candidato para el desarrollo de enfoques terapéuticos para el cáncer incluyendo cánceres de esófago y de pulmón.

20 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto habitual en la técnica a la que pertenece esta invención. En caso de conflicto, la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones, prevalecerá.

Tabla.1 genes regulados por disminución

N.º de asignación	LMMID	REGISTRO	SÍMBOLO	NOMBRE DEL GEN
1	A0906	NM_002939	RNH	Inhibidor de la angiogenina/ribonucleasa
2	A1350	NM_013314	BLNK	Ligador de células B
3	A1475	BC017048	GJB2	Proteína de unión a Gap, beta 2, de 26 kDa (conexina 26)
4	A2014	L23959	TFDP1	Factor de transcripción Dp-1
5	A2460	AF000959	CLDN5	Claudina 5 (proteína transmembrana delecionada en síndrome velocardiofacial)
6	A3340	M93284	PNLIPRP2	Proteína 2 relacionada con lipasa pancreática
7	A3821	NM_004925	AQP3	Acuaporina 3
8	A4472	AF042081	SH3BGRL	Tipo de proteína rica en ácido glutámico de unión al dominio SH3
9	A4587	AF070609	SLC1A3	Proteína DKFZP547J0410
10	A0283	NM_021120	DLG3	Discos, homólogo grande 3 (neuroendocrina-dlg, <i>Drosophila</i>)
11	A1365	D10653	TM4SF2	Miembro 2 de la superfamilia 4 de la transmembrana
12	A3322	M80899	AHNAK	Nucleoproteína AHNAK (desmoyoquina)
13	A5658	AJ243937	GPSM3	Modulador 3 de señalización de la proteína G (similar a AGS3, <i>C. elegans</i>)
14	A0765	BC004102	ALDH3A1	Familia 3 de aldehído deshidrogenasa, miembro A1
15	A1215	NM_002275	KRT15	Queratina 15
16	A1879	U45955	GPM6B	Glucoproteína M6B
17	A1758	U60553	CES2	Carboxilesterasa 2 (intestino, hígado)
18	A2363	NM_000060	BTD	Biotinidasa
19	A6156	BU616881	ARHE	Familia del gen homólogo a Ras, miembro E
20	A2487	D10923	GPR109B	Receptor 109B acoplado a proteínas G
21	A2747	NM_004347	CASP5	Caspasa 5, cisteína proteasa relacionada con apoptosis
22	A3095	U26726	HSD11B2	Hidroxiesteroide (11-beta) deshidrogenasa 2
23	A3605	NM_007366	PLA2R1	Receptor 1 de la fosfolipasa A2, de 180 kDa
24	A3701	BC028412	ELL2	Factor de elongación, ARN polimerasa II, 2
25	A4481	AF053470	BLCAP	Proteína asociada con cáncer de vejiga
26	A4832	D78011	DPYS	Dihidropirimidinasa

ES 2 379 805 T3

27	A4744	AF020202	UNC13B	Homólogo B de Unc-13 (<i>C. elegans</i>)
28	A5888	U56417	AGPAT1	1-acilglicerol-3-fosfato O-aciltransferasa 1 (ácido lisofosfatídico aciltransferasa, alfa)
29	A1063	BU600928	SPRR1B	Proteína 1B rica en prolina pequeña (cornifina)
30	A2029	BC034227	D4S234E	Segmento de ADN en la secuencia expresada 234 de cromosoma 4 (único)
31	A2126	U04241	AES	Potenciador de división amino-terminal
32	A3237	L10386	TGM3	Transglutaminasa 3 (polipéptido E, proteína-glutamina-gamma-glutamyltransferasa)
33	A4875	NM_000336	SCNN1B	Canal de sodio, no activado por voltaje 1, beta (síndrome de Liddle)
34	A5816	AF014398	IMPA2	Inositol(mio)-1(o 4)-monofosfatasa 2
35	A6077	XM_499570	PLXNA2	Plexina A2
36	A0365	U17077	BENE	proteína BENE
37	A0946	U62961	OXCT1	3-oxoácido CoA transferasa 1
38	A1479	NM_000275	OCA2	Albinismo oculocutáneo II (homólogo de dilución de ojo rosa, ratón)
39	A2565	BG676358	S100A8	Proteína A8 de unión a calcio S100 (calgranulina A)
40	A2372	AF458589	PPP1R12A	Proteína fosfatasa 1, subunidad 12A reguladora (inhibidor)
41	A2840	BM480033	CRABP2	Proteína 2 de unión a ácido retinoico celular
42	A4474	AF047433	ITGB4BP	Proteína de unión a integrina beta 4
43	A5088	U24266	ALDH4A1	Familia 4 de aldehído deshidrogenasa, miembro A1
44	A5127	AF004709	MAPK13	Proteína cinasa 13 activada por mitógenos
45	A0102	BC053866	EDN3	Endotelina 3
46	A1064	NM_024164	TPSB2	Triptasa, alfa
47	A0685	L05779	EPHX2	Epóxido hidrolasa 2, citoplásmico
48	A1591	NM_002534	OAS1	2',5'-oligoadenilato sintetasa 1, de 40/46 KDa
49	A1199	NM_005018	PDCD1	Muerte celular programada 1
50	A2031	NM_003040	SLC4A2	Familia 4 del portador de soluto, intercambiador aniónico, miembro 2 (banda 3 de proteína de membrana de eritrocitos tipo 1)
51	A3454	M59979	PTGS1	Prostaglandina-endoperóxido sintasa 1 (prostaglandina G/H sintasa y ciclooxigenasa)
52	A4242	BM909803	LGALS7	Lectina, de unión a galactósido, soluble, 7 (galectina 7)
53	A4723	NM_001543	NDST1	N-desacetilasa/N-sulfotransferasa (heparano glucosaminilo) 1
54	A1073	CA312671	CD58	Antígeno CD58, (antígeno 3 asociado con función de linfocito)
55	A2142	AF055008	GRN	Granulina
56	A2566	BQ927179	S100A9	Proteína A9 de unión a calcio S100 (calgranulina B)
57	A2366	NM_000700	ANXA1	Anexina A1
58	A4109	AK075003	NEFL	Neurofilamento, polipéptido ligero de 68 kDa
59	A5695	NM_001839	CNN3	Calponina 3, ácida
60	A0961	NM_001482	GATM	Glicina amidinotransferasa (L-arginina:glicina amidinotransferasa)
61	A1592	NM_000177	GSN	Gelsolina (amiloidosis, tipo finlandés)
62	A1873	M58297		
63	A2129	M29877	FUCA1	Fucosidasa, alfa-L-1, tejido
64	A3246	BC011409	UGT1A6	Familia de UDP glucosiltransferasa 1, polipéptido A9
65	A3853	AF007170	C1orf34	Marco de lectura abierto 34 del cromosoma 1
66	A5399	R44471	NEBL	Nebulete
67	A1074	D90228	ACAT1	Acetil-Coenzima A acetiltransferasa 1

68	A1610	NM_002084	GPX3	(acetoacetil Coenzima A tiolasa) Glutati3n peroxidasa 3 (plasma)
69	A1754	AB119995	CES1	Carboxilesterasa 1 (monocito/macr3fago serina esterasa 1)
70	A2336	BC032528	LTA4H	Leucotrieno A4 hidrolasa
71	A3061	U07643	LTF	Lactotransferrina
72	A2742	NM_002272	KRT4	Queratina 4
73	A4614	NM_007283	MGLL	Monoglic3rido lipasa
74	A0830	NM_002746	MAPK3	Prote3na cinasa 3 activada por mit3genos
75	A1501	NM_006225	PLCD1	Fosfolipasa C, delta 1
76	A2886	M20643	MYL1	Miosina, polip3ptido ligero 1, alcalino; esquel3tico, r3pido
77	A5400	AK122818	BTBD11	Prote3na 11 que contiene el dominio BTB (POZ)
78	A6073	AI290541		ADNc FLJ11723 fis, clon HEMBA1005314
79	A0090	BC040499	TGFBR2	Factor de crecimiento transformante, receptor beta II (70/80 kDa)
80	A1046	AF266280	LGALS3	Lectina, de uni3n a galact3sido, soluble, 3 (galectina 3)
81	A0662	BC034699	TGM1	Transglutaminasa 1 (polip3ptido epid3rmico K tipo I, prote3na-glutamina-gamma- glutamilttransferasa)
82	A2608	NRM_002230	JUP	Placoglobina de uni3n
83	A3338	M93056	SERPINB1	Inhibidor de serina (o ciste3na) proteinasa, clado B (ovoalb3mina), miembro 1
84	A3345	BC004452	GTF2H1	Factor general de transcripci3n IIH, polip3ptido 1, de 62 kDa
85	A4076	BC008837	AKR1B10	Familia 1 de alfo-ceto reductasa, miembro B10 (aldosa reductasa)
86	A3738	NM_002332	LRP1	Prote3na 1 relacionada con lipoprote3na de baja densidad (receptor alfa-2- macroglobulina)
87	A4586	D86977	DHX38	caja DEAH (Asp-Glu-Ala-His) polip3ptido 38
88	A6282	BC001338	RHOD	Familia del gen hom3logo a Ras, miembro D
89	A5002	NM_006137	CD7	ant3geno CD7 (p41)
90	A0249	U09578	MAPKAPK3	Prote3na cinasa 3 activada por prote3na cinasa activada por mit3genos
91	A0922	NM_004394	DAP	Prote3na asociada con muerte
92	A0654	BC000458	MAL	Mal, prote3na de diferenciaci3n de c3lulas T
93	A2733	NM_005013	NUCB2	Nucleobindina 2
94	A3114	M95585	HLF	Factor de leucemia hep3tica
95	A5230	BC021927	TBC1D10	Familia de dominio TBC1, miembro 10
96	A2188	J02770	IF	Factor I (complemento)
97	A3037	BC030975	IL1RL1	receptor de interleucina 1 tipo 1
98	A3283	BQ446473	FABP5	Prote3na 5 de uni3n a 3cidos grasos (asociada con psoriasis)
99	A4162	BM471531	AP2S1	complejo 2 de prote3na relacionada con adaptador, subunidad sigma 1
100	A4677	S80562	CNN3	Calponina 3, 3cida
101	A5951	CR610474	MPDU1	Defecto 1 de utilizaci3n de manosa-P-dolicol
102	A4015	D29767	TEC	Prote3na Tec de tirosina cinasa
103	A4054	NM_144505	KLK8	Calicre3na 8 (neuropsina/ovasina)
104	A4146	BQ941085	PI3	Inhibidor 3 de proteasa, derivado de la piel (SKALP)
105	A4699	NM_002461	MVD	Mevalonato (difosfo)descarboxilasa Hom3logo 2 de onc3gen viral de leucemia eritrobl3stica V-erb-b2, hom3logo de onc3gen derivado de neuro/glioblastoma (aviar)
106	A5159	BC080193	ERBB2	
107	A1010	D28475	CLCN6	Canal de cloruro 6
108	A1414	NM_001855	COL15A1	Col3geno, tipo XV, alfa 1
109	A1951	AL833268	MEF2C	Factor 2 potenciador de la transcripci3n de la caja MADS, polip3ptido C (factor 2C)

ES 2 379 805 T3

110	A2158	NM_005410	SEPP1	potenciador de miocitos) Selenoproteína P, plasma, 1
111	A2189	NM_000112	SLC26A2	Familia 26 del portador de soluto (transportador de sulfato), miembro 2
112	A4163	NM_006001	TUBA2	Tubulina, alfa 2
113	A4388	NM_001988	EVPL	Envoplaquina
114	A2291	AF003341	ALDH1A1	Familia de aldehído deshidrogenasa 1, miembro A1
115	A2444	AY366508	LOH11CR2A	Pérdida de heterocigosidad, 11, región cromosómica 2, gen A
116	A2796	NM_006681	NMU	Neuromedina U
117	A2802	CR592117	CASP1	Caspasa 1, cisteína proteasa relacionada con apoptosis (interleucina 1, beta, convertasa)
118	A3412	NM_000552	VWF	Factor de Von Willebrand
119	A0593	NM_002290	LAMA4	Laminina, alfa 4
120	A1415	L25798	HMGCS1	3-hidroxi-3-metilglutaril-Coenzima A sintasa 1 (soluble)
121	A2159	L10340	EEF1A2	factor 1 de elongación de traducción de eucariotas alfa 2
122	A2306	U70063	ASAH1	N-acilesfingosina amidohidrolasa (ceramidasa ácida) 1
123	A4810	AF077599	RNF41	Proteína 41 de dedos anulares
124	A5155	NM_000418	IL4R	Receptor de interleucina 4
125	A0304	U80456	SIM2	Homólogo 2 único (<i>Drosophila</i>)
126	A0856	M32402	P11	Serina proteasa 26
127	A0574	NM_033018	PCTK1	Proteína cinasa 1 PCTAIRE
128	A1564	U70370	PITX1	Factor de transcripción 1 de homeodominio de tipo apareado
129	A1832	M74297	HOXA4	Caja homeótica A4
130	A2664	BC033820	FGL2	Fibrinógeno tipo 2
131	A3291	BM805032	PRSS2	Proteasa, serina, 2 (tripsina 2)
132	A4179	NM_002769	PRSS1	Proteasa, serina, 1 (tripsina 1)
133	A4297	NM_012205	HAAO	3-hidroxiantranilato 3,4-dioxigenasa
134	A4695	NM_001003395	TPD52L1	Proteína D52 del tumor tipo 1
135	A5849	NM_024095	ASB8	Repetición de anquirina y proteína 8 que contiene la caja SOCS
136	A0971	AY034086	DSCR1L1	Gen 1 de la región crítica del síndrome de Down tipo 1
137	A2307	NM_004563	PCK2	Fosfoenolpiruvato carboxicina 2 (mitocondrial)
138	A4517	L08488	INPP1	Inositol polifosfato-1-fosfatasa
139	A5442	AF105036	KLF4	Factor 4 tipo Kruppel (intestino)
140	A0461	NM_001068	TOP2B	Topoisomerasa (ADN) II beta de 180 kDa
141	A6143	BX648675	ATP8A1	ATPasa, transportador de aminofosfolípidos (APLT), clase I, tipo 8A, miembro 1
142	A4298	Z34821	CACNA1C	Canal de calcio, dependiente de voltaje, tipo L, subunidad 1C alfa
143	A5048	BC014941	ID4	Inhibidor de unión a ADN 4, proteína de hélice-bucle-hélice negativa dominante
144	A1553	BC023505	ECM1	Proteína 1 de la matriz extracelular
145	A2192	BC011890	ETFDH	Flavoproteína deshidrogenasa de transferencia de electrones
146	A3009	BC009799	AREG	Anfirregulina (factor de crecimiento derivado de schwannoma)
147	A4144	BC004376	ANXA8	Anexina A8
148	A5966	BX647538	FRMD4A	Proteína 4A que contiene el dominio FERM
149	A0578	NM_004417	DUSP1	Fosfatasa 1 de especificidad doble
150	A1938	Y08200	RABGGTA	Rab geranilgeraniltransferasa, subunidad alfa
151	A2440	U96628	PDCD4	Muerte celular programada 4 (inhibidor de la transformación neoplásica)
152	A3027	M28827	CD1C	Antígeno CD1C, polipéptido c
153	A2836	BQ926240	TNNI2	Troponina I, esquelética, rápida

ES 2 379 805 T3

154	A3269	NM_002825	PTN	Pleiotrofina (factor 8 de crecimiento de unión a heparina, factor de promoción de crecimiento de neuritas)
155	A3299	BM696587	CRYAB	Cristalino, alfa B
156	A3816	NM_005938	MLLT7	Mieloide/linfoide o leucemia de linaje mixto (homólogo de tritórax, <i>Drosophila</i>); translocado a, 7
157	A5752	AL832919	AGPAT3	1-acilglicerol-3-fosfato O-aciltransferasa 3
158	A0451	V00497	HBB	Hemoglobina, beta
159	A0597	X72760	LAMB2	Laminina, beta 2 (laminina S)
160	A1240	AB001895	ARID1A	Dominio 1A interactivo rico en AT (tipo SWI)
161	A1411	BC035812	PCDH1	Protocadherina 1 (cadherina tipo 1)
162	A1932	J03037	CA2	Anhidrasa carbónica II
163	A2822	BQ015859	CSTA	Cistatina A (estefina A)
164	A2935	BM552331	MGST2	glutatión S-transferasa 2 microsómica
165	A3502	U43899	STAM	Molécula adaptadora de transducción de señal (dominio SH3 y motivo ITAM) 1
166	A3534	NM_005554	KRT6A	Queratina 6A
167	A3127	D29642	ARHGAP25	Proteína 25 de activación de Rho GTPasa
168	A3923	AF038440	PLD2	Fosfolipasa D2
169	A4145	AA586894	S100A7	proteína A7 de unión a calcio S100 (psoriasina 1)
170	A4265	BM907670	PPIC	Peptidilprolil isomerasa C (ciclofilina C)
171	A5739	AA102482	C14orf114	marco de lectura abierto 114 del cromosoma 14
172	A1163	M94345	CAPG	Proteína de encapuchamiento (filamento de actina), tipo gelsolina
173	A2450	NM_001740	CALB2	Calbindina 2, de 29 kDa (calretinina)
174	A3380	L20977	ATP2B2	ATPasa, de transporte de Ca ⁺⁺ , membrana plasmática 2
175	A3187	NM_000240	MAOA	Monoamina oxidasa A
176	A3300	NM_005046	KLK7	Calicreína 7 (quimotriptico, capa córnea)
177	A4794	AF064493	LDB2	Proteína 2 de unión al dominio LIM
178	A4830	NM_004557	NOTCH4	homólogo 4 de Notch (<i>Drosophila</i>)
179	A5436	BQ009281	ELL2	Factor de elongación, ARN polimerasa II, 2
180	A5200	U10248	RPL29	Proteína L29 ribosómica
181	A8063	AL832598	EPB41L3	Banda 4.1 de proteína de membrana de eritrocitos tipo 3
182	A7978	BC025176	CYP3A5	Citocromo P450, familia 3, subfamilia A, polipéptido 5
183	A9285	AI027810	KIAA1102	Proteína KIAA1102
184	A8996	AK092607	BSPRY	Proteína que contiene el dominio SPRY y la caja B
185	B4069	M77830	DSP	Desmoplaquina
186	B6764	M14338	PROS1	Proteína S (alfa)
187	C3614	D31883	ABLIM1	Proteína 1 LIM de unión a actina
188	A8863	BM678420		Locus transcrito
189	C4904	AY359010	KLK5	Calicreína 5
190	A7103	NM_004949	DSC2	Desmocolina 2
191	A7156	X78706	CRAT	Carnitina acetiltransferasa
192	B0149	AF052090	NNT	Nicotinamida nucleótido transhidrogenasa
193	B0259	AA234962	PKP3	Placofilina 3
194	B4864	NM_002145	HOXB2	Caja homeótica B2
195	A6512	AA167624	HSPC159	Proteína HSPC159
196	A8688	CR597998	NPDC1	Control, diferenciación y proliferación neural, 1
197	A9175	NM_015270	ADCY6	Adenilato ciclasa 6
198	C4884	AA036952	Gup1	Proteína anterior del complejo GRINL1A
199	B2793	AA603460	FBXL17	Repetición de proteína 17 rica en leucina y caja F
200	A7307	AB032981	KIAA1155	Proteína KIAA1155

ES 2 379 805 T3

201	A9545	AA563634		Locus transcrito, moderadamente similar al gen de ADNc 9830002I17 XP_126365.1 RIKEN [<i>Mus musculus</i>]
202	B0878	NM_005797	EVA1	Antígeno 1 similar a V epitelial
203	B4406	AF279865	KIF13B	Miembro 13B de la familia cinesina
204	A8203	AK026966	AK3	Adenilato cinasa 3
205	A7795	BC044582	UBL3	Ubiquitina tipo 3
206	A8115	CA310913	GLTP	Proteína de transferencia de glicolípidos
207	A9458	AA028101	KIAA0303	Proteína KIAA0303
208	A9467	BC045658	LOC57228	Proteína hipotética del clon 643
209	A7145	X52005		
210	A8433	NM_005843	STAM2	Molécula adaptadora de transducción de señales (dominio SH3 y motivo ITAM) 2
211	B4086	NM_006206	PDGFRA	Receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas, polipéptido alfa
212	B4409	XM_371116	MYO5B	Miosina VB
213	B6820	XM_497078	NUP188	Nucleoporina de 188 kDa
214	A7798	BC015033	PLD2	Fosfolipasa D2
215	A8832	BX648017	C2orf18	Marco de lectura abierto 18 del cromosoma 2
216	A9468	BX110596		<i>Homo sapiens</i> , clon IMAGE:4799216, ARNm
217	B2482	AI125528	KIAA0476	KIAA0476
218	A6944	AI310102		Locus transcrito
219	B0278	AB037832	KIAA1411	KIAA1411
220	B2135	X03212	KRT7	Queratina 7
221	B3676	NM_013334	GMPPB	GDP-manosa pirofosforilasa B
222	B4060	NM_001953	ECGF1	Factor de crecimiento de células endoteliales 1 (derivado de plaquetas)
223	B2801	AK130734	FLJ13710	Proteína hipotética FLJ13710
224	A6388	AK056894	FLJ32332	Probable ortólogo de proteína fosfatasa 2C eta de ratón
225	A6673	AL137430	LOC283070	Proteína hipotética LOC283070
226	A8525	W67837	EMP2	Proteína de la membrana epitelial 2
227	A9178	XM_168530	PCLO	Piccolo (proteína de citomatrix presináptica)
228	B1734	AA633746		Clon CS0DF018YA02 de ADNc de longitud completa de cerebro fetal de <i>Homo sapiens</i> (ser humano)
229	A6522	BC045177	FLJ30046	Proteína hipotética FLJ30046
230	A9011	BQ772268	PCBP2	Proteína 2 de unión a Poli(rC)
231	A9307	BC053677	FLJ37562	Proteína hipotética FLJ37562
232	B5826	AK027572	KCTD6	Proteína 6 que contiene el dominio de tetramerización del canal de potasio
233	B4068	AB011140	PPL	Periplaquina
234	C2083	NM_002277	KRTHA1	Queratina, pelo, ácida, 1
235	A6317	AI205684	HSPA2	Proteína 2 de choque térmico de 70 kDa
236	A6581	AK093231	TBC1D10	Familia de dominio TBC1, miembro 10
237	A9099	N70592	PIGN	Fosfatidilinositol glicano, clase N
238	A8964	AI091459	FLJ20489	Proteína hipotética FLJ20489
239	B0629	AK126877	FLJ10521	Proteína hipotética FLJ10521
240	B1354	XM_496241		Similar a la familia 16 del portador de soluto, miembro 6; transportador 6 de monocarboxilato
241	B1614	AY555274	PF6	Proteína PF6 de proyección
242	B4141	D79994	ANKRD15	Dominio 15 de la repetición de anquirina
243	A7204	CA430351	TXN	Tiorredoxina
244	A7244	BQ706286	MXD4	Proteína 4 de dimerización MAX
245	B1495	AK000049	Shax3	Homólogo Snf7 asociado con Alix 3
246	A6712	NM_182643	DLC1	Delecionado en el cáncer de hígado 1
247	A7393	AK123452	RAB6A	RAB6A, familia del oncogén del miembro RAS

ES 2 379 805 T3

248	A7425	NM_003250	THRA	Receptor de la hormona tiroidea, alfa (homólogo del oncogén de leucemia viral eritroblástica (v-erb-a), aviar)
249	A8162	AL832955	TNFAIP9	Factor de necrosis tumoral, proteína 9 inducida por alfa
250	A7679	M97675	ROR1	Receptor 1 huérfano similar a receptor de tirosina cinasa
251	B2073	NM_001002857	ANXA2	Anexina A2
252	B2084	S45018	CHAT	Colina acetiltransferasa
253	A6486	W67936	RAI	Inhibidor asociado con RelA
254	A7454	AF007162	CRYAB	Cristalino, alfa B
255	B2657	BM696564		ARNm del factor IV de intercambio de nucleótido de guanina de unión a CAMP (cAMP-GEFIV), clon W 15, secuencia parcial
256	B0364	BC002714	MGC4171	Proteína hipotética MGC4171
257	B0968	BM271861	SPATA11	Proteína 11 asociada con espermatogénesis
258	A7235	M92449	ASAHL	N-acilesfingosina amidohidrolasa tipo (ceramidasa ácida)
259	A7689	X00457	HLA-DPA1	Complejo mayor de histocompatibilidad, clase II, DP alfa 1
260	A9203	CR608541	PHF17	Proteína 17 de dedos de PHD
261	A9368	NM_022833	C9orf88	Marco de lectura abierto 88 del cromosoma 9
262	BB4602	NM_005556	KRT7	Queratina 7
263	A6719	AI302184	SQRDL	Tipo de sulfuro quinona reductasa (levadura)
264	A7464	AF081287	CTDP1	CTD (dominio carboxi-terminal, ARN polimerasa II, polipéptido A) fosfatasa, subunidad 1
265	A7773	NM_002504	NFX1	Factor de transcripción nuclear, Proteína 1 de unión a caja X
266	A8378	NM_032859	C13orf6	Marco de lectura abierto 6 del cromosoma 13
267	B0550	AA843150		Clon CSODF014YA22 de ADNc de longitud completa de cerebro fetal de <i>Homo sapiens</i> (ser humano)
268	B4213	NM_001001937	ATP5A1	ATP sintasa, de transporte de H ⁺ , complejo F1 mitocondrial, subunidad alfa, isoforma 1, músculo cardíaco
269	B4816	NM_003438	ZNF137	Proteína 137 de dedos de zinc (clon pHZ-30)
270	B7573	BC040481	ZHX1	Dedos de zinc y cajas homeóticas 1
271	A8790	H70803	SASH1	Proteína 1 que contiene el dominio SH3 y SAM
272	B2399	AY358351	UNC5B	Homólogo B de unc-5 (<i>C. elegans</i>)
273	C4330	BC006000	CAPNS2	Calpaína, subunidad 2 pequeña
274	A6336	AK097223	NAGK	N-acetilglucosamina cinasa
275	A9115	BC001080	MGC2749	Proteína hipotética MGC2749
276	B2659	AI025259		Locus transcrito
277	B5443	NM_014992	DAAM1	Activador asociado Dishevelled de morfogénesis 1
278	C4095	NM_002122	HLA-DQA1	Complejo mayor de histocompatibilidad, clase II, DQ alfa 1
279	A6322	BU623850	BZRP	Receptor de benzodiazapina (periférico)
280	A6358	AK056079	JAM2	Molécula 2 de adhesión de unión
281	A7432	M32313	SRD5A1	Esteroido-5-alfa-reductasa, polipéptido alfa 1 (3-oxo-5-alfa-esteroide delta 4-deshidrogenasa alfa 1)
282	A9103	AK091635	FLJ11200	Proteína hipotética FLJ11200
283	B0646	AA644351	EMP1	Proteína de la membrana epitelial 1
284	B0773	AA761873	SNX16	Nexina 16 de clasificación
285	B4674	AA149429	ATP10D	ATPasa, Clase V, tipo 10D

ES 2 379 805 T3

286	B6559	AB002296	KIAA0298	Producto del gen KIAA0298
287	A6599	BC035309	TM4-B	Tetraspanina TM4-B
288	A7467	BC034989	P2RY14	Receptor P2Y purinérgico, acoplado a proteína G, 14
289	B2658	N62647	TM4SF9	Miembro 9 de la superfamilia 4 transmembrana
290	B0243	AK000140	PLAC8	Proteína 8 específica de la placenta
291	B1676	BC025985	IGHG4	Gamma 4 constante pesada de inmunoglobulina (marcador G4m)
292	B2253	BX494965		Locus transcrito
293	C4665	AK022877		ARNm de la región Cri-du-chat del clon TUA8
294	A6617	AF182316	FER1L3	Fer-1 tipo 3, mioferlina (<i>C. elegans</i>)
295	A7917	AF169797	APPL	Dominio de pH que contiene proteína adaptadora, dominio PTB y motivo 1 de cremallera de leucina
296	A9104	AF135168	NSF	Factor sensible a N-etilmaleimida
297	A9110	BC006282	MGC10540	Proteína hipotética MGC10540
298	B0340	AK097973	MGC9850	Polipéptido D de la polimerasa (ARN) I, de 16 kDa
299	B0774	AL832398	MGC26717	Proteína hipotética MGC26717
300	B5066	AF318353	MAN1C1	Manosidasa, alfa, clase 1C, miembro 1
301	B6561	AB014544	KIAA0644	Producto del gen KIAA0644
302	A6751	NM_002258	KLRB1	Subfamilia B del receptor similar a lectina de célula citotóxica, miembro 1
303	A7091	N31935	ANGPTL1	Angiopoyetina tipo 1
304	A8186	BM551020	SCAMP2	Proteína 2 de la membrana del portador secretor
305	A8823	N26005	PPP1R3C	Proteína fosfatasa 1, subunidad 3C reguladora (inhibidor)
306	A9125	BG745799	CRYL1	Cristalino, lambda 1
307	B1647	BC047536	SCEL	Escielina
308	B4810	BM701072	KIAA0103	KIAA0103
309	B5424	NM_020039	ACCN2	Canal 2 catiónico sensible a amilorida, neuronal
310	B2978	AA442090	FLJ10292	Proteína hipotética FLJ10292
311	B7110	AK124752	PCDH21	Protocadherina 21
312	B8940	BX641066	KLF8	Factor 8 tipo Kruppel
313	B9198	AK123132	MSRA	Metionina sulfóxido reductasa A
314	A9475N	AF081195	RASGRP1	Proteína 1 de liberación de guanilo RAS (regulada por DAG y calcio)
315	B4930	AL110157	DUSP7	Fosfatasa 7 de especificidad doble
316	B6765N	AI346913	SDCBP2	Proteína 2 de unión a sindecano (sintenina)
317	B6373	BX423161	LHPP	Fosfolisina fosfohistidina inorgánica pirofosfato fosfatasa
318	B8264	NM_025261	LY6G6C	Complejo 6 del antígeno de linfocito, locus G6C
319	B8308	NM_001001936	KIAA1914	KIAA1914
320	B8276	BC009831	RAB25	RAB25, familia del oncogén del miembro RAS
321	A3308N	NM_000889	ITGB7	Integrina, beta 7
322	A8588	BM683764	PRKWNK4	Proteína cinasa, proteína 4 deficiente en lisina
323	B4591	BM747025	PERP	PERP, efector de apoptosis TP53
324	B6688	NM_003042	SLC6A1	Familia 6 del portador de soluto (transportador del neurotransmisor, GABA), miembro 1.
325	B6103	T89283		Secuencia de ARNm del clon IMAGE:110436
326	B7741	NM_177551	GPR109A	Receptor 109A acoplado a proteína G
327	B8954	NM_032432	ABLIM2	Familia de la proteína LIM de unión a actina, miembro 2
328	A0774N	BC012613	CPA3	Carboxipeptidasa A3 (mastocito)
329	B1821N	AA886340	CDH16	Cadherina 16, KSP-cadherina

ES 2 379 805 T3

330	B0830N	BM473615	ID4	Inhibidor de proteína 4 de unión a ADN, proteína de hélice-bucle-hélice negativa dominante
331	B4592	BC051895	AMMECR1	Proteína hipotética LOC286505
332	B7105	AK055782	PDLIM2	Dominio 2 de PDZ y LIM (místico)
333	B7281	NM_058186	FAM3B	Familia con similitud de secuencia 3, miembro B
334	B8081	BM981462	FLJ13710	Proteína hipotética FLJ13710
335	B9611	AB051541	KIAA1754	KIAA1754
336	A0720N	L21998	MUC2	Mucina 2, intestinal/traqueal
337	A9346N	AY358379	PP2135	Proteína PP2135
338	B3339	AA728828	TNNI2	Troponina I, esquelética, rápida
339	B4613	H57105	FLJ20273	Proteína de unión a ARN
340	B7353N	NM_176787	PIGN	Fosfatidilinositol glicano, clase N
341	A0955N	NM_006520	TCTE1L	Tipo 1 expresado en testículos asociados con complejo T
342	B3349N	AK056590	FLJ32028	Proteína hipotética FLJ32028
343	B3762	BC035311	ZD52F10	Dermocina
344	B6524	BM992839	MGC39820	Proteína hipotética MGC39820
345	B7323N	AB104887	APCDD1	Proteína 1 regulada por disminución por adenomatosis poliposis coli
346	B9836	R79561	ARRDC3	Proteína 3 que contiene el dominio arrestina
347	A1779N	AF025534	LILRB5	Receptor similar a inmunoglobulina de leucocito, subfamilia B (con dominios TM y ITEM), miembro 5
348	A6777	BQ276959	LGALS2	Lectina, de unión a galactósido, soluble, 2 (galectina 2)
349	B3330	AA709236		Locus transcrito
350	B3655	BC068277	MGC42367	Similar a la proteína 2010300C02Rik
351	B3929	AK024356	SOCS6	Supresor de señalización 6 de citocina
352	B6319	BX414085	ICSBP1	Proteína 1 de unión a secuencia consenso de interferón
353	B7526	R40594	CYP2U1	Citocromo P450, familia 2, subfamilia U, polipéptido 1
354	B7360	BU619898	LTB4DH	Leucotrieno B4 12-hidroxideshidrogenasa
355	A0708N	NM_000092	COL4A4	Colágeno, tipo IV, alfa 4
356	B5126	BX109845	SH3BGR2	Proteína rica en ácido glutámico de unión al dominio SH3 tipo 2
357	B5917N	BX648213	PALMD	Palmdelfina
358	B5381N	D42047	GPD1L	Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa tipo 1
359	B6553	AF506799	KIBPA	Proteína KIBRA
360	A1807N	NM_000860	HPGD	Hidroxi prostaglandina deshidrogenasa 15- (NAD)
361	A9493N	BX094381		
362	B3930	XM_290629	C14orf78	Marco de lectura abierto 78 del cromosoma 14
363	B3965	BX538289	ELL2	Factor de elongación, ARN polimerasa II, 2
364	B9454	AA033857	RAB40A	RAB40A, familia de oncogén del miembro RAS
365	B9462	BC030115	GAB1	Proteína 1 de unión asociada con GRB2
366	B9652	N47682	CPEB4	Proteína 4 de unión a elemento de poliadenilación citoplasmática
367	A6574N	AJ314646	RAB11FIP4	Proteína 4 de interacción con la familia RAB11 (clase II)
368	B4922N	AY358399	LRP10	Proteína 10 relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad
369	B7465	AL161983	MGC39820	Proteína hipotética MGC39820
370	B8295	NM_003884	PCAF	Factor asociado con P300/CBP
371	B8485	CA308403	WIPI49	Proteína de repetición WD40 que interacciona con fosfoinosítidos de 49 kDa

372	B9620	AL050204		Locus transcrito, LOC283585 débilmente similar a proteína hipotética XP_375099.1 [<i>Homo sapiens</i>]
373	A3079	J04599	BGN	Biglicano
374	A1981	U58514	CHI3L2	Quitinasa 3 tipo 2
375	A6696	NM_012072	C1QR1	Componente 1 del complemento, subcomponente q, receptor 1
376	B3933	AY358360	ELTD1	EGF, latrofilina y proteína 1 que contiene siete dominios transmembrana
377	B4392N	BC006428	CXXC5	Dedos 5 CXXC
378	B7167N	BC059408	OVOL1	Ovo tipo 1 (<i>Drosophila</i>)
379	B9455	BQ447358		Similar a proteína B230208J24Rik
380	B7425	BC033858	MGC45474	Proteína hipotética MGC45474
381	B9112	AI096890	RRAGD	Proteína D de unión a GTP relacionada con Ras
382	A2547N	BM017946	S100A10	Proteína A10 de unión a calcio S100 (ligando de anexina II, calpactina I, polipéptido ligero (p11))
383	A4385N	BC039031	IL1R2	Receptor 1 de interleucina, tipo II
384	B3586	AA748009	PPP2R5E	Proteína fosfatasa 2, subunidad B reguladora (B56), isoforma épsilon
385	B4083	NM_003156	STIM1	Molécula 1 de interacción estromal
386	A7666N	CA426441	BZRP	Receptor de benzodiazapina (periférico)
387	B4291	AK025198	XIST	Transcrito específico de X (inactivo)
388	B5776N	AF492675	HOP	Proteína del homeodominio sólo
389	B8377	AA194913	FLJ38725	Proteína hipotética FLJ38725
390	B7082	AK055323		Clon IMAGE:5263177de ADNc, cds parcial
391	B8932	AK127123	TOLLIP	Proteína de interacción Toll
392	B9135	BC066977	C1orf40	Marco de lectura abierto 40 del cromosoma 1
393	A0240N	NM_198974	PTK9	Proteína PTK9 de tirosina cinasa 9
394	B3108	NM_015669	PCDHB5	Protocadherina beta 5
395	B6482	BC025724	RDH12	Retinol deshidrogenasa 12 (todo trans y 9 cis)
396	B9470	N29574	RRAGD	Proteína D de unión a GTP relacionada con Ras
397	A8259N	AA496108	BNC2	Basonuclina 2
398	A8292N	AB037811	FLJ11280	Proteína hipotética FLJ11280
399	B3851	BC018984	CDKN2B	Inhibidor de la cinasa dependiente de ciclina (p15, inhibe CDK4)
400	B6267	AB020715	PCYOX1	Prenilcisteína oxidasa 1
401	B6807N	AA921756	NQO1	NAD(P)H deshidrogenasa, quinona 1
402	A2019N	AA442410	EMP1	Proteína 1 de la membrana epitelial
403	A8869N	BU737722	HMGCR	3-hidroxi-3-metilglutaril-Coenzima A reductasa
404	B4042	AW966019	APG-1	Proteína de choque térmico (familia hsp110)
405	B8379	XM_113763	C14orf125	Marco de lectura abierto 125 del cromosoma 14
406	A2081N	BC012609	SERPINB2	Inhibidor de serina (o cisteína) proteinasa, clado B (ovoalbúmina), miembro 2
407	B5059N	T88953		Locus transcrito
408	B6498	CR613330	PYM	Proteína PYM
409	B5992	NM_003045	SLC7A1	Familia 7 del portador de soluto (transportador de aminoácido catiónico, sistema y+), miembro 1
410	B8234	AF070632		Secuencia de ARNm del clon 24405
411	A4375N	NM_003617	RGS5	Regulador de la señalización 5 de la proteína G
412	B5419	AF287272	KLF5	Factor 5 tipo Kruppel (intestinal)
413	B6656	BU624522		Locus transcrito
414	B7367	CR616479	AMACR	Alfa-metilacil-CoA racemasa
415	B7435	AK093246	RPL13	Proteína L13 ribosómica
416	B8627	R39044	RAB27B	RAB27B, familia de oncogén del miembro

ES 2 379 805 T3

417	B8909	BM786734		RAS ADNc: FLJ21274 fis, clon COL01781
418	B6405	AA045332	ME1	Enzima 1 málica, NADP(+)-dependiente, citosólica
419	B7221N	AW952452	KNS2	Cinesina 2 de 60/70 kDa
420	B8404	AF173389	EEA1	Antígeno 1 de endosoma temprano, de 162 kD
421	A4381N	U81523	EBAF	Factor asociado con hemorragia endometrial (determinación izquierda-derecha, factor A; superfamilia beta del factor de crecimiento de transformación)
422	B3417	AA719160		Locus transcrito
423	B3725	AL832397	C10orf57	Marco de lectura abierto 57 del cromosoma 10
424	B4062	X14640	KRT13	Queratina 13
425	B4848N	AY052784	PRSS2	Proteasa, serina, 2 (tripsina 2)
426	B7193N	BX109986		Locus transcrito
427	B4114	NM_012137	DDAH1	Dimetilarginina dimetilaminohidrolasa 1
428	B4330	AB020637	KIAA0830	Proteína KIAA0830
429	B6510	BX648949	C9orf45	Marco de lectura abierto 45 del cromosoma 9
430	C0800	AI037967	TWIST2	Homólogo 2 de Twist (<i>Drosophila</i>)
431	C8469	CR597039	TIAM1	Invasión de linfoma de células T y metástasis 1
432	C4440	AA807607	PITPNC1	Proteína de transferencia de fosfatidilinositol, citoplásmico 1
433	C6675	AY358677	FAM3D	Familia con similitud de secuencia 3, miembro D
434	C8953	AL136678	DEPDC6	Proteína 6 que contiene el dominio DEP
435	C6100	BC071614	DKFZp762A217	Proteína hipotética DKFZp762A217
436	C7625	BU684240	EHF	Factor homólogo de Ets
437	C7512	NM_000186	CFH	Factor H del complemento
438	C9271	AV728846	RG9MTD3	Proteína 3 que contiene el dominio de (guanina-9-)metiltransferasa de ARN
439	C3769	AK023223	RAB10	RAB10, familia de oncogén del miembro RAS
440	C6082	AB041036	KLK11	Calicreína 11
441	C7013	AA058314	LGALS3	Lectina, de unión a galactósido, soluble, 3 (galectina 3)
442	C7133	NM_139205	HDAC5	Histona desacetilasa 5
443	C7172	AF377960	CTTNBP2	Proteína 2 de unión a cortactina
444	C8462	NM_000104	CYP1B1	Citocromo P450, familia 1, subfamilia B, polipéptido 1
445	C8844	BM916826	C20orf104	Marco de lectura abierto 104 del cromosoma 20
446	C4549	N64370	TMOD2	Tropomodulina 2 (neuronal)
447	C7157	NM_017654	SAMD9	Proteína 9 que contiene el dominio de motivo estéril alfa
448	C8471	NM_006315	RNF3	Proteína 3 de dedos anulares
449	C1018	BU615310		ADNc: FLJ22256 fis, clon HRC02860
450	C6068	AL831998	ITGB6	Integrina, beta 6
451	C4936	BX648303	SLC9A3R1	Familia 9 del portador de soluto (intercambiador sodio/hidrógeno), isoforma 3 regulador 1
452	C8058	BM701368	UNQ1912	HGS_RE408
453	C9354	NM_005555	KRT6B	Queratina 6B
454	C1520	BC014640	COL14A1	Colágeno, tipo XIV, alfa 1 (undulina)
455	D1161	BX537988	ST7L	Supresión de tumorigenicidad tipo 7
456	C3647	NM_006888	CALM1	Calmodulina 1 (fosforilasa cinasa, delta)
457	C3690	BC000140	PCCA	Propionil Coenzima A carboxilasa, alfa polipéptido
458	C6110	W67193	GFPT1	Glutamina-fructosa-6-fosfato transaminasa 1
459	C6130	W68668		Locus transcrito
460	C6808	AA040053	ZDHHC21	Dedo de zinc, proteína 21 que contiene el

ES 2 379 805 T3

461	C1466	H03229	GAB1	dominio DHHC Proteína 1 de unión asociada con GRB2
462	C6664	AI142832	MGC34923	Proteína hipotética MGC34923
463	C7461	CR609766	SNX24	Nexina 24 de clasificación
464	C7847	BM696919	CRYAB	Cristalino, alfa B
465	C8786	AA215586	LOC389119	Similar a ADNc 6530418L21 de RIKEN
466	C8060	AW293412	HDAC11	Histona desacetilasa 11
467	C7882	NM_013261	PPARGC1A	Receptor activado proliferativo de peroximas, gamma, coactivador 1, alfa
468	C8848	AF214736	EHD3	Proteína 3 que contiene el dominio EH
469	C9764	AY358433	UNQ473	DMC
470	C2154	AF007144	DIO2	Desyodinasas, yodotironina, tipo II
471	C1030	R87741		Locus transcrito
472	C4886	AI336346		Locus transcrito
473	C6915	AW016811		ADNc: FLJ22648 fis, clon HSI07329
474	C7731	AF245505	DKFZp56411922	Adlicano
475	C2086	W61361	SERPINB8	Inhibidor de serina (o cisteína) proteinasa, clado B (ovoalbúmina), miembro 8
476	C6882	AF186022	DAPP1	Adaptador doble de fosfotirosina y 3-fosfoinosítidos
477	C8161	AI359788	CEBPA	Proteína de unión a CCAAT/potenciador (C/EBP), alfa
478	C9877	BQ001493	EHD3	Proteína 3 que contiene el dominio EH
479	C0909	U38276	SEMA3F	Dominio Sema, dominio de inmunoglobulina (Ig), dominio básico corto, secretado, (semaforina) 3F
480	C4328	AK023966		ADNc FLJ13904 fis, clon THYRO1001895
481	C6559	AW272352		Locus transcrito
482	C6871	BC028377	ZNF502	Proteína 502 de dedos de zinc
483	C7403	XM_166203	CHASM	Probable ortólogo de proteína de músculo liso asociada con homología de calponina de ratón
484	C8321	CA435349	ABLIM1	Proteína 1 LIM de unión a actina
485	C8174	NM_016374	ARID4B	Dominio 4B interactivo rico en AT (tipo RBP1)
486	C8380	AK026659		ADNc: FLJ23006 fis, clon LNG00414
487	C9008	D82786	TA-PP2C	Proteína fosfatasa 2C de activación de células T
488	C0716	AI097310		Locus transcrito
489	C7721	NM_000361	THBD	Trombomodulina
490	C9243	AF218020	DBNL	Similar a drebrina
491	C0922	AF378757	PLXDC2	Proteína 2 que contiene el dominio plexina
492	C6572	NM_005197	CHES1	Supresor 1 del punto de control
493	C8146	BF697545	MGP	Proteína Gla de matriz
494	C4182	BU681491		Locus transcrito
495	C7601	AK129509	GJB5	Proteína de unión a Gap, beta 5 (conexina 31.1)
496	B9861	AL137346		Clon EUROIMAGE 1509279 de ADNc de inserto de longitud completa de ARNm
497	C4331	CR749576	FLJ37099	Proteína FLJ37099
498	C7353	AK122903	EPS8L2	EPSB tipo 2
499	D1274	BF435815		ARNm; ADNc DKFZp56400862 (del clon DKFZp56400862)
500	C7231	XM_036115	ZC3HDC5	Proteína 5 que contiene el dominio tipo CCCH de dedos de zinc
501	D1135	BX100753	COBL	Homólogo de Cordon-bleu (ratón)
502	D1258	BC064848	GAB1	Proteína 1 de unión asociada con GRB2
503	C0357	BC035779	SLC9A9	Familia 9 del portador de soluto (intercambiador sodio/hidrógeno), isoforma 9
504	C1422	AA095034	GK001	Proteína GK001
505	C4970	K03000	ALDH1A1	Familia 1 de aldehído deshidrogenasa, miembro A1

ES 2 379 805 T3

506	C8182	NM_024761	MOBKL2B	MOB1, activador de cinasa de un aglutinante Mps tipo 2B (levadura)
507	C8897	AA422013	KRT24	Queratina 24
508	C0568	BX648828	ROBO2	Roundabout, receptor de guía de axones, homólogo 2 (<i>Drosophila</i>)
509	C0903	X80197	KRTHB1	Queratina, pelo, básico, 1
510	C4194	XM_291315	KIAA1815	KIAA1815
511	C4545	N64339	GJB6	Proteína de unión a Gap, beta 6 (conexina 30)
512	C6719	BC013892	PVRL4	Proteína 4 relacionada con receptor de poliovirus
513	C8167	BC008201	C19orf32	Marco de lectura abierto 32 del cromosoma 19
514	C8880	AA224978	CAB39L	Tipo de proteína 39 de unión a calcio
515	D0410	BX116168		Locus transcrito
516	C0358	AA037425	OGFRL1	Receptor del factor de crecimiento opioide tipo 1
517	C0578	AA844234		Gen F730108M23 del ADNc similar a RIKEN
518	C0706	BX647199	OIP106	Proteína de 106 KDa de interacción con OGT (O-Glc-NAc transferasa)
519	C2245	AI346181	MAX	Proteína MAX
520	C4281	XM_087672	KIAA1935	Proteína KIAA1935
521	C4981	AK074480	ANXA1	Anexina A1
522	C8388	N92299	AZI2	Proteína 2 inducida por 5-azacitidina
523	C7956	AK001763	FLJ10901	Proteína hipotética FLJ10901
524	C8152	D87463	PHYHIP	Proteína de interacción fitanoil-CoA hidroxilasa
525	C9054	AW629018		
526	C8580	CR611223	CLDN7	Claudina 7
527	D0385	AK125106	SYTL5	Sinaptotagmina tipo 5
528	D1418	BC014006	PGLS	6-fosfogluconolactonasa
529	C8023	M81141	HLA-DQB1	Complejo mayor de histocompatibilidad, clase II, DQ beta 1
530	D2960	NM_033281	MRPS36	Proteína S36 ribosómica mitocondrial
531	D3738	AA854756	ZYX	Zixina
532	D3747	AA843607	LOC120376	Proteína hipotética LOC120376
533	E0702	BE045592	SLC7A1	Familia 7 del portador de soluto (transportador de aminoácido catiónico, sistema y+), miembro 1
534	D6549	BC004888	FLJ10052	Proteína hipotética FLJ10052
535	D7675	AK127140	RAB7B	RAB7B, familia de oncogén del miembro RAS
536	E0203	BC081542	MAF	Homólogo del oncogén de fibrosarcoma musculoaponeurótico V-maf (aviar)
537	E1379	AK123877	ALDH3A2	Familia 3 de aldehído deshidrogenasa, miembro A2
538	D3758	H28090	CYYR1	Proteína 1 rica en cisteína y tirosina
539	D9508	AA928325	FLJ25124	Proteína hipotética FLJ25124
540	D3013	AK096741	SARG	Proteína regulada específicamente por andrógeno
541	E0942	NM_173060	CAST	Calpastatina
542	E0921	AF309033	TNKS2	Tanquirasa, ADP-ribosa polimerasa 2 relacionada con anquirina de interacción con TRF1
543	D3229	BC054488	RICS	Proteína de activación de Rho GTPasa
544	D5318	NM_004185	WNT2B	Familia del sitio de integración MMTV de tipo Wingless, miembro 2B
545	D5082	XM_374137		LOC389328 hipotética.
546	E0523	BC017483	AHNAK	Nucleoproteína AHNAK (desmoyoquina)
547	E1815	XM_041162	NDFIP2	Proteína 2 de interacción de la familia Nedd4
548	E0542	NM_152243	CDC42EP1	Proteína efectora CDC42 (unión a Rho GTPasa) 1

ES 2 379 805 T3

549	E0387	AI242329	ANKRD22	Dominio 22 de repetición de anquirina
550	E0785	BC039269	NALP2	NACHT, proteína 2 que contiene PYD y repetición rica en leucina
551	D3359	AJ272268	CACNA2D3	Canal de calcio, dependiente de voltaje, subunidad de alfa 2/delta 3
552	D4215	AB096175	SP5	Factor de transcripción Sp5
553	D4784	AK026652	PADI1	Peptidil arginina desiminasa, tipo I
554	D5720	AA970157	FLJ10052	Proteína hipotética FLJ10052
555	D9210	CA844321	MGC3196	Proteína hipotética MGC3196
556	D8412	BC071956	ZBED2	Dedo de zinc, proteína 2 que contiene el dominio BED
557	E0009	AA947873		
558	D5189	BX101094	FLJ21128	Proteína hipotética FLJ21128
559	D7736	AI022908		Locus transcrito
560	D3893	AK074037	CAPN3	Calpaína 3, (p94)
561	D3442	NM_145800	6-Sep	Septina 6
562	D5553	AA031882		Locus transcrito
563	D3309	AA768426	EVA1	Antígeno 1 similar a V epitelial
564	D4861	AA913741		Locus transcrito
565	D5799	CA450336		Locus transcrito
566	D9407	CR749484	LOC152519	Proteína hipotética LOC152519
567	E0630	CR591347	KRT13	Queratina 13
568	D4231	C05897	ARL5	Factor de ribosilación de ADP tipo 5
569	E0476	AF000984	DDX3Y	Polipéptido 3 de caja DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp), ligado al cromosoma Y
570	E0606	AU159959	ATP5A1	ATP sintasa, de transporte de H ⁺ , complejo de F1 mitocondrial, subunidad alfa, isoforma 1, músculo cardíaco
571	E0733	NM_004684	SPARCL1	SPARC tipo 1 (mast9, hevina)
572	E1304			
573	D6657	AA554045	GALNT12	UDP-N-acetil-alfa-D-galactosamina:polipéptido N-acetilgalactosaminiltransferasa 12 (GalNAc-T12)
574	D8524	BX537500	PDCD4	Muerte celular programada 4 (inhibidor de la transformación neoplásica)
575	D1811	AK128814		ADNc FLJ25106 fis, clon CBR01467
576	D4059	BF512606		Locus transcrito
577	D4493	BC040438	MGC48915	Proteína hipotética MGC48915
578	D7516	AI074524	DKFZp434H2111	Proteína hipotética DKFZp434H2111
579	D4241	CD356848	SERPINB1	Inhibidor de serina (o cisteína) proteinasa, clado B (ovoalbúmina), miembro 1
580	D5210	AA937197		Locus transcrito
581	D5265	NM_015976	SNX7	Nexina 7 de clasificación
582	D8527	CR613409	CA2	Anhidrasa carbónica II
583	D8911	NM_014912	CPEB3	Proteína 3 de unión a elemento de poliadenilación citoplasmática
584	E1348	BX640908	EVI1	Sitio 1 de integración viral ecotrópico
585	D3664	BM726206		LOC387723 hipotética
586	D8494	CR599578	ACAA2	Acetil-Coenzima A aciltransferasa 2 (mitocondrial 3-oxoacil-Coenzima A tiolasa)
587	E1775	NM_002773	PRSS8	Proteasa, serina, 8 (prostasina)
588	D1767	BC014357	CCND2	Ciclina D2
589	D3483	AI261804	TRERF1	Factor 1 de regulación transcripcional
590	E0274	AI094825		Locus transcrito
591	D4235	BC068512	FLJ20323	Proteína hipotética FLJ20323
592	D4858	AA913711	T2BP	Proteína de unión a TRAF2
593	D9098	BM971909	HOXA3	Caja homeótica A3
594	D9339	AI033474	SNTB1	Sintrofina, beta 1 (proteína A1 asociada con distrofina, de 59 kDa, componente básico 1)
595	D9939	CA313473		Locus transcrito
596	A3096	CR601701	ANXA3	Anexina A3

ES 2 379 805 T3

597	F0352	NM_018414	SIAT7A	Sialiltransferasa 7 ((alfa-N-acetilneuraminil-2,3-beta-galactosil-1,3)-N-acetil galactosaminida alfa-2,6-sialiltransferasa) A
598	B2819N	XM_209073	LOC284207	Proteína hipotética LOC284207
599	F2306	NM_015278	SASH1	Proteína 1 que contiene el dominio SH3 y SAM
600	F3391	NM_005461	MAFB	Homólogo B del oncogén de fibrosarcoma musculoaponeurótico V-maf (aviar)
601	F7019	AK001590	C14orf132	Marco de lectura abierto 132 del cromosoma 14
602	F8408	AJ007590	RP2	Retinitis pigmentosa 2 (recesiva ligada al cromosoma X)
603	A3113	M60445	HDC	Histidina descarboxilasa
604	B7331	H45412	EHD2	Proteína 2 que contiene el dominio EH
605	F1393	CR623808	CPB1	Carboxipeptidasa B1 (tejido)
606	F1134	AL833218	FMO2	Monooxigenasa 2 que contiene flavina
607	F2073	NM_020990	CKMT1	Creatina cinasa, mitocondrial 1 (ubicua)
608	F6601	AL360204		Clon EUROIMAGE 980547 de ADNc de inserto de longitud completa de ARNm
609	B6922	AK075271		Locus transcrito, débilmente similar a serina palmitoiltransferasa NP_035609.1, subunidad 2 de base de cadena larga [<i>Mus musculus</i>]
610	F3501	AK021708	PDZRN3	Dedo 3 RING que contiene el dominio PDZ
611	F8409	BC041096	CLCA2	Canal de cloruro, activado por calcio, miembro 2 de la familia
612	A3116	M38258	RARG	Receptor de ácido retinoico, gamma
613	F3313	AK025164	FLJ21511	Proteína hipotética FLJ21511
614	F3839	AF131754	SH3BGRL2	Proteína rica en ácido glutámico de unión al dominio SH3 tipo 2
615	F5488	AK075247	GJB6	Proteína de unión a Gap, beta 6 (conexina 30)
616	A4387N	AB006190	AQP7	Acuaporina 7
617	F0482	AK000008	BHMT2	Betaína-homocisteína metiltransferasa 2
618	F1478	BC030816	C9orf13	Marco de lectura abierto 13 del cromosoma 9
619	F5638	NM_004669	CLIC3	Canal 3 intracelular de cloruro
620	F5279	L76566	HLA-DRB6	Complejo mayor de histocompatibilidad, clase II, DR beta 6 (pseudogén)
621	F6365	AL080114	C10orf72	Marco de lectura abierto 72 del cromosoma 10
622	F7620	AI090141	KSR	Supresor de cinasa de ras
623	F8132	AW975713		Gen hipotético suportado por AK125149
624	F8153	BF435861		Similar al homólogo de EVI-5
625	F3457	AB020630	PPP1R16B	Proteína fosfatasa 1, subunidad 16B reguladora (inhibidor)
626	F6060	AK023814	FLJ41603	Proteína FLJ41603
627	F6860	BE464137		Similar a envoplaquina (antígenos del péncigo paraneoplásico de 210 kDa) (p210) (precursor de la envuelta cornificada de 210 kDa)
628	F7748	AW139719		Locus transcrito
629	B8706	R52614	CDK5R1	Cinasa 5 dependiente de ciclina, subunidad 1 reguladora (p35)
630	G0364	AF339767		Clon IMAGE:116415, secuencia de ARNm
631	C8700	AK125664		ADNc FLJ43676 fis, clon SYNOV4009129
632	F0411	AW898615		
633	C6003	M20030	SPRR2B	Proteína 2B rica en prolina pequeña
634	D8310	AA772401		
635	F3398	AK027031	ELOVL6	Miembro 6 de la familia ELOVL, elongación de ácidos grasos de cadena larga (tipo FEN1/Elo2, SUR4/Elo3, levadura)
636	F4079	M60047	FGFBP1	Proteína 1 de unión a factor de crecimiento de fibroblastos

ES 2 379 805 T3

637	F5885	AK023050			
638	A0203N	NM_000043	TNFRSF6		Superfamilia del receptor de factor de necrosis tumoral, miembro 6
639	E2113	BC005248	EIF1AY		Factor 1A de iniciación de la traducción de eucariotas, ligado al cromosoma Y
640	F3641	AY099469	SLAC2-B		SLAC2-B
641	B8192	R53538	BCL2L10		Proteína 10 de tipo BCL2 (facilitador de la apoptosis)
642	D8475	A1242023			ARNm; ADNc DKFZp564F212 (del clon DKFZp564F212)
643	F0236	AK021710	KIAA1164		Proteína hipotética KIAA1164
644	F3279	M61854	CYP2C19		Citocromo P450, familia 2, subfamilia C, polipéptido 19
645	F5888	AK001044			Locus transcrito, débilmente similar a proteína hipotética XT_375099.1 LOC283585 [<i>Homo sapiens</i>]
646	F7716	BE178490			Gen hipotético soportado por AK093334; AL833330; BC020871; BC032492
647	A0375N	BC057815	RRAD		Proteína relacionada con Ras asociada con diabetes
648	F1451	NM_000070	CAPN3		Calpaína 3, (p94)
649	F7080	A973637	GGTA1		Glicoproteína, alfa-galactosiltransferasa 1
650	F7457	BQ276976	PIP		Proteína inducida por prolactina
651	F7477	AW868740	SYNPO2		Sinaptopodina 2
652	F8116	BF593260	F8A		Proteína asociada al factor de coagulación VIII (transcrito intrónico)
653	F0672	AB007861	MGC22014		Proteína hipotética MGC22014
654	A3263N	CR591371	CSTB		Cistatina B (estefina B)
655	B3543	AK092257			Similar a calpaína 9 (calpaína específica del tubo digestivo) (nCL-4) (proteína CG36)
656	B4617	BG259776	COBL1		Proteína 1 de tipo COBL
657	C6813	BC025756	MGC35558		Proteína hipotética MGC35558
658	F0243	AL359055			Clon de ADNc de inserto de longitud completa ZD75H06
659	F0647	AK001160	MANSC1		Proteína 1 que contiene dominio MANSC
660	F2106	AK000349	CDKAL1		Proteína 1 de tipo proteína 1 asociada con la subunidad reguladora CDK5
661	F3287	X56807	DSC2		Desmocolina 2
662	A5977N	BX648892	MLSTD2		Proteína 2 que contiene dominio de esterilidad masculina
663	F0035	NM_000779	CYP4B1		Citocromo P450, familia 4, subfamilia B, polipéptido 1
664	F0461	BC033897	LOC51244		Proteína hipotética LOC51244
665	F0501	NM_000389	CDKN1A		Inhibidor 1A de cinasa dependiente de ciclina (p21, Cip1)
666	F3565	M61853	CYP2C18		Citocromo P450, familia 2, subfamilia C, polipéptido 18
667	B9118	AK002158	IAN4L1		Nucleótido 4 asociado con inmunidad tipo 1 (ratón)
668	C4829	Auk095022	BOK		Asesino ovárico relacionado con BCL-2
669	D8392	BC040326	LOC338758		Proteína hipotética LOC338758
670	F0726	AF217974	TSRC1		Proteína 1 que contiene repetición de trombospondina
671	F0555	BC004557	FLJ22457		Proteína hipotética FLJ22457
672	F2445	AK022644	MGC3101		Proteína hipotética MGC3101
673	F3821	AL117612	MAL2		Mal, Proteína 2 de diferenciación de células T
674	F5702	AK024358	MPEG1		Gen 1 expresado en macrófagos
675	F0471	AK025015	FLJ13955		Proteína hipotética FLJ13955
676	F1552	AF163573	CARKL		Proteína de tipo hidrato de carbono cinasa
677	E0382	AF178930	CARD15		Familia de dominio de reclutamiento de caspasa, miembro 15
678	F3433	L13972	SIAT4A		Sialiltransferasa 4A (beta-galactósido alfa-2,3-sialiltransferasa)

ES 2 379 805 T3

679	F0915	M55284	PRKCH	Proteína cinasa C, eta
680	F1655	AL137343	NSE1	NSE1
681	F3545	AB016247	SC5DL	Proteína de tipo estero1-C5-desaturasa (homólogo de ERG3 delta-5-desaturasa, fúngico)
682	F7934	A1632692		Locus transcrito
683	A8350	BG210119		Locus transcrito
684	C6412	BX090035		Locus transcrito
685	D1066	AI271468	LOC146439	LOC146439 hipotética
686	F4941	U83115	AIM1	Ausente en melanoma 1
687	F5083	CR596715	FLJ11036	Proteína hipotética FLJ11036
688	F5815	AK022162	XRCC5	Reparación de rayos X que complementa la reparación defectuosa en células de hámster chino 5 (reintegración de rotura bicatenaria; autoantígeno Ku, de 80 kDa)
689	F5904	XM_171054	KIAA0527	Proteína KIAA0527
690	F0238	AK001872	PDCD1LG2	Ligando 2 de muerte celular programada 1
691	B1756	NMU_017520	HSMPP8	Fosfoproteína de fase M, mpp8
692	B3485	AA725671		Gen hipotético soportado por BC039682
693	G2700	AK126982	LHX6	Caja homeótica 6 de LIM
694	G3894	BC034423		<i>Homo sapiens</i> , clon IMAGE:4821 006, ARNm, cds parcial
695	F1384	AK024438	FLJ38705	Proteína hipotética FLJ38705
696	G4040	NM_176792	MRPL43	Proteína L43 ribosómica mitocondrial
697	F0428	AL442080		Locus transcrito, moderadamente similar a XP_371769.1 LOC389321 hipotética [<i>Homo sapiens</i>] PP12104
698	F6366	BE646407		
699	F3811	AK025142		
700	F9134	NM_052931	SLAMF6	Miembro 6 de la familia SLAM
701	G2865	BM973051	NEBL	Nebulete
702	G0171	BC014429	KCNE4	Canal de potasio activado por voltaje, familia relacionada con Idk, miembro 4
703	G2920	AK056882	RASEF	Proteína que contiene dominio de mano RAS y EF
704	F1391	AF131741		Gen hipotético soportado por AF131741
705	G3995	AL833666		ARNm; ADNc DKFZp667H1521 (del clon DKFZp667H1521)
706	G4008	AL832268		ARNm; ADNc DKFZp667N1617 (del clon DKFZp667N1617)
707	F0475	NM_000149	FUT3	Fucosiltransferasa 3 (galactósido 3(4)-L-fucosiltransferasa, grupo de sangre de Lewis incluido)
708	B2314N	R41489	DLGAP3	Discos, proteína grande 3 asociada con homólogo (<i>Drosophila</i>)
709	G3565	AK055411		Gen hipotético soportado por AK055411
710	G6825	AK093529		ADNc FLJ36210 fis, clon THYMU2000155
711	G7829	BM978663	SERPINB3	Inhibidor de serina (o cisteína) proteinasa, clado B (ovoalbúmina), miembro 3
712	F0996	NM_002034	FUT5	Fucosiltransferasa 5 (alfa (1,3) Fucosiltransferasa)
713	F9178	AF326350	PRRG3	Gla rica en prolina (ácido G-carboxiglutámico) 3 (transmembrana)
714	G3989	AK091263		Gen hipotético soportado por AK091263
715	F0078	AK172792	SCNN1A	Canal de sodio, no activado por voltaje 1 alfa
716	F0216	NM_003954	MAP3K14	Proteína cinasa cinasa cinasa 14 activada por mitógenos
717	F0595	AK024035	KLAA1160	Proteína KIAA1160
718	F9938	XM_373433	LOC90379	Proteína hipotética BC002926
719	F9254	AK027740	FLJ14834	Proteína hipotética FLJ14834
720	G2576	BX537525	ZNF185	Proteína 185 de dedos de zinc (dominio LIM)
721	G4004	AL832797		Gen hipotético soportado por AL832797

ES 2 379 805 T3

722	G5799	A946808	DEFB1	Defensina, beta 1
723	G3001	NM_003956	CH25H	Colesterol 25-hidroxilasa
724	G3299	AF193809	RHCG	Grupo sanguíneo de Rhesus, glicoproteína C
725	G3825	AK096000		ADNc FLJ38681 fis, clon KIDNE2000678
726	F1071	AL357535	MESP1	Mesodermo posterior 1
727	F4167	AK092850	SVIL	Supervilina

Tabla 2. Genes regulados por incremento

N.º de asignación	LMMID	REGISTRO	SÍMBOLO	NOMBRE DEL GEN
728	A0816	NM_004506	HSF2	Factor 2 de transcripción de choque térmico
729	A1571	NM_003940	USP13	Proteasa 13 específica de ubiquitina (isopeptidasa T-3)
730	A1604	X52186	ITGB4	Integrina, beta 4
731	A1757	M24486	P4HA1	Procolágeno-prolina, 2-oxoglutarato 4-dioxigenasa (prolina 4-hidroxilasa), polipéptido alfa I
732	A2480	NM_004484	GPC3	Glipicano 3
733	A3565	L10678	PFN2	Profilina 2
734	A4866	NM_001631	ALPI	Fosfatasa alcalina, intestinal
735	A0378	CR599617	ADM	Adrenomedulina
736	A1054	M13755	G1P2	Proteína inducible por interferón alfa (clon IFI-15K)
737	A0797	J04162	FCGR3A for	Receptor para fragmento Fc de IgG, IIIb de baja afinidad (CD16)
738	A1589	U97188	IMP-3	Proteína 3 de unión a ARNm de IGF-II
739	A1764	NM_002526	NT5E	5'-nucleotidasa, ecto (CD73)
740	A2466	AJ223728	CDC45L	Similar a ciclo 45 de división celular CDC45 (<i>S. cerevisiae</i>)
741	A2237	AB082525	TGFB1I4	Transcrito 4 inducido por el factor de crecimiento transformante beta 1
742	A2355	BC047350	HSPD1	Proteína de choque térmico 1 de 60 kDa (chaperonina)
743	A4630	U89281	RODH	3-hidroxiesteroide epimerasa
744	A4873	NM_002362	MAGEA4	Antígeno de melanoma, familia A, 4
745	A4963	AB000449	VRK1	Cinasa 1 relacionada con vaccinia
746	A5215	H59101	USP52	Proteasa 52 específica de ubiquitina
747	A6100	BC014274	STARD7	Proteína 7 que contiene el dominio START
748	A1605	NM_203401	STMN1	Estatmina 1/oncoproteína 18
749	A1581	NM_002318	LOXL2	Proteína 2 de tipo lisil oxidasa
750	A3058	NM_202002	FOXM1	Caja Forkhead M1
751	A2735	BC036811	PTH2R	Receptor 2 de hormona paratiroidea
752	A2978	X04741	UCHL1	Ubiquitina carboxiterminal esterasa L1 (Ubiquitina tiolesterasa)
753	A3981	AJ000522	DNAH17	Dineína, polipéptido 17 pesado, axonémico
754	A4611	S79851	TXNRD1	Tiorredoxina reductasa 1
755	A4860	NM_000057	BLM	Síndrome de Bloom
756	A4750	AL833398	CTBP2	Proteína 2 de unión c-terminal
757	A5634	XM_031561	C15orf23	Marco de lectura abierto 23 del cromosoma 15
758	A1463	BC002601	NFKBIA	Factor nuclear del potenciador del gen de polipéptido ligero kappa en inhibidor de células B, alfa
759	A3243	CR624652	TTK	Proteína cinasa TTK
760	A5623	AF044588	PRC1	Proteína reguladora de la citocinesis 1
761	A0084	BC075838	LAMB3	Laminina, beta 3
762	A0812	M16937	HOXB7	Caja homeótica B7
763	A0782	M26481	TACSTD1	Transductor 1 de señales de calcio asociado con tumores

ES 2 379 805 T3

764	A1209	NM_001071	TYMS	Timidilato sintetasa
765	A2254	NM_006845	KIF2C	Miembro 2C de la familia de cinesina
766	A3097	M65199	EDN2	Endotelina 2
767	A4862	NM_175743	MAGEA2	Antígeno de melanoma, familia A, 2
768	A5211	R55332	LRIG1	Repeticiones ricas en leucina y dominios 1 de tipo inmunoglobulina
769	A0094	NM_002293	LAMC1	Laminina, gamma 1 (anteriormente LAMB2)
770	A0372	BC039299	STIP1	Fosfoproteína 1 inducida por estrés (proteína organizadora de Hsp70/Hsp90)
771	A0277	NM_001406	EFNB3	Efrina-B3
772	A1774	NM_001679	ATP1B3	ATPasa, polipéptido 3 transportador de Na ⁺ /K ⁺
773	A2241	BC015122	LDHB	Lactato deshidrogenasa B
774	A3587	NM_003088	FSCN1	Homólogo 1 de fascina, proteína de empaquetamiento de actina (<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>)
775	A0947	NM_006278	SIAT4C	Sialiltransferasa 4C (beta-galactosidasa alfa 2,3-sialiltransferasa
776	A1618	X70683	SOX4	SRY (región determinante del sexo del cromosoma Y)-caja 4
777	A4193	BU737730	RBP1	Proteína 1 de unión a retinol, celular
778	A4619	U73727	PTPRU	Proteína tirosina fosfatasa, tipo receptor, U
779	A4959	AF042282	EXO1	Exonucleasa 1
780	A0246	U07620	MAPK10	Proteína cinasa activada por mitógeno
781	A0384	NM_000582	SPP1	Fosfoproteína 1 secretada (osteopontina, sialoproteína ósea I, proteína 1 de activación de linfocitos T temprana
782	A0828	M59911	ITGA3	Integrina, alfa 3 (antígeno CD49C, subunidad alfa 3 del receptor VLA-3)
783	A1231	X83957	NEB	Nebulina
784	A2352	NM_006907	PYCR1	Pirrolin-5-carboxilato reductasa 1
785	A4960	AF043472	KCNS3	Canal de potasio activado por voltaje, rectificador retrasado, subfamilia S, miembro 3
786	A2143	NM_001219	CALU	Calumenina
787	A2490	BC011674	PLOD3	Procolágeno-lisina, 2-oxoglutarato 5-dioxigenasa 3
788	A3984	AJ001381	MYO1B	Miosina IB
789	A4585	CR591649	SMS	Espermina sintasa
790	A4962	S76474	NTRK2	Tirosina cinasa neurotrófica, receptora, tipo 2
791	A5207	CA422300	MAC30	Proteína hipotética MAC30
792	A1907	X53586	ITGA6	Integrina, alfa 6
793	A2149	U44772	PPT1	Palmitoil-proteína tioestearasa 1 (lipofuscinosis ceroides, neuronal 1, infantil)
794	A5229	AA128437	GNPTAG	N-acetilglucosamina-1-fosfotransferasa, subunidad gamma
795	A0905	X14723	CLU	Clusterina (inhibidor de la lisis del complemento, SP-40,40, glicoproteína 2 sulfatada, mensaje 2 de la próstata reprimido por testosterona, apolipoproteína J)
796	A2027	D83018	NELL2	NEL-tipo 2 (pollo)
797	A2576	U20582	LOC81569	Proteína de tipo actina
798	A3730	X02761	FN1	Fibronectina 1
799	A0415	M77349	TGFBI	Factor de crecimiento transformante, beta-inducido, 68 kDa
800	A0964	L36818	INPPL1	Proteína 1 de tipo inositol polifosfato fosfatasa
801	A3351	NM_005544	IRS1	Sustrato 1 del receptor de insulina

ES 2 379 805 T3

802	A5262	NM_020182	TMEPAI	ARN inducido por andrógeno prostático, transmembrana
803	A5657	BQ219156	HSPC150	Proteína HSPC150 similar a enzima de conjugación de ubiquitina
804	A5407	AB002305	ARNT2	Translocador nuclear 2 del receptor de aril-hidrocarburo
805	A0148	M16038	LYN	Homólogo del oncogén relacionado con el virus del sarcoma de Yamaguchi V-yes-1
806	A0289	U46838	MCM6	Mantenimiento del minicromosoma deficiente 6 (homólogo de MIS5, <i>S. pombe</i>) (<i>S. cerevisiae</i>)
807	A0692	X57548	CDH2	Cadherina 2, tipo 1, N-cadherina (neuronal)
808	A1788	D10704	CHKA	Colina cinasa alfa
809	A1687	U29171	CSNK1D	Caseína cinasa 1, delta
810	A3526	BQ423966	RQCD1	RCD1 requerido para el homólogo 1 de diferenciación celular (<i>S. pombe</i>)
811	A4376	NM_173075	APBB2	Proteína de unión al precursor de amiloide beta (A4), familia B, miembro 2 (tipo Fe65)
812	A4513	Z21488	CNTN1	Contactina 1
813	A4685	NM_001421	ELF4	Factor 4 de tipo E74 (factor de transcripción de dominio ets)
814	A2523	D21238	GLRX	Glutarredoxina (tioltransferasa)
815	A2555	AK056446	HSPCA	Proteína 1 de choque térmico de 90 kDa, alfa
816	A0161	BC000013	IGFBP3	Proteína 3 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina
817	A1682	D87119	TRIB2	Homólogo 2 de Tribbles (<i>Drosophila</i>)
818	A2543	NM_213674	TPM2	Tropomiosina 2 (beta)
819	A4141	D84239	FCGBP	Fragmento Fc de proteína de unión a IgG
820	A5679	BC037430		Locus transcrito, moderadamente similar a XP_375099.1 proteína hipotética LOC283585 [<i>Homo sapiens</i>]
821	A6307	AA639599	SLC12A2	Familia 12 del portador de soluto (transportadores de sodio/potasio/cloruro), miembro 2
822	A1153	M61199	SSFA2	Antígeno 2 específico de esperma
823	A4672	NM_022173	TIA1	Proteína de unión a ARN asociada con gránulos citotóxicos TIA1
824	A4700	U51336	ITPK1	Inositol 1,3,4-trifosfato 5/6 cinasa
825	A0333	NM_002466	MYBL2	Homólogo del oncogén viral de la mieloblastosis V-myb (aviar)-tipo 2
826	A1783	AK055379	MCM7	Mantenimiento del minicromosoma MCM7 deficiente 7 (<i>S. cerevisiae</i>)
827	A1824	NM_002224	ITPR3	Receptor de inositol 1,4,5-trifosfato, tipo 3
828	A3889	NM_002226	JAG2	Jagged 2
829	A5576	BC008141	TREX2	Tres prima exonucleasa 2 de reparación
830	A0018	NM_198433	STK6	Serina/treonina cinasa 6
831	A4559	AK055599	CTSL	Catepsina L
832	A5290	AK126848	DKFZP564K0822	Proteína hipotética DKFZp564K0822
833	A1510	NM_004385	CSPG2	Proteoglicano 2 de sulfato de condroitina (versicano)
834	A2898	AB030905	CBX3	Homólogo 3 de chromobox (homólogo de HP1 gamma, <i>Drosophila</i>)
835	A3156	L02870	COL7A1	Colágeno, tipo VII, alfa 1 (epidermolisis ampollosa, distrófica, dominante y recesiva)
836	A3890	AF020774	ALOX12P2	Pseudogén 2 de araquidonato 12-lipoxigenasa
837	A5422	W91908	4S-6ST	Proteína asociada con RAG de células B
838	A0215	NM_021874	CDC25B	Ciclo 25B de división celular
839	A1797	D00244	PLAU	Activador de plaminógeno, urocinasa

ES 2 379 805 T3

840	A3298	M91670	UBE2S	Enzima E2S de conjugación de ubiquitina
841	A3555	K02581	TK1	Timidina cinasa 1, soluble
842	A4954	AB024402	ING1	Familia de inhibidores del crecimiento, miembro 1
843	A5556	BC071586	TIMP2	Inhibidor tisular de metaloproteinasas 2
844	A0429	BM554470	UBE2C	Enzima E2C de conjugación de ubiquitina
845	A3015	NM_201442	C1S	Componente 1 del complemento, subcomponente s
846	A1835	U18018	ETV4	Gen 4 variante ets (proteína de unión al potenciador E1A, E1AF)
847	A2647	NM_004350	RUNX3	Factor 3 de transcripción relacionado con Runt
848	A6089	CR749654	PHLDB2	Dominio de tipo homología con pleckstrina, familia B, miembro 2
849	A1956	NM_004010	DMD	Distrofina (distrofia muscular, tipos Duchenne y Becker)
850	A4895	BC007290	TSPAN-1	Tetraspanina 1
851	A0611	BC037236	DUSP6	Fosfatasa 6 de especificidad doble
852	A2324	M16650	ODC1	Ornitina descarboxilasa 1
853	A3181	NM_002193	INHBB	Inhibina, beta B (polipéptido beta activa AB)
854	A6389	AB005754	POLS	Polimerasa (dirigida por ADN) sigma
855	A8210	BM682097	KIAA0934	KIAA0934
856	A9464	NM_181746	LASS2	Homólogo 2 de aseguramiento de longevidad LAG1 (<i>S. cerevisiae</i>)
857	B0593	Z98457	TNIK	Cinasa de interacción TRAF2 y NCK
858	B2439	U04735	STCH	Proteína chaperona 70 de estrés, asociada con microsomas, 60 kDa
859	B8086	AK027560	CYP26A1	Citocromo P450, familia 26, subfamilia A, polipéptido 1
860	C2112	AI022193	A1BG	Alfa-1-B glicoproteína
861	C0649	AK095608	CA5BL	Anhidrasa carbónica tipo VB
862	A7341	N68321		Locus transcrito
863	B3449	AF269150	SMBP	Proteína de unión a SM-11044
864	B4367	BC020553	PYCR2	Familia de pirrolin-5-carboxilato reductasa, miembro 2
865	B4849	NM_005964	MYH10	Miosina, polipéptido 10 pesado, no muscular
866	B6782	NM_025076	UXS1	UDP-glucuronato descarboxilasa 1
867	A6532	AY358336	LOC255743	Proteína hipotética LOC255743
868	A6923	AA677283	KIRREL	Familia de tipo IRRE (<i>Drosophila</i>)
869	A7793	AI376713	NEDD4L	Proteína de tipo 4 regulada por disminución en el desarrollo, expresada en células precursoras neurales
870	A9286	AA453356	TNRC6	Proteína 6 que contiene repetición de trinucleótidos
871	A9174	AB011089	TRIM2	Proteína 2 que contiene motivo tripartito
872	B2466	BX537724	ITPKB	Inositol 1,4,5-trisfosfato 3-cinasa B
873	B4033	CR624122	TUSC3	Candidato 3 supresor de tumores
874	C4869	AA621719	SMC4L1	Mantenimiento estructural SMC4 de cromosomas 1 tipo 4 (levadura)
875	A9531	BM680495	TOP1MT	Topoisomerasa (ADN) I, mitocondrial
876	A9014	AK023320	FTS	Homólogo de dedos de los pies fusionados (ratón)
877	A9357	R98981	ANKRD10	Dominio 10 de repetición de anquirina
878	B0727	AA631782		Locus transcrito
879	B4084	NM_000484	APP	Proteína precursora de amiloide beta (proteasa nexina-II, enfermedad de Alzheimer)
880	B8220	AF074264	LRP6	Proteína 6 relacionada con el receptor de

ES 2 379 805 T3

				lipoproteínas de baja densidad
881	C3692	AI816254	USP11	Proteasa 11 específica de ubiquitina
882	A6670	AB018279	SV2A	Glicoproteína 2A de vesículas sinápticas
883	A8106	AA868635		
884	A8521	AI253195	KIAA1126	Proteína KIAA1126
885	B0604	AK128046		ARNm; ADNc DKFZp686C24246 (del clon DKFZp686C24246)
886	B4227	CR625671	FLJ10439	Proteína hipotética FLJ10439
887	C4982	BX647555	SLC20A1	Familia 20 del portador de soluto (transportador de fosfato), miembro 1
888	A6518	AJ005580	ADAM23	Dominio 23 de metaloproteínasa y desintegrina A
889	A6656	AK096350	C9orf25	Marco de lectura abierto 25 del cromosoma 9
890	A7144	X51441	SAA2	Amiloide sérico A2
891	A7856	AA237013	HNRPL	Ribonucleoproteína L nuclear heterogénea
892	A6681	AK023594	SMYD3	Proteína 3 que contiene los dominios SET y MYND
893	A7277	N34387	GRK7	Receptor cinasa 7 acoplado a proteínas G
894	A8204	BX648041	NEDD9	Proteína 9 regulada por disminución en el desarrollo, expresada en células precursoras neurales
895	B4078	AK093049	SERPINA3	Inhibidor de serina (o cisteína) proteínasa, clado A (alfa-1 antiproteínasa, antitripsina), miembro 3
896	A6657	BX451670	FLJ30525	Proteína hipotética FLJ30525
897	A6786	CR594469	RHOQ	Familia del gen homólogo a Ras, miembro Q
898	A7296	N47009	FLJ00012	Proteína hipotética FLJ00012
899	A8544	NM_014519	ZNF232	Proteína 232 de dedos de zinc
900	B0930	AI671885	SLC20A1	Familia 20 del portador de soluto (transportador de fosfato), miembro 1
901	B1423	AA151771	ATP1B3	ATPasa, transportadora de Na ⁺ /K ⁺ , polipéptido beta 3
902	A6387	NM_016548	GOLPH2	Fosfoproteína 2 de Golgi
903	A6508	R15881	CHRM3	Receptor colinérgico, muscarínico 3
904	A8883	AY358553	DHRS8	Miembro 8 de deshidrogenasa/reductasa (familia SDR)
905	A9459	CR607674	MESDC1	Candidato 1 de desarrollo del mesodermo
906	B0741	BM991954		Locus transcrito
907	B5994	T81301	AFURS1	Homólogo de la familia de ATPasa regulado por incremento en células senescentes
908	B6773	BC077077	DPYSL3	Proteína 3 de tipo dihidropirimidinas
909	A6410	XM_496907	PEG10	Proteína 10 expresada de manera paterna
910	B1742	BX648888	SSFA2	Antígeno 2 específico de esperma
911	B2451	BM994359	FGFR1	Receptor 1 del factor de crecimiento de fibroblastos (tirosina cinasa 2 relacionada con fms, síndrome de Pfeiffer)
912	B4097	CR596974	MLP	Proteína de tipo MARCKS
913	A7280	NM_152740	HIBADH	3-Hidroxiisobutirato deshidrogenasa
914	A9825	AF052120	FLJ43806	Proteína hipotética FLJ43806
915	A6979	AI357616	LOC9013	Proteína hipotética LOC90133
916	A7190	BX537966	TFRC	Receptor de transferrina (p90, CD71)
917	B4847	AA490011	LTBP1	Proteína de unión 1 a factor de crecimiento transformante beta latente
918	A7608	BG354579	CBX2	Homólogo 2 de chromobox (homólogo de clase Pc, <i>Drosophila</i>)
919	A7863	NM_003388	CYLN2	Ligador citoplasmático 2
920	A8172	XM_371891	KIAA0877	Proteína KIAA0877
921	A8287	R87657	DKFZp76	Proteína hipotética DKFZp762E1312

ES 2 379 805 T3

			2E1312	
922	B6662	AK128043	OSBPL9	Proteína 9 de tipo proteína de unión a oxisterol
923	A6625	BX538010	NRCAM	Molécula de adhesión de células neuronales
924	A6724	BC033453	DHX35	Polipéptido 35 de caja DEAH (Asp-Glu-Ala-His)
925	B4210	NM_004444	EPHB4	EphB4
926	B9283	NM_015213	RAB6IP1	Proteína 1 de interacción con RAB6
927	A8787	AF281255	BCL2L14	Proteína 14 de tipo BCL2 (facilitador de la apoptosis)
928	B0811	AW183154	KIF14	Miembro 14 de la familia de kinesina
929	A6363	CR621577		<i>Homo sapiens</i> , clon IMAGE:5301514, ARNm
930	A6725	AK096250	LHX4	Caja homeótica 4 de LIM
931	A7710	AK125609	CKIP-1	Proteína 1 de interacción con CK2; proteína HQ0024c
932	A8335	BC028421	MGC33630	Proteína hipotética MGC33630
933	A7426	BG617617	SAA2	Amiloide sérico A2
934	A7908	AA490691	HOXD11	Caja homeótica D11
935	A8487	AA523105	TRIAD3	Proteína TRIAD3
936	B0232	BC060858	SOCS3	Supresor de la señalización 3 de citocinas
937	A9723	BC067131	RDH10	Retinol deshidrogenasa 10 (todo-trans)
938	B2375	BQ025233	BCAS3	Secuencia 3 amplificada de carcinoma de mama
939	A6585	R46164		
940	A8648	X54101	GNLY	Granulicina
941	A9371	AB098597	FAD104	FAD104
942	B9250	AB027289	HERC5	Dominio Hect y RLD 5
943	A6598	BM677885	RASL11B	Tipo RAS, familia 11, miembro B
944	A7024	BU734286	RBP1	Proteína 1 de unión a retinol; celular
945	A6869	BC011665	TCF3	Factor 3 de transcripción (factores E12/E47 de unión al potenciador de inmunoglobulina E2A)
946	A8156	BQ010373	HEG	Homólogo de HEG
947	B3019	CR627386	HEXA	Hexosaminidasa A (polipéptido alfa)
948	B4536	AK091608	FADS3	Ácido graso desaturasa 3
949	B4008	XM_167709	C10orf38	Marco de lectura abierto 38 del cromosoma 10
950	C4166	BQ230791	TNNI3	Troponina I, cardiaca
951	A7230	NM_001845	COL4A1	Colágeno, tipo IV, alfa 1
952	A9381	AL117605		ADNc: FLJ21418 fis, clon COL04072
953	B0338	AL136942	LAPTM4 B	Proteína transmembrana 4 beta asociada con el lisosoma
954	B1799	NM_013437	LRP12	Proteína 12 relacionada con lipoproteínas de baja densidad
955	B1677	CN415212		Similar a uroplaquina 3B isoforma b; uroplaquina IIIb
956	B4220	AA459632	SMARCA 3	Relacionado con SWI/SNF, asociado con la matriz, regulador de la cromatina dependiente de actina, subfamilia a, miembro 3
957	B3753	AK000437	WDR8	Dominio 8 de repetición de WD
958	B4692	AA525966	DKFZP586L0724	Proteína DKFZP586L0724
959	B4556	NM_020531	C20orf3	Marco de lectura abierto 3 del cromosoma 20
960	B7330N	BM726315	GALNT6	UDP-N-acetil-alfa-D-galactosamina:polipéptido N-acetilgalactosaminiltransferasa 6 (GalNAc-

ES 2 379 805 T3

				T6)
961	B8953	R50344		Locus transcrito
962	B9826	AA055976	SLIT2	Homólogo 2 de Slit (<i>Drosophila</i>)
963	A7605	R15801	NRN1	Neuritina 1
964	B4394	N46424	RAI14	Proteína 14 inducida por ácido retinoico
965	B3827	N20989	ANTXR1	Receptor 1 de la toxina del ántrax
966	B5904	BC008947	C10orf3	Marco de lectura abierto 3 del cromosoma 10
967	B7534	AI298501	SDK1	Homólogo 1 de Sidekick (pollo)
968	B9633	X_085049		
969	A9236N	BX117945		Locus transcrito
970	B5489	NM_003916	AP1S2	Complejo 1 de proteína relacionada con adaptador, subunidad sigma 2
971	B6359	AA608839	KIAA1212	KIAA1212
972	B6905	BU675191	CGI-72	Proteína CGI-72
973	B4721N	BE795997	NCOR2	Co-represor 2 de receptores nucleares
974	B6779	D86961	LHFPL2	Pareja de fusión de HMGIC de lipoma de tipo 2
975	B7749	BC023152	GYG2	Glucogenina 2
976	B7968	R46597	LRCH3	Proteína 3 que contiene dominios de homología con calponina (CH) y repeticiones ricas en leucina
977	B9223	AK023319	KIAA0643	Proteína KIAA0643
978	A4739N	AJ306929	AFURS1	Homólogo de familia de ATPasa regulado por incremento en células senescentes
979	A8317N	BQ13695	FLJ10420	Proteína hipotética FLJ10420
980	B4161	BX538214	C6orf167	Marco de lectura abierto 167 del cromosoma 6
981	B4558N	AK027019	MGC45731	Proteína hipotética MGC45731
982	B5373N	D86962	GRB10	Proteína 10 unida al receptor del factor de crecimiento
983	B7887	BU580616	FLJ10159	Proteína hipotética FLJ10159
984	B9579	AK055994	FLJ25084	Proteína hipotética FLJ25084
985	A6448N	AK127801	FLJ46603	Proteína FLJ46603
986	A8508N	BX647338	TM4SF13	Miembro 13 de la superfamilia 4 transmembrana
987	A9518N	AA570186		Gen hipotético soportado por AK096951; BC066547
988	B8814	BC007754	SUV39H2	Homólogo 2 del supresor de la variegación 3-9 (<i>Drosophila</i>)
989	A3200N	AK122763	COL5A1	Colágeno, tipo V, alfa 1
990	A5073	L09235	ATP6VIA	ATPasa, transportadora de H ⁺ , lisosómica de 70 kDa, VI subunidad A
991	B5175N	BC038183	CAMTA1	Activador 1 de la transcripción de unión a calmodulina
992	B8480	N62352	KIAA1573	Proteína KIAA1573
993	B9615	CA314364		ARNm; ADNc DKFZp434L201 (del clon DKFZp434L201)
994	A8542N	AF542548	AHSA2	AHA1, activador del homólogo 2 de la ATPasa de la proteína de choque térmico de 90 kDa (levadura)
995	A9534N	AK000993	C7orf28B	Marco de lectura abierto 28B del cromosoma 7
996	A5065	BC036661	CMKOR1	Receptor 1 huérfano de quimiocinas
997	B3358	AA731746	CPSF6	Factor 6 específico de escisión y poliadenilación, 68 kDa
998	B3958	AF145713	SCHIP1	Proteína 1 de interacción con Schwannomina
999	B4587	AB096683	MGC57827	Similar al gen 2700049P18 de ADNc de RIKEN

ES 2 379 805 T3

1000	B4217	BU608626	WFDC2	Dominio 2 de núcleo de cuatro disulfuros de WAP
1001	B6125N	T57349	DRE1	Proteína DRE1
1002	B6968	BC016950	MGC22679	Proteína hipotética MGC22679
1003	B7480	AF407165	PPP1R14C	Proteína fosfatasa 1, subunidad 14C reguladora (inhibidora)
1004	B7554	CA503163	ADNP	Neuroprotector dependiente de actividad
1005	B8521	AK001617	SNCAIP	Sinucleína, proteína de interacción alfa (sinfilina)
1006	B9234	AK090777	PGM2L1	Proteína 1 de tipo fosfoglucomutasa 2
1007	B3160N	AA778238	LOC374654	Similar al miembro 21A de la familia de cinesina; cinesina N-5
1008	B4915N	NM_175864	CBFA2T2	Factor de unión núcleo, dominio runt, subunidad alfa 2; translocado a, 2
1009	B5382N	AK125194	MAP1B	Proteína 1B asociada con microtúbulos
1010	B7109	AA872071	C11orf23	Marco de lectura abierto 23 del cromosoma 11
1011	B9838	AA018510	MGC33382	Proteína hipotética MGC33382
1012	B7484	CR617865	ANKRD10	Dominio 10 de repetición de anquirina
1013	B8716	AY376439	ECT2	Oncogén 2 de secuencia transformante de células epiteliales
1014	A5678N	BC037346	TMPO	Timopoyetina
1015	B4818N	NM_033641	COL4A6	Colágeno, tipo IV, alfa 6
1016	B5451	CR627457	11-Sep	Septina 11
1017	B5461	R56840	MCM8	Mantenimiento del minicromosoma MCM8 deficiente 8 (<i>S. cerevisiae</i>)
1018	B7370	AA001074	CNNM4	Ciclina M4
1019	B8211	AF382034	NY-REN-41	Proteína hipotética AF301222
1020	A9044	BC003186	Pfs2	Proteína PSF2 del complejo de replicación del ADN GINS
1021	B6813	BX092653		Locus transcrito
1022	A5346N	AA747005	PRKWINK2	Proteína cinasa, deficiente en lisina 2
1023	A3822	BC067289	CTSL2	Catepsina L2
1024	A0327N	NM_002421	MMP1	Metaloproteínasa 1 de la matriz (colagenasa intersticial)
1025	A0584N	NM_003236	TGFA	Factor de crecimiento transformante, alfa
1026	B8016	AA528243	RTN4RL1	Proteína 1 de tipo receptor de reticulon 4
1027	A3538	J03464	COL1A2	Colágeno, tipo I, alfa 2
1028	A0061	AF053306	BUB1B	BUB1 germinación no inhibida por bencimidazoles 1 homólogo beta (levadura)
1029	A9617N	BX109949	FAM24A	Familia con similitud de secuencia 24, miembro A
1030	B4456	BX537652	FLJ12892	Proteína hipotética FLJ12892
1031	B9482	NM_020919	ALS2	Esclerosis lateral amiotrófica 2 (juvenil)
1032	A2065N	AK124656	ENO2	Enolasa 2 (gamma, neuronal)
1033	B6283	AY257469	CIT	Citron (de interacción con rho, serina/treonina cinasa 21)
1034	B2587	BC038986	REV3L	Tipo REV3, subunidad catalítica de ADN polimerasa zeta (levadura)
1035	B5279	BC004107	FST	Folistatina
1036	B6262	NM_001259	CDK6	Cinasa 6 dependiente de ciclina
1037	B7198N	AA193472	USP13	Proteasa 13 específica de ubiquitina (isopeptidasa T-3)
1038	B8547	BC033746	PNCK	CaM cinasa expresada de manera no ubicua regulada por incremento en el embarazo
1039	A8900N	AL512760	FADS1	Ácido graso desaturasa 1
1040	B3732	XM_499250	LFNG	Homólogo de Lunatic fringe (<i>Drosophila</i>)
1041	B8059	BC011000	CDCA5	Proteína 5 asociada con ciclo de división celular

ES 2 379 805 T3

1042	A2515	X16396	MTHFD2	Metilentetrahidrofolato deshidrogenasa (dependiente de NAD+), meteniltetrahidrofolato ciclohidrolasa
1043	B2404N	AF200348	D2S448	Gen asociado con melanoma
1044	B4250	CA420794	LOC339924	Proteína hipotética LOC339924
1045	B8048	BQ448718	CDK11	Cinasa 11 dependiente de ciclina (tipo CDC2)
1046	B9094	AF084481	WFS1	Síndrome 1 de Wolfram (wolframina)
1047	B5081N	AL832416	C9orf13	Marco de lectura abierto 13 del cromosoma 9
1048	B4812N	NM_004900	APOBEC 3B	Enzima de edición de ARNm de apolipoproteína B, polipéptido catalítico tipo 3B
1049	B8930	AA513445	RBM21	Proteína 21 de motivo de unión a ARN
1050	C1730	BU682808	GNAS	Locus del complejo GNAS
1051	C3653	BC066956	VIM	Vimentina
1052	C4599	AF189011	RNASE3L	ARNasa III nuclear Drosha
1053	C6048	AK075509	NRM	Nurim (proteína de membrana de la envuelta nuclear)
1054	C6771	NM_002610	PDK1	Piruvato deshidrogenasa cinasa, isoenzima 1
1055	C6425	W94690		Clon ZE04G11 de ADNc de inserto de longitud completa
1056	C7835	NM_000356	TCOF1	Síndrome 1 de Treacher Collins-Franceschetti
1057	C8621	AW195492	TYRP1	Proteína 1 relacionada con tirosinasa
1058	C9718	W94051	DTNA	Distrobrevina, alfa
1059	B9997	AI184562	SR140	Proteína SR140 asociada con U2
1060	C2050	BF060678	C14orf118	Marco de lectura abierto 118 del cromosoma 14
1061	C3797	BC025729	CD99L2	Proteína 2 de tipo antígeno CD99
1062	C4763	AB103330	KIAA1199	KIAA1199
1063	C8947	AL833303		Clon YZ04E02 de ADNc de inserto de longitud completa
1064	C8802	AA436403	FZD3	Homólogo 3 de Frizzled (<i>Drosophila</i>)
1065	D1199	NM_001426	EN1	Homólogo 1 de Engrailed
1066	D1348	BC064663	NLK	Cinasa tipo Nemo
1067	B9974	AK126766	LEPREL2	Proteína 2 tipo Lepreca
1068	C8075	X07290	ZNF3	Proteína 3 de dedos de zinc (A8-51)
1069	C8479	BI768625	UNC84B	Homólogo B de Unc-84 (<i>C. elegans</i>)
1070	B9998	H99016	USP11	Proteasa 11 específica de ubiquitina
1071	C0236	BC021252	SCMH1	Homólogo 1 de sex comb on midleg (<i>Drosophila</i>)
1072	C3636	XM_056455	D2S448	Gen asociado con melanoma
1073	C2208	AL049246	FLJ10618	Proteína hipotética FLJ10618
1074	C4385	AB032427	TRPV4	Canal catiónico de potencial de receptor transitorio, subfamilia V, miembro 4
1075	C4622	N66741	ABCC1	Casete de unión a ATP, subfamilia C (CFTR/MRP), miembro 1
1076	C6454	BC060820	ZNF281	Proteína 281 de dedos de zinc
1077	C8632	BM682754	IREB2	Proteína 2 de unión a elemento de respuesta a hierro
1078	C0658	W60844	FLJ31340	Proteína hipotética FLJ31340
1079	C0777	BC047362		Locus transcrito, moderadamente similar a XP_375099.1 proteína hipotética LOC283585 [<i>Homo sapiens</i>]
1080	C2020	CA420307	SF3B1	Factor 3b de corte y empalme, subunidad 1, 155 kDa
1081	C1538	BM683254	DLG1	Proteína DKFZP586B0319
1082	C7256	NM_021963	NAP1L2	Proteína 2 de tipo proteína 1 de ensamblaje

ES 2 379 805 T3

				de nucleosoma
1083	C8051	BM685415	C10orf116	Marco de lectura abierto 116 del cromosoma 10
1084	C8088	D87465	SPOCK2	Dominios de proteoglicano de tipo sparc/osteonectina, cwcv y kazal (testicano) 2
1085	C8624	NM_005858	AKAP8	Proteína 8 de anclaje a cinasa A (PRKA)
1086	C9490	N26092	SNAI2	Homólogo 2 de Snail (<i>Drosophila</i>)
1087	C0488	AA781195	PRAME	Antígeno preferentemente expresado en melanoma
1088	C0186	CR749813	SLC39A1 0	Familia 39 del portador de soluto (transportador de zinc), miembro 10
1089	C4883	N79601		
1090	C5287	N91945	KIAA074 6	Proteína KIAA0746
1091	C7529	AF311339	C6orf162	Marco de lectura abierto 162 del cromosoma 6
1092	C9527	R27734		
1093	C0772	AF326917	AUTS2	Candidato 2 de susceptibilidad a autismo
1094	C2021	AL118812	UGT8	UDP glucosiltransferasa 8 (UDP-galactosa ceramida galactosiltransferasa)
1095	C8611	NM_017870	HSPA5BP1	Proteína 1 de unión a proteína 5 de choque térmico de 70 kDa (proteína regulada por glucosa, 78 kDa)
1096	C0787	AL832207	PLEKHH2	Proteína que contiene dominio de homología con pleckstrina, familia H (con dominio MyTH4) miembro 2
1097	D0587	AA872040	INHBB	Inhibina, beta B (polipéptido de activina AB beta)
1098	C1849	BC049171	FJX1	Caja 1 de cuatro uniones (<i>Drosophila</i>)
1099	C0458	H05777		Locus transcrito
1100	C3803	NM_004265	FADS2	Ácido graso desaturasa 2
1101	C3648	AK023450	ANTXR2	Receptor 2 de la toxina del ántrax
1102	C7674	AA148213	TAZ	Coactivador transcripcional con motivo de unión a PDZ (TAZ)
1103	C9517	H73947	POLR2J	Polipéptido J de polimerasa (ARN) II (dirigida por ADN), 13,3 kDa
1104	C6826	X52203	LOC91316	Similar a bK246H3.1 (polipéptido 1 de tipo inmunoglobulina lambda, específico de células pre-B)
1105	C8487	T56982	PDE7A	Fosfodiesterasa 7A
1106	D0748	H03747		ADNc: FLJ21652 fis, clon COL08582
1107	C4973	BC013575	PLAU	Activador de plasminógeno, urocinasa
1108	C8121	BC040492	SCRN1	Secernina 1
1109	C9016	AA255900	STK38L	Proteína 38 de tipo serina/treonina cinasa
1110	C9976	CA431254	SH3MD1	Dominios múltiples SH3 1
1111	C9189	BC065544	C14orf106	Marco de lectura abierto 106 del cromosoma 14
1112	C9608	AI762244	GSTA2	Glutación S-transferasa A2
1113	D0491	AA815427	FLJ43855	Similar a transportador de creatina dependiente de sodio y cloruro
1114	D0058	BC041882	ATF7IP2	Proteína 2 de interacción con el factor 7 de transcripción activante
1115	B9930	AK024493	SLC12A7	Familia 12 del portador de soluto (transportadores de potasio/cloruro), miembro 7
1116	C8557	AA536113	TMEPAI	ARN inducido por andrógeno prostático, transmembrana
1117	C9858	NM_006892	DNMT3B	ADN (citosina-5-)-metiltransferasa 3 beta
1118	C6209	AF130988	EDAR	Receptor de ectodisplasina A
1119	C7607	AL832674	ANP32E	Familia 32 de fosfoproteína nuclear ácida (rica en leucina), miembro E

ES 2 379 805 T3

1120	D0006	NM_145697	CDCA1	Proteína 1 asociada con ciclo de división celular
1121	D0062	CR593221	OSR2	Proteína 2A relacionada con odd-skipped
1122	C0400	BC021290	IMP-2	Proteína 2 de unión a ARNm de IGF-II
1123	C0764	AA045020	RDH10	Retinol deshidrogenasa 10 (todo-trans)
1124	C9231	AB011124	ProSAPiP1	Proteína ProSAPiP1
1125	C0318	M16451	CKB	Creatina cinasa, cerebro
1126	C5950	CF146489	NKX3-1	Proteína relacionada con el factor de transcripción NK3, locus 1 (<i>Drosophila</i>)
1127	C5013	CR602284	FUS	Fusión (implicada en t(12;16) en liposarcoma maligno)
1128	C6875	AA043381	HOXD10	Caja homeótica D10
1129	C3905	AK091130	LOC152485	Proteína hipotética LOC152485
1130	C7105	R50993		Clon IMAGE:37373 3' de ADNc de <i>Homo sapiens</i> de 1NIB de cerebro de lactante yg63f02.s1 Soares, secuencia de ARNm.
1131	C9041	AJ580093	ATP11C	ATPasa, clase VI, tipo 11C
1132	C1093	AW976357	CDCA1	Ciclo de división celular asociado 1
1133	C1948	CR594190 NM_012242	DKK1	Homólogo 1 de Dickkopf (<i>Xenopus laevis</i>)
1134	C5005	BX648571	FLJ38736	Proteína hipotética FLJ38736
1135	C8384	X98834	SALL2	Proteína 2 de tipo sal (<i>Drosophila</i>)
1136	C1442	AA807192	FLJ20522	Proteína hipotética FLJ20522
1137	C7756	H03641	FAM13A1	Familia con similitud de secuencia 13, miembro A1
1138	C8926	BU569535	CHODL	Condrolectina
1139	C6880	AK027224	DKFZp43 4B227	Proteína hipotética DKFZp434B227
1140	D0648	AA416843	MGC4210	Proteína hipotética MGC42105
1141	C6217	NM_001448	GPC4	Glipicano 4
1142	C6906	AK122672	RAI3	Proteína 3 inducida por ácido retinoico
1143	C9046	BC034999	MGC3321	Similar al gen 4933439B08 de ADNc de RIKEN
1144	D3549	BU620736	MAGI-3	Proteína relacionada con guanilato cinasa asociada con la membrana (MAGI-3)
1145	D6450	BQ001345	GTF2IRD2B	Proteína 2 que contiene dominio de repetición de GTF2I
1146	E0002	BF195994	PIAS2	Inhibidor proteico de STAT activado, 2
1147	E0537	BX647115	DPYSL2	Proteína 2 de tipo dihidropirimidinas
1148	D4376	AA883952		Locus transcrito
1149	D7468	BC010943	OSMR	Receptor de oncostatina M
1150	E0838	BC030133	SDC2	Sindecano 2 (proteoglicano 1 de heparán sulfato, asociado con la superficie celular, fibroglicano)
1151	E1278	BF353850	ATP11B	ATPasa, clase VI, tipo 11B
1152	D9484	NM_021809	TGIF2	Factor 2 inducido por TGFB (caja homeótica de familia TALE)
1153	E1173	CB250397	P4HA1	Procolágeno-prolina, 2-oxoglutarato 4-dioxigenasa (prolina 4-hidroxilasa), polipéptido alfa I
1154	E1497	BU625507	SLC16A3	Familia del portador de soluto 16 (transportadores de ácido monocarboxílico), miembro 3
1155	D6136	AF448439	CLIC6	Canal 6 intracelular de cloruro
1156	D6767	BM312795		Locus transcrito
1157	D8920	AI038231	USP13	Proteasa 13 específica de ubiquitina (isopeptidasa T-3).
1158	D8587	AI223250		Locus transcrito
1159	E1387	D87448	TOPBP1	Proteína 1 de unión a topoisomerasa (ADN) II

ES 2 379 805 T3

1160	D3218	AL122043	C20orf112	Marco de lectura abierto 112 del cromosoma 20
1161	D9500	AI361654		
1162	D8150	BF965334	PRKRA	Proteína cinasa, activador dependiente de ARN bicatenario inducible por interferón
1163	D9437	W67209	SESN3	Sestrina 3
1164	E0167	AI090289	DRE1	Proteína DRE1
1165	E0694	BX641036	CSPG2	Proteoglicano 2 de sulfato de condroitina (versicano)
1166	D5491	AA947258		Locus transcrito
1167	D6311	BI771102	PHYHIPL	Familia con similitud de secuencia 13, miembro C1
1168	E0663	CR600961	TM4SF13	Miembro 13 de la superfamilia 4 transmembrana
1169	E0556	BM997546	ECE1	Enzima 1 convertidora de endotelina
1170	E0686	BC036067	FLJ14146	Proteína hipotética FLJ14146
1171	E0787	BM697477	ShrmL	Proteína relacionada con Shroom
1172	D4351	BX102008	MECP2	Proteína 2 de unión a metil CpG (síndrome de Rett)
1173	D9504	BC010918	NTS	Neurotensina
1174	E0664	AY299090	SPRED2	Proteína 2 que contiene dominio EVH1, relacionada con Sprouty
1175	E0552	AL832438	FLJ20152	Proteína hipotética FLJ20152
1176	D6314	NM_018243	11-Sep	Septina 11
1177	D8837	NM_012189	CABYR	Proteína regulada por fosforilación de tirosinas (Y) de unión a calcio (fibrousheathin 2)
1178	E0837	AB040875	SLC7A11	Familia 7 del portador de soluto, (transportador de aminoácido catiónico, sistema y+) miembro 11
1179	D8001	AW976634		Locus transcrito
1180	D9027	CN480522	WTIP	Proteína de interacción con WT1
1181	E0451	BC005963	MAGEA3	antígeno de melanoma, familia A, 3
1182	E0139	AL390147	FAM20C	Familia con similitud de secuencia 20, miembro C
1183	E1423	NM_152624	DCP2	Enzima de desencapuchamiento hDcp2
1184	D8457	AA830551	FLJ13848	Proteína hipotética FLJ13848
1185	D9933	BX648297	LPP	Dominio LIM que contiene pareja de translocacion preferida en lipoma
1186	D6668	AA744607	MFHAS1	Secuencia 1 amplificada de histiocitoma fibroso maligno
1187	D4093	CK299098		Gen hipotético soportado por BC044741
1188	D8458	AA830668		
1189	D9544	H05758		Locus transcrito
1190	E0598	NM_005504	BCAT1	Aminotransferasa 1 de cadena ramificada, citosólica
1191	E1001	NM_018212	ENAH	Homólogo de Enabled (<i>Drosophila</i>)
1192	D6398	AI792205		Locus transcrito
1193	E0455	CR614398	ODC1	Ornitina descarboxilasa 1
1194	D8515	CR591759	LUM	Lumicano
1195	D5583	AK125904	DDHD2	Proteína 2 que contiene dominio DDHD
1196	D5596	BM991753		Clon de ADNc IMAGE:4862812, cds parcial
1197	E0133	AW451133	FLJ10719	Proteína hipotética FLJ10719
1198	D8466	AI619500		Locus transcrito
1199	D8905	AI021894	MAP4K3	Proteína cinasa cinasa cinasa cinasa 3 activada por mitógenos
1200	B0869N	AF274048	UHRF1	Proteína 1 de tipo ubiquitina, que contiene dominios de dedos PHD y RING
1201	F1457	M16006	SERPINE1	Inhibidor de serina (o cisteína) proteinasa, clado E (nexina, inhibidor de activador de

ES 2 379 805 T3

				plasminógeno tipo 1), miembro 1
1202	F5449	AK026753		
1203	F8140	AW976457	MBNL1	Proteína de tipo Muscleblind (<i>Drosophila</i>)
1204	F9101	BC010527		ADNc FLJ31059 fis, clon HSYRA2000832
1205	F8575	BF433322	ELK4	ELK4, proteína con dominio ETS (proteína 1 accesorio de SRF)
1206	A7714	AB002351	DMN	Desmuslina
1207	B4412N	BC016815	DCBLD2 2	Discoidina, proteína que contiene dominios CUB y LCCL
1208	E1732	NM_014916	LMTK2	Tirosina cinasa 2 de lémur
1209	E1395	AU147322.1	EDD	E3 identificado mediante presentación diferencial
1210	F2724	AK024275	FLJ14213	Proteína hipotética FLJ14213
1211	F3387	AK126185	PPFIA4	Proteína de interacción (liprina) con proteína tirosina fosfatasa, tipo receptor, polipéptido f (PTPRF), alfa 4
1212	F5148	AL831813	RUNDC1	Proteína 1 que contiene dominio RUN
1213	F3888	U22816	PPFIA1	Proteína de interacción (liprina) con proteína tirosina fosfatasa, tipo receptor, polipéptido f (PTPRF), alfa 1
1214	F0969	AK026201	RAB3IP	Proteína de interacción con RAB3A (rabin3)
1215	F0931	AF026941	cig5	Viperina
1216	F2986	AK027232	LBH	Probable ortólogo del gen de corazón y germinación de extremidades de ratón
1217	F3496	AB023148	KIAA0931	Proteína KIAA0931
1218	F6350	AL389956	FBXO32	Proteína 32 de caja F
1219	F3184	NM_033380	COL4A5	Colágeno, tipo IV, alfa 5 (síndrome de Alport)
1220	B4350N	AF037364	PNMA1	Antígeno paraneoplásico MA1
1221	F1277	AF151020	TMEM9	Proteína transmembrana 9
1222	A0576N	NM_138555	KIF23	Miembro 23 de la familia de cinesina
1223	B0068	R15836	LAPTM4B	Proteína transmembrana 4 beta asociada con lisosomas
1224	F0119	AL049354	LOC2213 62	Proteína hipotética LOC221362
1225	F0938	AK160383	CENTD2	Centaurina, delta 2
1226	F2217	AF288571	LEF1	Factor 1 de unión a potenciador linfoide
1227	F4281	AF199023	PLSCR4	Fosfolípido escramblasa 4
1228	F7951	N66690	ATP6V1E2	ATPasa, transportador de H ⁺ , lisosómica de 31 kDa, subunidad V1 E isoforma 2
1229	F9119	BC015512		<i>Homo sapiens</i> , clon IMAGE: 3887266, ARNm
1230	F0896	AF131790	SHANK2	Dominios 2 de repetición de anquirina múltiple y SH3
1231	A1375	D43968	RUNX1	Factor 1 de transcripción relacionado con Runt (leucemia mielóide aguda 1; oncogén aml1)
1232	A7732	BC017984	ARG99	Proteína ARG99
1233	A3802	NM_005245	FAT	Homólogo 1 de supresor de tumores FAT (<i>Drosophila</i>)
1234	F0299	NM_145693	LPIN1	Lipina 1
1235	F3374	AF195765	RAMP	Proteína asociada con la matriz nuclear regulada por RA
1236	F4635	AK021519	FLJ11457	Proteína hipotética FLJ11457
1237	A6660	CA418643	GPR153	receptor 153 acoplado a proteínas G
1238	F5376	AK025105	ITGB1BP1	Proteína 1 de unión a integrina beta 1
1239	F7497	AW973864	SYNJ2BP	Proteína de unión a sinaptojanina 2
1240	F0924	NM_012309	SHANK2	Dominios 2 de repetición de anquirina múltiple y SH3
1241	A2921	NM_002391	MDK	Midkina (factor 2 de promoción del crecimiento de neuritas)

ES 2 379 805 T3

1242	B4390 N	AB006624	KIAA0286	Proteína KIAA0286
1243	B4479	AF258572	GSDML	Proteína de tipo gasdermina
1244	F1415	NM_002759	PRKR	Proteína cinasa, dependiente de ARN bicatenario inducible por interferón
1245	F2746	AJ251506	SLCO1B3	Familia de transportadores aniónicos orgánicos del portador de soluto, miembro 1B3
1246	F2092	BC001873	HEY1	Peludo/potenciador de la división relacionado con motivo 1 de YRPW
1247	F7332	AI936859	RTKN	Rotekina
1248	D8010	AI734110	FMNL2	Proteína 2 de tipo formina
1249	F0920	AF098269	PCOLCE2	Potenciador 2 de procolágeno C-endopeptidasa
1250	F2294	AK024900	AP2B1	Complejo 2 de proteína relacionada con adaptador, subunidad beta 1
1251	F2929	AF022109	CDC6	Homólogo de ciclo 6 de división celular CDC6 (<i>S. cerevisiae</i>)
1252	F2095	NM_006449	CDC42EP3	Proteína efectora CDC42 (de unión a Rho GTPasa) 3
1253	F3395	AB032953	ODZ2	Homólogo 2 de Odz, odd Oz/ten-m (<i>Drosophila</i>)
1254	A0636	Z29066	NEK2	Cinasa 2 relacionada con NIMA (never in mitosis gen a)
1255	F0410	AW369770	PACS1	Proteína 1 de clasificación de la agrupación ácida de fosforurina
1256	F1732	AK023642		ADNc FLJ13580 fis, clon PLACE1008851
1257	F3598	AK001332	LRRC5	Proteína 5 que contiene repeticiones ricas en leucina
1258	F6994	BM920112	PSMB9	Subunidad del proteosoma (prosome, macropáina), tipo beta, 9 (proteasa 2 multifuncional grande)
1259	F7579	AW629129	SVH	Proteína SVH
1260	F8888	AK027091		Locus transcrito, débilmente similar a XP_375099.1 proteína hipotética LOC283585 [<i>Homo sapiens</i>]
1261	B5040N	AA126782	CHST2	Hidrato de carbono (N-acetilglucosamina-6-O) sulfotransferasa 2
1262	F5946	AL137529	FLJ23751	Proteína hipotética FLJ23751
1263	F4158	BC047767	APOBEC2	Enzima de edición de ARNm de apolipoproteína B, polipéptido catalítico tipo 2
1264	A3896	B015050	OIP5	Proteína 5 de interacción con Opa
1265	E2104	CN280172		Clon IMAGE:4734740 de ADNc, cds parcial
1266	F1646	AB011109	ARK5	Miembro 5 de la familia de proteína cinasa activada por AMP
1267	F1446	AJ277587	SPIRE1	Homólogo 1 de Spire (<i>Drosophila</i>)
1268	B9057	AF361494	SOSTDC1	Proteína 1 que contiene dominio de esclerostina
1269	F2462	NM_182734	PLCB1	Fosfolipasa C, beta 1 (específica de fosfoinosítido)
1270	A0359N	BC015753	CXCL2	Ligando 2 de quimiocina (motivo C-X-C)
1271	F8483	BG003072	TFCP2L3	Proteína 3 de tipo factor de transcripción CP2
1272	A2439	AF053305	BUB1	BUB1 germinación no inhibida por bencimidazoles 1 homólogo (levadura)
1273	A9111	NM_016607	ARMCX3	Proteína 3 ligada al cromosoma X, que contiene repeticiones de armadillo
1274	F1916	AF119418	SIAT9	Sialiltransferasa 9 (CMP-NeuAc:lactosilceramida alfa-2,3-sialiltransferasa; GM3 sintasa)
1275	F4063	AL109779	HDGFRP3	Proteína 3 relacionada con el factor de crecimiento derivado de hepatoma
1276	E2082	BX537667	FARP1	Proteína 1 con dominios FERM, RhoGEF

1277	F9079	AF339769		(ARHGEF) y pleckstrina (derivada de condrocitos)
1278	A3453	BC064689	TNFAIP3	Clon IMAGE:123704, secuencia de ARNm Proteína 3 inducida por factor de necrosis tumoral, alfa
1279	E0341	AK093143	SSFA2	Antígeno 2 específico de esperma
1280	F0283	AK123311	GAP43	Proteína 43 asociada con el crecimiento
1281	F3997	AL049987	FLJ40092	Proteína FLJ40092
1282	F4952	AL080082		ARNm; ADNc DKFZp564G1162 (del clon DKFZp564G1162)
1283	F3618	AK172810	SLC39A14	Familia del portador de soluto 39 (transportador de zinc), miembro 14
1284	F2037	AK024124	LOC80298	Proteína de tipo factor de terminación de la transcripción
1285	F4451	AK022204	EDD	E3 identificado mediante presentación diferencial
1286	F3878	NM_020800	KIAA1374	Proteína KIAA1374
1287	F8184	AK022856		ADNc FLJ12794 fis, clon NT2RP2002041
1288	F9909	BC009431	MGC15606	Proteína hipotética MGC15606
1289	G2245	AW450464	ZNF181	Proteína 181 de dedos de zinc (HHZ181)
1290	G2660	AK094334	MRPS25	Proteína S25 ribosómica mitocondrial
1291	G2984	AA778186	KBTBD9	Proteína 9 que contiene dominio BTB (POZ) y repetición Kelch
1292	G3257	BQ020994	KIAA0146	Proteína KIAA0146
1293	G4110	AA128462		Locus transcrito
1294	G4171	BX106478		Locus transcrito
1295	G4302	AI733332		Locus transcrito, débilmente similar a XP_375099.1 proteína hipotética LOC283585 [<i>Homo sapiens</i>]
1296	G4661	AK057918		Gen hipotético soportado por AK057918
1297	G4356	BX094336		Similar a proteína AE2
1298	G4650	AK057706	CHD7	Proteína 7 de unión a cromodominio de ADN helicasa
1299	G4705	AK090872		Locus transcrito, débilmente similar a XP_375099.1 proteína hipotética LOC283585 [<i>Homo sapiens</i>]
1300	G5030	BX091458	MTSS1	Supresor 1 de la metástasis
1301	G5296	AW975990		ADNc parcial de HepG2, clon hmd1a08m5.
1302	G6837	AA703048	TOP1	Topoisomerasa (ADN) I
1303	G6924	CA503069	EEF1G	Factor 1 gamma de elongación de la traducción eucariota
1304	G7153	BM991930		Locus transcrito
1305	G7142	BQ184075		Locus transcrito
1306	G7476	BF591074		
1307	G7204	BX537577		ADNc de la región 3' de HepG2, clon hmd1c07.
1308	G7867	BQ004940		
1309	G7894	BX648286	RAB22A	RAB22A, miembro de la familia del oncogén RAS
1310	G7821	BM974197	STXBP6	Proteína 6 de unión a sintaxina (amisina)
1311	G7860	BM996527	OPHN1	Oligofrenina 1
1312	G7888	BQ025514	ADK	Adenosina cinasa
1313	F5967	NM_003519 CR988892		ADNc de <i>Homo sapiens</i> CR988892 RZPD n.º 9017 clon RZPDp9017D0310 5', secuencia de ARNm.
1314	G1119	AK025202	LARGE	Tipo glicosiltransferasa
1315	F9145	BC001316	MGC5528	Homólogo 1 defectuoso en la cohesión de la cromátida hermana (<i>S. cerevisiae</i>)
1316	G1899	BI490961	ETV6	Gen 6 variante ets (oncogén TEL)
1317	G2801	U55853	GOLPH4	Fosfoproteína 4 de Golgi

ES 2 379 805 T3

1318	G3085	BM992422	FHOD3	Proteína 3 que contiene dominio de homología con formina
1319	G2825	BQ773653	JAG2	Jagged 2
1320	G3673	BM677658	PHIP	Proteína de interacción con dominio de homología con pleckstrina
1321	G3374	AI740551	SMARCA2	Regulador de la cromatina dependiente de actina, relacionado con SWI/SNF, asociado con la matriz, subfamilia a, miembro 2
1322	G4230	AA460431	HSPC150	Proteína HSPC150 similar a enzima de conjugación de ubiquitina
1323	G5380	BC012776	KUB3	Proteína 3 de unión a Ku70
1324	G5190	NM_006544	SEC10L1	Proteína 1 de tipo SEC10 (<i>S. cerevisiae</i>)
1325	G7017	AL832577	PHACTR3	Regulador 3 de fosfatasa y actina
1326	G7052	AW376957		FP6778
1327	G7074	AW057520	TCF12	Factor 12 de transcripción (HTF4, factores 4 de transcripción de hélice-bucle-hélice)
1328	G7311	AW273713		Cadena pesada de inmunoglobulina, región V (SPH1.17)
1329	G7334	AW444577	PRKDC	Proteína cinasa, activada por ADN, polipéptido catalítico
1330	G7392	AI700994	KIAA1287	Proteína KIAA1287
1331	G7756	BM673560	CUL1	Culina 1
1332	G7409	AV661871	ALDOB	Aldolasa B, fructosa-bisfosfato
1333	G7433	AK022426		
1334	G7944	AL833181	BCL11A	LLC de células B/linfoma 11A (proteína de dedos de zinc)
1335	G8118	BC041347	FLNB	Filamina B, beta (proteína 278 de unión a actina)
1336	F3260	AK022675	FLJ20542	Proteína hipotética FLJ20542
1337	G1502	BG219755	JMY	Proteína reguladora y de mediación de la unión
1338	G2206	AB044088	BHLHB3	Proteína que contiene dominio de hélice-bucle-hélice básico, clase B, 3
1339	G2234	BI496248	VEZATIN	Proteína transmembrana vezatina
1340	G2919	BF114768	FLJ10808	Proteína hipotética FLJ10808
1341	G2629	AK091973	IGF1R	Receptor del factor 1 de crecimiento similar a la insulina
1342	G2620	N39603	MAP3K5	Proteína 5 cinasa cinasa cinasa activada por mitógenos
1343	G3228	AW450394	PLAG1	Gen 1 de adenoma pleiomórfico
1444	G4095	AA022935	FMNL2	Proteína 2 de tipo formina
1345	G4140	BI918168		Clon IMAGE:4811759 de ADNc, cds parcial
1346	G4068	BU078631	PKD2	Enfermedad 2 de riñón poliquístico (dominante autosómico)
1347	G4120	AA151666		Locus transcrito, altamente similar a XP_343158.1 similar a ADNc de RIKEN 0910001B06 [<i>Rattus norvegicus</i>]
1348	G4165	BM470637	KLF3	Factor 3 de tipo Kruppel (básico)
1349	G4451	AU122725		Locus transcrito, débilmente similar a XP_214982.2 similar a la proteína reguladora y de mediación de la unión; cofactor transcripcional p300 JMY [<i>Rattus norvegicus</i>]
1350	G4999	BC043409	KCNH5	Canal de potasio activado por voltaje, subfamilia H (relacionado con eag), miembro 5
1351	G5013	H16790		<i>Homo sapiens</i> , clon IMAGE: 4821290, ARNm
1352	G6627	BC043583	DNAJC13	Homólogo de DnaJ (Hsp40), subfamilia C, miembro 13
1353	G6831	BQ447463	SAMD4	Proteína 4 que contiene el dominio de motivo alfa estéril

ES 2 379 805 T3

1354	G7491	AI088195		ADNc FLJ41461 fis, clon BRSTN2016335
1355	G7220	AI373767		Locus transcrito
1356	G7267	AW081263		Locus transcrito
1357	G8169	AL832210	WVOX	Oxidorreductasa que contiene dominio WW
1358	G7895	BQ027862	GNB5	Proteína de unión a nucleótidos de guanina (proteína G), beta 5
1359	G7889	BQ025551	SLC7A8	Familia del portador de soluto 7 (transportador de aminoácidos catiónicos, sistema y+), miembro 8
1360	F1800	AK021742 BX951495		DKFZp781G05150_r1 781 (sinónimo: hlcc4) clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i>
1361	G4204	BX100147		DKFZp781G05150 5', secuencia de ARNm
1362	G5381	XM_373575		LOC402485 hipotética
1363	G5148	N59381	FLJ12476	Similar a proteína hipotética
1364	G6967	AK093278		Proteína hipotética FLJ12476
1365	G5819	AL832755	SLC30A6	ADNc FLJ35959 fis, clon TESTI2012444
1366	G5976	H57111	ZNF518	Familia del portador de soluto 30 (transportador de zinc), miembro 6
1367	G7727	BM666927	PROX1	Proteína 518 de dedos de zinc
1368	G7320	AK096522	LOC283514	Caja homeótica 1 relacionada con prospero
1369	G7410	BQ025216	PHIP	Similar a siete en ausencia 2
1370	G7434	AK023377	HEXA	Proteína de interacción con dominio de homología con pleckstrina
1371	G7945	AK097655		Hexosaminidasa A (polipéptido alfa)
1372	G8773	AV699579	DKFZP56 4K0822	ADNc FLJ40336 fis, clon TESTI2031986
1373	G7236	AK130576		Proteína hipotética DKFZp564K0822
1374	F6729	BE965780		Locus transcrito, moderadamente similar a proteína 24 de activación de Rho GTPasa
1375	G0226	BC006512	MGC4308	NP_083546.1 [<i>Mus musculus</i>]
1376	G2260	NM_182920	ADAMTS9	601659547RAI NIH_MGC_70 <i>Homo sapiens</i>
1377	G2686	AK056824	PWWP1	Clon de ADNc IMAGE:3896243 3', secuencia de ARNm.
1378	G4082	AA004878	STARD13	Proteína hipotética MGC4308
1379	G4173	AK091238	FLJ10211	Una proteína 9 de tipo desintegrina y metaloproteasa (tipo reprotisina) con motivo de tipo 1 de trombospondina, 9
1380	G5034	CB959761	DAB2	Proteína 1 que contiene dominio PWWP
1381	G5053	H66650	CD58	Proteína 13 que contiene dominio START
1382	G5300	AW007021	TFDP1	Proteína hipotética FLJ10211
1383	G5085	AL833602	SLC2A12	Homólogo 2 de Disabled, fosfoproteína de respuesta a mitógenos (<i>Drosophila</i>)
1384	G6746	BQ027724	PDE4DIP	Antígeno CD58, (antígeno 3 asociado con la función de linfocitos)
1385	G7446	BC029450	SLC33A1	Factor de transcripción Dp-1
1386	G7163	AI968300	LOC91137	Familia del portador de soluto 2 (transportador de glucosa), miembro 12
1387	G7188	BX093022	A2M	Proteína de interacción con fosfodiesterasa 4D (miomegalina)
1388	G8170	AL832099	ATXN7L4	Familia 33 del portador de soluto (transportador de acetil-CoA), miembro 1
1389	G7824	BM975524	B4GALT5	Proteína hipotética BC017169
1390	G8216	BI494395	ADD3	Alfa-2-macroglobulina
1391	F8600	AW977584	HDLBP	Proteína 1 similar a ataxina 7
				UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4-galactosiltransferasa, polipéptido 5
				Aducina 3 (gamma)
				Proteína de unión a lipoproteínas de alta densidad (vigilina)

ES 2 379 805 T3

1392	G2452	AA525021	MACF1	Factor 1 de reticulación de microtúbulos-actina
1393	G2580	AW975290		Locus transcrito
1394	G2876	BX099865	NRXN1	Neurexina 1
1395	G2853	BQ026279	THOC2	Complejo 2 de THO
1396	G2869	BM674818	CENTG2	Proteína 17 que contiene repetición de trinucleótidos FP6778
1397	G3659	BM718282		
1398	G3755	BQ025315	FLJ32810	Proteína hipotética FLJ32810
1399	G4205	AA448989	PTPN3	Proteína tirosina fosfatasa, tipo 3 no receptor
1400	G4233	AK127860	PIK3CG	Fosfoinosítido-3-cinasa, catalítica, polipéptido gamma
1401	G4245	AA703239	FAD104	FAD104
1402	G4271	AL599933	PRKG1	Proteína cinasa, dependiente de GMPc, tipo I
1403	G4594	AK056722 AL700484		DKFZp686B17119_r1 686 (sinónimo: hlcc3) clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i> DKFZp686B17119 5', Locus transcrito
1404	G6993	BM968300		
1405	G7010	AW149839	NPAS3	Proteína 3 con dominio PAS neuronal
1406	G7115	BF508564	RBBP7	Proteína 7 de unión a retinoblastoma
1407	G7021	BG190202	FBX015	Proteína 15 de caja F
1408	G6144	R41724	FMNL2	Proteína 2 de tipo formina
1409	G7315	AW277126		Locus transcrito
1410	G7728	BM669438	BFSP2	Proteína 2 estructural de filamentos nucleados, faquinina
1411	G7695	AK122626	GPR82	Receptor 82 acoplado a proteínas G
1412	G7948	AW593931	CENTB2	Centaurina, beta 2
1413	G8010	BQ447982		<i>Homo sapiens</i> , clon IMAGE: 4827253, ARNm
1414	G8055	AK096377	FLJ39058	Proteína hipotética FLJ39058
1415	G7929	AI827546	APP	Proteína precursora de amiloide beta (A4) (proteasa nexina-II, enfermedad de Alzheimer)
1416	G2316	AJ412030		Transcrito asociado con neoplasia de células B, (gen BCMS), variante E de corte y empalme, transcrito no codificante
1417	G2990	AW973337	SPRED2	Proteína 2 relacionada con Sprouty, que contiene dominio EVH1
1418	G3606	BM680332		UI-E-EO1-aiy-h-05-0-UI.s1 UI-E-EO1 clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i> UI-E-EO1-aiy-h-05-0-UI 3', secuencia de ARNm
1419	G4372	CK816153	DLG1	Proteína DKFZP586B0319
1420	G5585	BE729311	XYLT1	Xilosiltransferasa I
1421	G6788	X67334	MLM2	Mantenimiento del minicromosoma MCM2 deficiente 2, mitotina (<i>S. cerevisiae</i>)
1422	G6876	AK055712		<i>Homo sapiens</i> , clon IMAGE: 4821804, ARNm, cds parcial
1423	G5694	AA102634	TRAF5	Factor 5 asociado con receptor de TNF
1424	G5547	BF997835	DOCK5	Dedicador de citocinesis 5
1425	G6851	AK056005	ZNF232	Proteína 232 de dedos de zinc
1426	G6893	AI056903		Locus transcrito
1427	G7199	BF431313	SLC13A3	Familia del portador de soluto 13 (transportador de dicarboxilato dependiente de sodio), miembro 3
1428	G7216	AI953227		Locus transcrito
1429	G7145	AF150329	VAV3	Oncogén Vav 3
1430	G7189	AW977068	AFTIPHI LIN	Proteína aftifilina
1431	G7518	AK097137		Locus transcrito, débilmente similar a

				NP_078841.2 proteína hipotética FLJ14166 [<i>Homo sapiens</i>]
1432	G7222	BX110631	NT5C2	5'-nucleotidasa, citosólica II
1433	G7870	BQ007450	F2RL2	Proteína 2 de tipo receptor del factor de coagulación II (trombina)
1434	G7877	BQ015552		UI-H-EI1-azf-m-15-0-UI.s1 NCI_COAP_EI1 clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i> IMAGE:5848118 3', secuencia de ARNm
1435	F8619	AI632567	TFCP2L1	Proteína 1 de tipo factor de transcripción CP2
1436	G0874	BC023611	EFHD2	Proteína 2 que contiene dominio de mano EF
1437	G2535	AI700987	C11orf23	Marco de lectura abierto 23 del cromosoma 11
1438	G3171	AW188318		Locus transcrito
1439	G2892	AI024536		Locus transcrito
1440	G3123	AL552527		Clon CS0DI067YL24 de ADNc de longitud completa de Cot 25 de placenta normalizado de <i>Homo sapiens</i> (ser humano)
1441	G3676	BM669634		UI-E-DX1-agw-g-08-0-UI.s1 UI-E-DX1 clon UI-E-DX1-agw-g-08-0-UI 3' de ADNc de <i>Homo sapiens</i> , secuencia de ARNm.
1442	G3386	BC069024	CENTG1	Centaurina, gamma 1
1443	G3756	BQ025740	DSTN	Destrina (factor de despolimerización de actina)
1444	G3996	AL833566	ALCAM	Molécula de adhesión celular de leucocitos activados
1445	G4272	AA669226		Similar a ADNc 3110050N22 de RIKEN
1446	G4286	AA873056	RAD51	Homólogo de RAD51 (homólogo de RecA, <i>E. coli</i>) (<i>S. cerevisiae</i>)
1447	G4495	AK054746	CACNA1A	Canal de calcio, dependiente de voltaje, tipo P/Q, subunidad alfa 1A
1448	G5129	N51068	KCNMA1	Canal de potasio activado por calcio de gran conductancia, subfamilia M, miembro alfa 1
1449	G5187	BU626581	NQO2	NAD(P)H deshidrogenasa, quinona 2
1450	G5193	AF113687	RGS6	Regulador de la señalización de la proteína G 66
1451	G6969	AI798727		Locus transcrito
1452	G5950	H17455		Clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i> 1NIB de cerebro de lactante ym36a08.s1 Soares IMAGE:50060 3', secuencia de ARNm
1453	G6034	N51961	THRAP1	Proteína 1 asociada con el receptor de la hormona tiroidea
1454	G7.101	AI630821		tx53f4.x1 NCI_CGAP_Lu24 clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i> IMAGE:2273311 3', secuencia de ARNm.
1455	G7316	AK097857		LOC157813 hipotética
1456	G7353	AF085854		Clon de ADNc de inserto de longitud completa YI54D04
1457	G7713	BM678413	PPM1H	Proteína fosfatasa 1H (que contiene dominio PP2C)
1458	G7772	BM677476	TOX	Proteína TOX de caja de grupo de alta movilidad del timo
1459	G7699	BC020838	CLDN20	Claudina 20
1460	G7364	AW978315	PHGDHL1	Proteína 1 de tipo fosfoglicerato dehidrogenasa
1461	G8584	BQ310416	THRAP2	Proteína 2 asociada con el receptor de la hormona tiroidea
1462	G8030	AK098270		FP6778 UI-H-EUO-azv-1-14-0-UI.s1
1463	G7967	BQ181903		Clon NCI_CGAP_Car1 de ADNc de <i>Homo sapiens</i> IMAGE:5854237 3', secuencia de

ES 2 379 805 T3

				ARNm.
1464	G8082	AK094332		Gen hipotético soportado por AK094332
1465	F8283	AI133478	UBE3A	Proteína ligasa E3A de ubiquitina (proteína asociada con el virus del papiloma humano E6, síndrome de Angelman)
1466	G2616	BX470806	PRKWINK1	Proteína cinasa, deficiente en lisina 1
1467	G2943	BQ448624	C7orf6	Marco de lectura abierto 6 del cromosoma 7
1468	G2981	AA573217	CHD1L	Proteína 1 de unión a cromodominio de ADN helicasa
1469	G3016	XM_499110		LOC441345
1470	G2992	AI807658	SNX27	Miembro 27 de la familia de nexina de clasificación
1471	G3600	AK074226	SUV420H1	Supresor de homólogo 1 de la variegación 4-20 (<i>Drosophila</i>)
1472	G4136	AI800735		ADNc FLJ11397 fis, clon HEMBA1000622
1473	G3870	BQ446672		UI-H-EU1-bac-c-08-0-UI,s1 NCI_CGAP_Ct1
1474	G4645	AK057639	UBE2B	Clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i> UI-H-EU1-bac-c-08-0-UI 3', secuencia de ARNm.
1475	G4332	AI668557		Enzima de conjugación de ubiquitina E2B (homólogo de RAD6)
1476	G5235	R40058	NRCAM	Clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i> 2NbHBst de mama yj83d08.x5 Soares
1477	G5028	R11869	ATF6	IMAGE:155343 3', secuencia de ARNm.
1478	G5270	T59016		Molécula de adhesión de células neuronales
1479	G5043	AW973785	NIPBL	Factor 6 de transcripción activante de bazo fetal yb49c12.s1 Stratagene (n.º 937205)
1480	G5587	BG281555		Clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i>
1481	G6767	AB036693	RAB9B	IMAGE:74518 3', secuencia de ARNm.
1482	G7916	BF921173		Homólogo de Nipped-B (<i>Drosophila</i>)
1483	B5869N	NM_015259	ICOSL	Gen hipotético soportado por BC019009
1484	G2037	BG462138		RAB9B, miembro de la familia del oncogén RAS
1485	G2819	AK095968		ADNc de <i>Homo sapiens</i> MR2-NT0135-161100-006-a08 NT0135, secuencia de ARNm
1486	G3342	BE156543		Ligando coestimulador de células T inducible
1487	G4254	BU739793	PDE4B	Locus transcrito
1488	G4287	BX537672	KIAA0934	ADNc FLJ3 8649 fis, clon HHDPC2007302
1489	G4511	AK054893	LOC146713	ADNc de <i>Homo sapiens</i> QV0-HT0368-310100-091-h06 HT0368, secuencia de ARNm.
1490	G4531	AK055134	STAG1	Fosfodiesterasa 4B, específica de AMPc (homólogo de fosfodiesterasa E4 duncce, <i>Drosophila</i>)
1491	G4894	AK096262		KIAA0934
1492	G4925	AK097171		Proteína hipotética LOC146713
1493	G5095	H98216	C14orf24	Antígeno 1 del estroma
1494	G5150	N63395	MLSTD2	ADNc FLJ38943 fis, clon NT2NE2017480
1495	G5123	N48593		ADNc FLJ39852 fis, clon SPLEN2014865
1496	G6039	BC036620	C9orf99	Marco de lectura abierto 24 del cromosoma 14
1497	G7046	AK074042	PARVG	Proteína 2 que contiene dominio de esterilidad masculina
1498	G7119	BM977618	PLEKHA5	ADNc FLJ36725 fis, clon UTERU2012230
				Marco de lectura abierto 99 del cromosoma 9
				Parvina, gamma
				Proteína que contiene dominio de homología con pleckstrina, familia A miembro 5

ES 2 379 805 T3

1499	G6983	CN479411	IREM2	Receptor inmunitario expresado en células mieloides 2
1500	G6059	N67553	PLEKHA5	Proteína que contiene dominio de homología con pleckstrina, familia A miembro 5
1501	G7317	AW292370		Locus transcrito
1502	G7733	BM676496	PPEF2	Proteína fosfatasa, dominio 2 de unión a calcio de mano EF
1503	G7651	AK055059	SEMA6A	Dominio Sema, dominio transmembrana (TM) y dominio citoplasmático, (semaforina) 6A
1504	G7346	AW470328	PPFIA1	Proteína de interacción (liprina) con proteína tirosina fosfatasa, tipo receptor, polipéptido f (PTPRF), alfa 1
1505	G7960	BI430555		Locus transcrito
1506	G7979	AA535272		Clon nf93d02.s1 NCI_CGAP_Co3 de ADNc de <i>Homo sapiens</i> IMAGE:927459 3', secuencia de ARNm.
1507	G0130	AB058773	COL27A1	Colágeno, tipo XXVII, alfa 1
1508	F8082	BF058212	FLJ40125	Proteína hipotética FLJ40125
1509	G2925	AK093779		Gen hipotético soportado por AK093779
1510	G3578	AK057616	MTVR1	Homólogo 1 del receptor del virus de tumor mamario de ratón
1511	G3255	AK002088	UBE2E3	Enzima de conjugación de ubiquitina E2E 3 (homólogo de UBC4/5, levadura)
1512	G4118	AA149783		Locus transcrito
1513	G4145	W25631	MGC34646	Proteína hipotética MGC34646
1514	G4124	AA169173	RGL1	Proteína 1 de tipo estimulador de la disociación de nucleótidos de guanina Ral
1515	G4333	AI668582	ZNF609	Proteína 609 de dedos de zinc
1516	G5221	NM_005867	DSCR4	Gen 4 de la región crítica del síndrome de Down
1517	G5037	H56731		Locus transcrito
1518	G5542	XM_209824		Similar a precursor de matrilina 2
1519	G5642	XM_212106 BG004461		ADNc de <i>Homo sapiens</i> MR3-GN0186-211100-009-f09 GN0186, secuencia de ARNm.
1520	G7141	BQ001753	DISC1	Alterado en esquizofrenia 1
1521	G7202	AI825890		Locus transcrito
1522	G7241	AW003728		Locus transcrito
1523	G7264	AW069500		Locus transcrito
1524	G7462	BF055457		Locus transcrito
1525	G7224	AI951426	DUSP10	Fosfatasa 10 de especificidad doble
1526	G7257	AK023296	XRCC5	Reparación de rayos X que complementa la reparación defectuosa en células de hámster chino 5 (reintegración de rotura bicatenaria; autoantígeno Ku, 80 kDa)
1527	G8180	AW292980		UI-H-BW0-aih-c-01-0-UI.s1 NCI_CGAP_Sub6 clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i> IMAGE:2729089 3', secuencia de ARNm.
1528	G8234	BU076203	MAPK10	Proteína cinasa 10 activada por mitógenos
1529	G2403	CR591879	TncRNA	ARN no codificante derivado de trofoblastos
1530	G3135	AL109783		Clon de ADNc de inserto de longitud completa de ARNm EUROIMAGE 163507
1531	G3399	AF295378	MAGEF1	Antígeno de melanoma, familia F, 1
1532	G4514	AK054930		
1533	G4608	AK057035		ADNc FLJ32473 fis, clon SKNMC2000374
1534	G5177	N72313		Clon de ADNc de <i>Homo sapiens</i> de bazo e hígado fetal yv31b09.r1 Soares IMAGE:244313 5', secuencia de ARNm.

ES 2 379 805 T3

1535	G6269	BG755974	C14orf125	Marco de lectura abierto 125 del cromosoma 14
1536	G6250	W86987	IGF1R	Receptor del factor 1 de crecimiento similar a la insulina
1537	G7318	BF196963	ZNLYND11	Proteína 11 que contiene dominio MYND, de dedos de Zinc
1538	G7668	BQ712480	SLC27A1	Familia del portador de soluto 27 (transportador de ácidos grasos), miembro 1
1539	G7717	BM681618		Locus transcrito
1540	G7432	AK022190	LDB2	Proteína 2 de unión al dominio LIM
1541	G7398	BE501478		Locus transcrito
1542	G8512	BC028198	FLJ25200	Proteína hipotética FLJ25200
1543	G8117	AK091697		Locus transcrito, débilmente similar al gen de repetición de tetratricopéptido transcrito de manera ubicua NP-872601.1, ligado al cromosoma Y [<i>Homo sapiens</i>]

Tabla 3. Conjunto de cebadores de RT-PCR

LMMI D	Cebador directo	SEQ ID NO	Cebador inverso	SEQ ID NO
A2466	CACAACCATTTTG ACCTCTCAGT	34	GCTTCTACATCTC AAATCATGTCC	4
A2735	CCTCAGGTCTTCA CTCTTTCTTCT	35	TGCCATGTACAAT GTAGTAACAGC	36
A3802	TAGAGAACCCCA TGCCCTTA	37	TCAGTAAGAAAG ACTGGCTAATGGT	38
A4513	AGCCATTTGATGG AGAAGAATG	39	TGGATGAAGGGG TTCCCGAAT	40
A5065	CCAGTCTTGGCTG AAATGTTTT	41	CTCTCTGAAATGC AACTGTTCGT	42
A6598	GAGGAAGAATTG CTTTTCTCTTACC	43	TTTTAAAGTGCAT CTGTGGAGG	44
A7296	GTGGTAACGFTCA GCAAAAGC	45	ATGGCTCCTTACC TGAGAGAAAC	46
A7608	GACAGCAAAGTC TTGACTCCTTC	47	AAAGTGGCTGGG AGTAAGGTATC	48
A7856	AGACAAAGAGAG AAAGAGACGCA	49	AGAGGATCCTATT GTCTTGGAGG	50
A7908	CAGAATCGCAGG ATGAAAGATA	51	GTGACTCATGCCT TGATATGACA	52
A8172	TATCTGTGATTGT TGCTCACCTG	53	GCCCATCCTTACT TTCCTCATAc	54
A8335	CTTGAAGAAGAA CTTCCAGACGA	55	AATGTTCTAAAGA TGAGAGGGGG	56
A8487	GCCTTAAAAGTGG AGAGAGGAAT	57	TAGCAGAGCGCA CAAACATTTA	58
A9371	GTGCACCAAAC ACTGACATTT	59	GGCTTTGCAACTT TGTCATT	60
A9723	TCTGAAGCCTGAT TACTGTGTGA	61	ATGTGCACTGGAC TGAAACATCT	62
B3827	TGTGTGAGCATTT GACAAGACT	63	AATTTTAAACAGCA AGTGGTGGG	64
B4161	ACTGCAAATGGG AGTGCTTAGTA	65	GGAGAGGGTATG AGTCCTTTGAT	66
B6125N	CAGCTGTATCCCC TAAACAACC	67	GGTGAGGTATCCT GTCTTCAGAG	68
B7534	TCCAGAATTGCTT GTTACGTAGG	69	GGTTCTCAGAGCT GTTTTGCTT	70
B8814	GTATTACCGATGC CTCTGAAAAG	71	TGAGGTGTATGGC AAGTTGAATC	72

C1948	TAGAGTCTAGAA CGCAAGGATCTC	73	CAAAAACCTATCA CAGCCTAAAGGG	74
C6209	ATTAGAATTCTGG GGCTGTAAGG	75	CTACCCTGGGGTG TTTTCTAAAT	76
C8926	GGTGCATAAACA CTAATGCAGTC	77	GTTAAAAGGAGC ACAGGGACATA	78
C9016	CACCCATAACCA AGAGAACTCAG	79	GGGATGTCTGTTC CTTTTATTCC	80
C9046	GTGGCCACTGAAT GTAAAACAAC	81	AGTAACTCTGTCT TCATCCGCAG	82
C9098	CAATTTTCCCATG GTCTTATCC	1	GCGTTTTCAAGAT CTAGCATGTG	2
C9490	GTTTTGGCCCAAT TAACCAGTA	83	GCACTTGGAAGG GGTATTGTATT	84
C9517	ATTCATTCTGGAC CAAAGATCC	85	TCTACTGTGGACA AGAAGCCTGT	86
C9858	AGCAGTCAGGGA CAGACATACAT	87	AAGGTAAACTCT AGGCATCCGTC	88
D8457	AAAGAGGAACAC ACTGGGTGTAA	89	AGGAGCCTAGAG AAGCAATCATC	90
D9504	TCTTCAGCATGAT GTGTTGTGT	91	TGAGAGATTCATG AGGAAGTCTTG	92
E0133	AGGTGTACTGAGT GGGGAAGAAT	93	CTGGCATAACAGT GGCTTAAGTT	94
E0341	GCTCCTTCTCTCA TGGATTACCT	95	CAAGTGGGTAAA ATGCTGTCTTC	96
E0556	ACAAGTGCGAAG TCTGGTAAG	97	ACAGTGGTATTTG TGGCGTATC	98
E2191	CCAAAAGCTAAG CAGTGGTGAAC	99	CTGTGCAACAGTT CCCAAATG	100
F5946	TTGACAAGCTGTA GAACTGGATT	101	AAAGTTGGAATG CCGATGACA	102
G3996	CAGCCTCAATGG ATACTGGC	103	GCTAGAAAGCAA ACTCATGCTCTG	104
A3097	TATGGTCTCCGTG CCTACCAC	107	ATACAGACAGGA AAAGCAGAGCA	108
ACTB	GAGGTGATAGCA TTGCTTTCG	105	CAAGTCAGTGTAC AGGTAAGC	106

Tabla 4 genes regulados por disminución en casos de ganglios linfáticos positivos

N.º de asignación	LMMID	REGISTRO	SÍMBOLO	NOMBRE DEL GEN
1544	C8947	AL833303		Clon YZ04E02 de ADNc de inserto de longitud completa
1545	B2112	S74221	IK	Citocina IK, regulador por disminución de HLA II
1546	A2720	AJ002231	GNPDA1	Glucosamina-6-fosfato desaminasa 1
1547	B4433	AJ420556	SEC5L1	Proteína 1 de tipo SEC5 (<i>S. cerevisiae</i>)
1548	B8117	AA994071		Proteína 192 de dedos de zinc
1549	C1063	AK096960	RAD1	Homólogo de RAD1 (<i>S. pombe</i>)
1550	A5355	NM_201222	MAGED2	Familia D del antígeno de melanoma, 2
1551	B6373	BX423161	LHPP	Fosfolisina fosfohistidina inorgánica pirofosfato fosfatasa
1552	A9475N	AF081195	RASGRP1	Proteína 1 de liberación de RAS guanil (regulada por DAG y calcio)
1553	B7525	NM_015266	SLC9A8	Familia del portador de soluto 9 (intercambiador de sodio/hidrógeno), isoforma 8
1554	B4394	N46424	RAI14	Proteína 14 inducida por ácido retinoico
1555	A2301N	BC028600	SLC2A2	Familia del portador de soluto 20 (transportador de fosfato), miembro 2
1556	A1219	NM_001905	CTPS	CTP sintasa
1557	A6309	BM701413	SEC61B	Subunidad Sec61 beta
1558	D3350	R45979		EST
1559	D6495	AA993602	HSPC63	Proteína HSPC063
1560	A1084	BM905965	HSPE1	Proteína 1 de choque térmico de 10 kDa (chaperonina 10)
1561	F3819	AK000471		EST
1562	D4231	C05897	ARL5	Proteína 5 de tipo factor de ribosilación de ADP
1563	B5126	BX109845	SH3BGRL2	Tipo 2 de proteína rica en ácido glutámico de unión al dominio SH3
1564	B6528	AF159447	SUFU	Supresor de homólogo fusionado (<i>Drosophila</i>)
1565	A1859N	NM_001002295	GATA3	Proteína 3 de unión a GATA
1566	F6308	XM_375105	KIAA329	KIAA0329
1567	B3960	AF234532	MYO1	Miosina X
1568	B6051	R32860	MOBKL2B	Locus transcrito
1569	C7642	AK001431	FLJ1569	Proteína hipotética FLJ10569
1570	C6830	R49122	FLJ148	Proteína hipotética FLJ14800
1571	C4865	AK095215	C21orf18	Marco de lectura abierto 18 del cromosoma 21
1572	B4932	AA909294	MUM1	Antígeno asociado con melanoma (mutado) 1
1573	B4159	BU634102	C9orf116	Marco de lectura abierto 116 del cromosoma 9
1574	B6560	BC011728	ARMC7	Proteína 7 que contiene repetición de armadillo
1575	B9577	N48793	KIAA1546	Proteína KIAA1546
1576	B4930	AL110157	DUSP7	Fosfatasa 7 de especificidad doble
1577	A2759N	X16260	ITIH1	Inhibidor H1 inter-alfa (globulina)
1578	B9454	AA033857	RAB4A	RAB40A, miembro de la familia del oncogén RAS
1579	B7123	CA418716	STXBP5	Proteína 5 de unión a syntaxina (tomosina)
1580	B8754	AL833264	FEM1B	Homólogo b de Fem-1 (<i>C. elegans</i>)
1581	B0830 N	BM473615	ID4	Inhibidor de proteína 4 de unión a ADN, Proteína de hélice-bucle-hélice negativa dominante
1582	C3772	U70063	ASAH1	N-acilesfingosina amidohidrolasa (ceramidasa ácida) 1
1583	B9198	AK123132	MSRA	Metionina sulfóxido reductasa A
1584	A6996	AL832899	RAPGEF6	Gen KIAA1961
1585	A5364	BC004309	RAB4A	RAB4A, miembro de la familia del oncogén RAS

ES 2 379 805 T3

1586	B3769	N91145	CARF	Colabora/coopera con proteína ARF (marco de lectura alternativo)
1587	B8469	CR598871	GFPT1	ARNm del antígeno de rechazo de tumores clon 114, cds completo
1588	B1465N	AK074306	FLJ23518	Proteína hipotética FLJ23518
1589	B8098	R42864	PAPOLA	Poli(A) polimerasa alfa
1590	B8277	H05711	FLJ3536	Proteína hipotética FLJ35036
1591	A6649N	AK026613	GOLGA7	Autoantígeno de Golgi, subfamilia golgin a, 7
1592	A4647N	NM_004169	SHMT1	Serina hidroximetiltransferasa 1 (soluble)
1593	B4176	AF037629		Locus transcrito
1594	A6342N	AI057185	SIPA1	Gen 1 asociado con proliferación inducida por señal
1595	B8141	BC042478	DKFZP434F318	Proteína hipotética DKFZp434F0318
1596	B9157	R44292	FLJ3778	Proteína hipotética FLJ37078
1597	A3384N	NM_002024	FMR1	Retraso 1 mental de X frágil
1598	B5168	AL834437	FLJ31818	Proteína hipotética FLJ31818
1599	A6777	BQ276959	LGALS2	Lectina, de unión a galactósido, soluble, 2 (galectina 2)
1600	C6087	BU676496	MTAC2D1	Proteína 1 que contiene dominio C2 de direccionamiento a la membrana (tándem)
1601	A1878N	U88666	SRPK2	Proteína cinasa 2 SFRS
1602	B6103	T89283		Secuencia de ARNm del clon IMAGE:110436

Tabla 5 genes regulados por incremento en casos de ganglios linfáticos positivos

N.º de asignación	LMMID	REGISTRO	SÍMBOLO	NOMBRE DEL GEN
1603	A3166N	BX953609	GFPT1	Glutamina-fructosa-6-fosfato transaminasa 1
1604	A1750	D31716	BTEB1	Factor 9 de tipo Kruppel
1605	B3701	AY249859	DUSP22	Fosfatasa 22 de especificidad doble
1606	C3692	AI816254	USP11	Proteasa 11 específica de ubiquitina
1607	A1026	M60091	GALT	Galactosa-1-fosfato uridililtransferasa
1608	B3777	AW574563	CERK	Ceramida cinasa
1609	A3923	AF038440	PLD2	Fosfolipasa D2
1610	B9111	NM_014811	K1AA649	KIAA0649
1611	B8069	NM_013366	ANAPC2	Subunidad 2 del complejo de promoción de anafase
1612	B6768N	AA919178	STK24	Serina/treonina cinasa 24 (homólogo de STE20, levadura)
1613	B3543	AK092257		Calpaína 14
1614	A1350	NM_013314	BLNK	Ligador de células B
1615	B8715	NM_080836	STK35	Serina/treonina cinasa 35
1616	B9038	AY304473	WDR26	Dominio 26 de repetición de WD
1617	B4721N	BE795997	NCOR2	Co-represor 2 del receptor nuclear
1618	B9158	CR622145	SCDR1	Deshidrogenasa/reductasa 10 de cadena corta
1619	B3350	AK056402	TDRKH	Proteína que contiene dominio H y Tudor
1620	A4791	AF065482	SNX2	Nexina 2 de clasificación
1621	F3895	AF100742	ZFR	Proteína de unión a ARN de dedos de zinc
1622	A2321	NM_005831	NDP52	Proteína de dominio nuclear 10
1623	B0122	BC009534	PINK1	Cinasa 1 supuesta inducida por PTEN
1624	A2374	X97999	TAF7	TAF7 ARN Polimerasa II, factor asociado con proteína de unión a caja TATA (TBP), 55 kDa
1625	A1619	BC013873	CETN2	Centrina, proteína de mano de EF, 2
1626	A3953	NM_004661	CDC23	CDC23 (ciclo de división celular 23, levadura, homólogo)
1627	A5419	BU630296	ARRDC4	Proteína 4 que contiene dominio arrestina
1628	B3737	NM_014647	LKAP	Lincaína b1
1629	B4095	BC014070	MAGED1	Familia D del antígeno de melanoma, 1
1630	A2079	NM_001183	ATP6AP1	ATPasa, transportadora de H ⁺ , proteína 1 accesoria lisosómica

ES 2 379 805 T3

1631	A6411	AL137764	LOC64744	Proteína hipotética AL133206
1632	A2490	BC011674	PLOD3	Procolágeno-lisina, 2-oxoglutarato 5-dioxigenasa 3
1633	A5269	U80743	EP4	Proteína p400 de unión a E1A
1634	A3130	L36529	THOC1	Complejo 1 de THO
1635	A4415	U17838	PRDM2	Proteína 2 que contiene dominio PR, con dominio ZNF
1636	B0132	AK056512	C5orf14	Marco de lectura abierto 14 del cromosoma 5
1637	A8596	AA632025		Locus transcrito
1638	C4735	AL136805	ZNF537	Proteína 537 del dedos de zinc
1639	A4325	AK123352	HRMTIL1	Proteína 1 de tipo HMPT1 hnRNP metiltransferasa (<i>S. cerevisiae</i>)
1640	B3943	XM_377060	LOC23547	Proteína hipotética LOC203547
1641	A6891	BU616541	PIAS2	Inhibidor de proteína de STAT activado, 2
1642	A5825	BX640683	C18orf25	Marco de lectura abierto 25 del cromosoma 18
1643	A2228	AK023953	GNPAT	Glicerofosfato O-aciltransferasa
1644	A9256	BC051850	TMPIT	Proteína transmembrana inducida por factor de necrosis tumoral alfa
1645	A0582	BC034409	ICAM3	Molécula 3 de adhesión intercelular
1646	B4362	BX648218	ASXL2	Proteína 2 de tipo peines sexuales adicionales (<i>Drosophila</i>)
1647	B7278	BC005125	FLJ1475	LOC79954 hipotético
1648	B3770	BQ650605	Dic2	Cadena ligera 2 de dineína
1649	B8113	BC020848	RNASE6	Ribonucleasa, familia de ARNasa A, k6
1650	A5767	AI096898	NKAP	Proteína de activación de NF-kappaB
1651	A0232	NM_006219	PIK3CB	Fosfoinosítido-3-cinasa, catalítico, polipéptido beta
1652	C4884	AA036952	Gup1	Proteína anterior del complejo GRINL1A
1653	B6529	CA314443	PLXNA3	Plexina A3
1654	C3645	AK000403	CKLFSF6	Superfamilia 6 del factor de tipo quimiocina
1655	C0258	NM_000484	APP	Proteína precursora de amiloide beta (A4) (Proteasa nexina-II, enfermedad de Alzheimer)
1656	B5104	CR613027	C21orf4	Marco de lectura abierto 4 del cromosoma 21
1657	B4556	NM_020531	C2orf3	Marco de lectura abierto 3 del cromosoma 20
1658	A4719N	BC048259	PICALM	Proteína de ensamblaje de clatrina de unión a fosfatidilinositol
1659	D9475	AW089912	OAZ1	Ornitina descarboxilasa antizima 1
1660	E0215	AI091879		Locus transcrito
1661	E1229	NM_003470	USP7	Proteasa 7 específica de ubiquitina (asociada con virus del herpes)
1662	E1378	AK025645	SLA2	Adaptador 2 de tipo Src
1663	A0183N	NM_004431	EPHA2	Receptor A2 de EPH
1664	D7869	NM_007175	C8orf2	Familia de dominio SPFH, miembro 2
1665	E0052	AI081459	PSMA6	Subunidad de proteasoma (prosome, macropaina), tipo alfa, 6
1666	E1522	BM550980	MGC521	Clon de ADNc de longitud completa de proteína hipotética MGC52010
1667	C0328	CR592555		CSODE011Y104 de placenta de <i>Homo sapiens</i> (ser humano)
1668	E0523	BC017483	AHNAK	Nucleoproteína AHNAK (desmoyequina)
1669	E1379	AK123877	ALDH3A2	Familia 3 de aldehído deshidrogenasa, miembro A2
1670	D6549	BC004888	FLJ152	Proteína hipotética FLJ10052
1671	D3747	AA843607	LOC12376	Proteína hipotética LOC120376
1672	C7731	AF245505	DKFZp564I1922	Adlicano
1673	A0954	NM_000252	MTM1	Miotubularina 1
1674	B2801	AK130734	FLJ1371	Proteína hipotética FLJ13710

ES 2 379 805 T3

1675	A8688	CR597998	NPDC1	Control, diferenciación y proliferación neural, 1
1676	B0629	AK126877	FLJ1521	Proteína hipotética FLJ10521
1677	A7145	X52005		EST
1678	A6751	NM_002258	KLRB1	Subfamilia B del receptor de tipo lectina de células citotóxicas, miembro 1
1679	A9307	BC053677	FLJ37562	Proteína hipotética FLJ37562

Tabla 6 Genes regulados por disminución en casos positivos de recidiva positiva

N.º de asignación	LMMID	REGISTRO	NOMBRE DEL GEN
1680	A1989	M86737	Proteína 1 de reconocimiento específico de estructura
1681	A2156	L15189	Proteína 9B de choque térmico de 70 kDa (mortalina-2)
1682	A6411	AL137764	Proteína hipotética AL133206
1683	A2457	NM_003680	Tirosil-ARNt sintetasa
1684	B0201	X71490	EST
1685	B4964	CR622891	Cremallera de leucina básica y dominios 2 de W2
1686	A5713	AK074119	Proteína 3 que contiene dominio ZZ, de dedos de zinc
1687	A8122	AA625409	Mediador de la transcripción de ARN polimerasa II, homólogo de subunidad 9 (levadura)
1688	B8113	B020848	Ribonucleasa, familia de RNasa A, k6

5 Tabla 7 genes regulados por incremento en casos positivos de recidiva

N.º de asignación	LMMID	REGISTRO	NOMBRE DEL GEN
1689	F7415	BE964060	EST
1690	A1701	AK130450	Proteína L3 ribosómica
1691	A1701	AK130450	Proteína L3 ribosómica
1692	D5019	AA921313	EST
1693	D1723	BG251399	Proteína L36a ribosómica
1694	A0774N	BC012613	Carboxipeptidasa A3 (mastocito)
1695	A3317	NM_033500	Hexocinasa 1
1696	A3317	NM_033500	Hexocinasa 1
1697	F1956	NM_024554	Proteína 5 derivada de elemento transponible PiggyBac
1698	E0569	BU608360	Proteína hipotética LOC51255
1699	D2335	BQ018544	LOC389908 hipotético
1700	F0429	AK022634	Proto-oncogén 8
1701	D4861	AA913741	Locus transcrito
1702	F2429	AF097366	Familia del portador de soluto 24 (intercambiador de sodio/potasio/calcio), miembro 2
1703	C4978	NM_170707	Lamina A/C
1704	A0463	BM923584	Proteína S 15 ribosómica
1705	A8729	AI337816	Proteína L35 ribosómica
1706	E0577	NM_170707	Lamina A/C
1707	C3870	NM_002804	Subunidad 26S de proteasoma (prosome, macropaina), ATPasa, 3
1708	G2545	NM_001202	Proteína 4 morfogenética ósea
1709	D5183	AA936173	Proteína S11 ribosómica
1710	D8489	AA961412	Producto 1 de la proteína de fusión ribosómica de residuo de ubiquitina A-52
1711	F3279	M61854	Citocromo P450, familia 2, subfamilia C, polipéptido 19
1712	B6765N	AI346913	Proteína de unión a sindecano (sinténina) 2
1713	G4019	AI207670	Proteína hipotética FLJ12078
1714	D1736	BG425369	Proteína S17 ribosómica
1715	A2085	CD555959	Proteína L31 ribosómica
1716	A0449	BG110168	Miembro de la superfamilia 4 transmembrana tetraspan NET-5

Tabla 8 Secuencia de oligonucleótido bicatenario específico insertado en el vector de expresión de ARNip y secuencias diana de cada ARNip.

SEQ ID NO:	Secuencia de nucleótido	genes			Posiciones
6	GAAGCAGCACGACTTCTTC	EGFP	diana	ARNip	
7	GCGCGCTTTGTAGGATTCG	SCR	diana	ARNip	
8	GATGCACTCACCTTGTAGT	ECT2	diana	ARNip	1268-1286
9	GGCAAATACTCCTGAGCTC	ECT2	diana	ARNip	1416-1434
10	GAGACATCCTCTTTGACTA	CDC45L	diana	ARNip	575-593
11	CAGACCAGTGGGTGCAAGA	CDC45L	diana	ARNip	704-722
12	TCCCGAAGCAGCACGACTTCTTCT TCAAGAGAGAAGAAGTCGTGCTG CTTC	EGFP	inserto	ARNip	
13	AAAAGAAGCAGCACGACTTCTTCT CTCTTGAAGAAGAAGTCGTGCTGC TTC	EGFP	inserto	ARNip	
14	GAAGCAGCACGACTTCTTCTTCAA GAGAGAAGAAGTCGTGCTGCTTC	EGFP	horquilla	ARNip	
15	TCCCGCGCGCTTTGTAGGATTCGT TCAAGAGACGAATCCTACAAAGC GCGC	SCR	inserto	ARNip	
16	AAAAGCGCGCTTTGTAGGATTCGT CTCTTGAACGAATCCTACAAAGCG CGC	SCR	inserto	ARNip	
17	GCGCGCTTTGTAGGATTCGTTCAA GAGACGAATCCTACAAAGCGCGC	SCR	horquilla	ARNip	
18	TCCCGATGCACTCACCTTGTAGTT TCAAGAGAACTACAAGGTGAGTG CATC	ECT2	inserto	ARNip	
19	AAAAGATGCACTCACCTTGTAGTT CTCTTGAAACTACAAGGTGAGTGC ATC	ECT2	inserto	ARNip	
20	GATGCACTCACCTTGTAGTTTCAA GAGAACTACAAGGTGAGTGCATC	ECT2	horquilla	ARNip	
21	TCCCGGCAAATACTCCTGAGCTCT TCAAGAGAGAGCTCAGGAGTATT TGCC	ECT2	inserto	ARNip	
22	AAAAGGCAAATACTCCTGAGCTCT CTCTTGAAGAGCTCAGGAGTATTT GCC	ECT2	inserto	ARNip	
23	GGCAAATACTCCTGAGCTCTTCAA GAGAGAGCTCAGGAGTATTTGCC	ECT2	horquilla	ARNip	
24	TCCCGAGACATCCTCTTTGACTAT TCAAGAGATAGTCAAAGAGGATG TCTC	CDC45L	inserto	ARNip	
25	AAAAGAGACATCCTCTTTGACTAT CTCTTGAATAGTCAAAGAGGATGT CTC	CDC45L	inserto	ARNip	
26	GAGACATCCTCTTTGACTATTCAA GAGATAGTCAAAGAGGATGTCTC	CDC45L	horquilla	ARNip	
27	TCCCGAGACCAGTGGGTGCAAGA TTCAAGAGATCTTGCACCCACTGG TCTG	CDC45L	inserto	ARNip	
28	AAAACAGACCAGTGGGTGCAAGA TCTCTTGAATCTTGCACCCACTGG TCTG	CDC45L	inserto	ARNip	
29	CAGACCAGTGGGTGCAAGATTCA AGAGATCTTGCACCCACTGGTCTG	CDC45L	horquilla	ARNip	

Tabla 9A. Asociación entre positividad para DKK1 en tejidos de ESCC y características de los pacientes (n=220)

	Total	DKK1 fuertemente positivo	DKK1 débilmente positivo	DKK1 ausente	Valor de P-fuerte/débil frente a ausente
	n=220	n=60	n=75	n=85	
Género					
Masculino	202	53	69	80	NS
Femenino	18	7	6	5	
Edad (años)					
<65	138	40	52	46	NS
≥65	82	20	23	39	
Factor pT					
T1+T2	98	20	37	41	0,0479*
T3+T4	122	40	38	44	
Factor pN					
N0	80	15	30	35	0,0404*
N1+N2	140	45	45	50	

ADC, adenocarcinoma; SCC, carcinoma de células escamosas

*P < 0,05 (Prueba exacta de Fisher)

NS, no significativo

5

Tabla 9B. Análisis de modelo de riesgos proporcionales de Cox de factores de pronóstico en pacientes con ESCC

Variables	Razón de riesgos	IC del 95%	Desfavorable/Favorable	Valor de P
Análisis univariado				
DKK1	1,477	1,012-2,157	Fuerte(+)/Débil(+) o (-)	0,0433*
Edad (años)	0,911	0,629-1,319	65≥ / <65	NS
Género	2,120	0,932-4,819	Masculino / Femenino	NS
Factor pT	1,889	1,411-2,528	T3+T4/T1+T2	<0,0001*
Factor pN	2,76	1,626-4,571	N1+N2/N0	0,0001*
Análisis multivariado				
DKK1	1,181	0,804-1,734	Fuerte(+)/Débil(+) o (-)	NS
Factor pT	2,054	1,223-3,447	T3+T4/T1+T2	0,0065*
Factor pN	2,256	1,454-3,502	N1+N2/N0	0,0003*

*P < 0,05

NS, no significativo

Tabla 10A. Asociación entre positividad para DKK1 en tejidos de NSCLC y características de los pacientes (n=279)

	Total	DKK1 fuertemente positivo	DKK1 débilmente positivo	DKK1 ausente	Valor de P-fuerte frente a débil/ausente
	n = 279	n = 125	n = 102	n = 52	
Género					
Masculino	183	94	62	27	0,0024*
Femenino	96	31	40	25	
Edad (años)					
<65	134	51	59	24	0,0309*
≥65	145	74	43	28	
Tipo histológico					
ADC	161	48	70	43	<0,001*
Sin ADC	118	77	32	9	
Factor pT					
T1+T2	241	111	84	46	NS
T3+T4	38	14	18	6	
Factor pN					
N0	210	88	85	37	NS
N1+N2	69	37	17	15	

ADC, adenocarcinoma; SCC, carcinoma de células escamosas

sin ADC, SCC, carcinoma de células grandes (LCC) y carcinoma de células adenoescamosas (ASC)
 *P < 0,05 (prueba exacta de Fisher)
 NS, no significativo

Tabla 10B. Análisis de modelo de riesgos proporcionales de Cox de factores de pronóstico en pacientes con NSCLC

Variables	Razones de riesgos	IC del 95%	Desfavorable/Favorable	Valor de P
Análisis univariado				
DKK1	1,977	1,234-3,169	Fuerte(+)/Débil(+) o (-)	0,0046*
Edad (años)	2,214	1,365-3,592	65 ≥ / <65	0,0013*
Género	1,958	1,147-3,345	Masculino / Femenino	0,0138*
Tipo histológico	2,279	1,418-3,661	sin ADC/ADC1	0,0007*
Factor pT	2,431	1,374-4,303	T3+T4/T1+T2	0,0023 *
Factor pN	3,811	2,387-6,084	N1+N2/N0	<0,0001*
Análisis multivariado				
DKK1	1,798	1,114-2,903	Fuerte(+)/Débil(+) o (-)	0,0163*
Factor pT	2,407	1,349-4,294	T3+T4 / T1+T2	0,0029 *
Factor pN	3,418	2,124-5,500	N1+N2/N0	<0,0001 *

1 ADC, adenocarcinoma

*P < 0,05

LISTA DE SECUENCIAS

<110> ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.
UNIVERSIDAD DE TOKYO

5 <120> MÉTODO DE DIAGNÓSTICO DE CÁNCER DE ESÓFAGO

<130> ONC-A0516P

<150> US 60/703.263

10 <151> 27-07-2005

<160> 111

<170> PatentIn versión 3.3

15 <210> 1

<211> 22

<212> ADN

<213> Artificial

20 <220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para PCR

<400> 1

caattttccc atggtcttat cc

22

25 <210> 2

<211> 23

<212> ADN

<213> Artificial

30 <220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para PCR

<400> 2

gcgttttcaa gatctagcat gtg

23

<210> 3

35 <211> 22

<212> ADN

<213> Artificial

	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para PCR	
	<400> 3	
5	atgaggagaa cacactctcc gt	22
	<210> 4	
	<211> 24	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
10		
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para PCR	
	<400> 4	
	gcttctacat ctcaaatcat gtcc	24
15		
	<210> 5	
	<211> 9	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
20		
	<220>	
	<223> secuencia de bucle para ARNip	
	<400> 5	
25	ttcaagaga	9
	<210> 6	
	<211> 19	
	<212> ADN	
30	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> secuencia diana para ARNip	
35	<400> 6	
	gaagcagcac gacttcttc	19
	<210> 7	

<211> 19
 <212> ADN
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> secuencia diana para ARNip

<400> 7
 gcgcgcttg taggattcg 19

10 <210> 8
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> secuencia diana para ARNip

<400> 8
 gatgcactca cctgtagt 19

20 <210> 9
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Artificial

25 <220>
 <223> secuencia diana para ARNip
 <400> 9
 ggcaaatact cctgagctc 19

30 <210> 10
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> secuencia diana para ARNip
 <400> 10

	gagacatcct cttgacta	19
	<210> 11	
	<211> 19	
	<212> ADN	
5	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> secuencia diana para ARNip	
10	<400> 11	
	cagaccagtg ggtgcaaga	19
	<210> 12	
	<211> 51	
15	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
20	<223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip	
	<400> 12	
	tcccgaagca gcacgacttc ttctcaaga gagaagaagt cgtgctgctt c	51
25	<210> 13	
	<211> 51	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
30	<220>	
	<223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip	
	<400> 13	
35	aaaagaagca gcacgacttc ttctctctg aagaagaagt cgtgctgctt c	51
	<210> 14	

<211> 47

<212> ADN

<213> Artificial

5 <220>

<223> diseño de horquilla de ARNip

<400> 14

gaagcagcac gacttcttct tcaagagaga agaagtcgtg ctgcttc

47

10

<210> 15

<211> 51

<212> ADN

<213> Artificial

15

<220>

<223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip

20

<400> 15

tcccgcgcgc ttgtaggat tcgtcaaga gacgaatcct acaaagcgcg c

51

<210> 16

<211> 51

25

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip

30

<400> 16

aaaagcgcgc ttgtaggat tcgtctcttg aacgaatcct acaaagcgcg c

51

35

<210> 17

<211> 47

<212> ADN

	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> diseño de horquilla de ARNip	
5	<400> 17	
	gcgcgcttg taggattcgt tcaagagacg aatcctacaa agcgcg	47
	<210> 18	
10	<211> 51	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
15	<223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip	
	<400> 18	
	tcccgatgca ctcacctgt agttcaaga gaactacaag gtgagtgcat c'	51
20	<210> 19	
	<211> 51	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
25	<220>	
	<223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip	
30	<400> 19	
	aaaagatgca ctcacctgt agttctcttg aaactacaag gtgagtgcat c	51
	<210> 20	
	<211> 47	
35	<212> ADN	
	<213> Artificial	

	<220>	
	<223> diseño de horquilla de ARNip	
	<400> 20	
5	gatgcactca cctgtagtt tcaagagaac tacaagggtga gtgcatc	47
	<210> 21	
	<211> 51	
	<212> ADN	
10	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip	
15		
	<400> 21	
	tcccgcaaaa tactcctgag ctctcaaga gagagctcag gagtattgc c	51
	<210> 22	
20	<211> 51	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
25	<223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip	
	<400> 22	
	aaaaggcaaaa tactcctgag ctctctctg aagagctcag gagtattgc c	51
30		
	<210> 23	
	<210> 23	
	<211> 47	
35	<212> ADN	
	<213> Artificial	

<220>
 <223> diseño de horquilla de ARNip

<400> 23
 5 ggcaaatact cctgagctct tcaagagaga gctcaggagt atttgcc 47

<210> 24
 <211> 51
 <212> ADN
 10 <213> Artificial

<220>
 <223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip
 15

<400> 24
 tcccgagaca tcctcttga ctattcaaga gatagtcaaa gaggatgtct c 51

<210> 25
 20 <211> 51
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 25 <223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip

<400> 25
 aaaagagaca tcctcttga ctatctcttg aatagtcaaa gaggatgtct c 51

30

<210> 26
 <211> 47
 <212> ADN
 <213> Artificial

35

<220>
 <223> diseño de horquilla de ARNip

ES 2 379 805 T3

	<400> 26	
	gagacatcct cttgactat tcaagagata gtcaaagagg atgtctc	47
5	<210> 27	
	<211> 51	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
10	<220>	
	<223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip	
	<400> 27	
15	tccccagacc agtgggtgca agattcaaga gatctgcac ccaactgtct g	51
	<210> 28	
	<211> 51	
	<212> ADN	
20	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de oligonucleótidos sintetizada artificialmente para construcción de vector de expresión de ARNip	
25	<400> 28	
	aaaacagacc agtgggtgca agatctcttg aatctgcac ccaactgtct g	51
	<210> 29	
30	<211> 47	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
35	<223> diseño de horquilla de ARNip	
	<400> 29	

cagaccagtg ggtgcaagat tcaagagatc ttgcaccac tggctcg

47

<210> 30

<211> 4349

5 <212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> CDS

10 <222> (445).. (3093)

<400> 30

tttttgaatc ggttgtggcg gccgcggcga ggaatggcgg tatttgtgag aggagtcggc 60

gttgaagag gtggaactcc tagggctttt ttgagagtga cggagtctac ctcttgttac 120

ctagactgga gtgcagtggc acgatctcgg ctcaactgcaa cctctgcctc ccgggttcaa 180

gcgattctcc tgcctcagcc tcctgagtag ctgggattac aggtgcctgc caccaagccc 240

agctaatttt tgtattttta gtagagatgg ggtttcattg tgttggccag gctgggtctcg 300

aactcctgac ctctgatcc gcccgcttg gcctcccaaa gtgctaggat tacaagtgtg 360

agccaccgcg tccggccttt caaatggat ttttgatttt cctcttccag tccttaaagc 420

agctgattta gaagaataca aatc atg gct gaa aat agt gta tta aca tcc 471

Met Ala Glu Asn Ser Val Leu Thr Ser

1

5

act act ggg agg act agc ttg gca gac tct tcc att ttt gat tct aaa 519

Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu Ala Asp Ser Ser Ile Phe Asp Ser Lys

10

15

20

25

gtt act gag att tcc aag gaa aac tta ctt att gga tct act tca tat 567

Val Thr Glu Ile Ser Lys Glu Asn Leu Leu Ile Gly Ser Thr Ser Tyr

30

35

40

gta gaa gag atg cct cag att gaa aca aga gtg ata ttg gtt caa gaa 615

Val Glu Glu Met Pro Gln Ile Glu Thr Arg Val Ile Leu Val Gln Glu

45

50

55

gct gga aaa caa gaa gaa ctt ata aaa gcc tta aag gac att aaa gtg 663

Ala Gly Lys Gln Glu Glu Leu Ile Lys Ala Leu Lys Asp Ile Lys Val

60

65

70

ggc ttt gta aag atg gag tca gtg gaa gaa ttt gaa ggt ttg gat tct 711

Gly Phe Val Lys Met Glu Ser Val Glu Glu Phe Glu Gly Leu Asp Ser

75

80

85

ccg gaa ttt gaa aat gta ttt gta gtc acg gac ttt cag gat tct gtc 759

Pro Glu Phe Glu Asn Val Phe Val Val Thr Asp Phe Gln Asp Ser Val

90

95

100

105

ttt aat gac ctc tac aag gct gat tgt aga gtt att gga cca cca gtt 807

Phe Asn Asp Leu Tyr Lys Ala Asp Cys Arg Val Ile Gly Pro Pro Val

110

115

120

gta tta aat tgt tca caa aaa gga gag cct ttg cca ttt tca tgt cgc 855

Val Leu Asn Cys Ser Gln Lys Gly Glu Pro Leu Pro Phe Ser Cys Arg

125

130

135

ccg ttg tat tgt aca agt atg atg aat cta gta cta tgc ttt act gga 903

Pro Leu Tyr Cys Thr Ser Met Met Asn Leu Val Leu Cys Phe Thr Gly

140

145

150

ttt agg aaa aaa gaa gaa cta gtc agg ttg gtg aca ttg gtc cat cac 951

Phe Arg Lys Lys Glu Glu Leu Val Arg Leu Val Thr Leu Val His His
 155 160 165

 atg ggt gga gtt att cga aaa gac ttt aat tca aaa gtt aca cat ttg 999
 Met Gly Gly Val Ile Arg Lys Asp Phe Asn Ser Lys Val Thr His Leu
 170 175 180 185

 gtg gca aat tgt aca caa gga gaa aaa ttc agg gtt gct gtg agt cta 1047
 Val Ala Asn Cys Thr Gln Gly Glu Lys Phe Arg Val Ala Val Ser Leu
 190 195 200

 ggt act cca att atg aag cca gaa tgg att tat aaa gct tgg gaa agg 1095
 Gly Thr Pro Ile Met Lys Pro Glu Trp Ile Tyr Lys Ala Trp Glu Arg
 205 210 215

 cgg aat gaa cag gat ttc tat gca gca gtt gat gac ttt aga aat gaa 1143
 Arg Asn Glu Gln Asp Phe Tyr Ala Ala Val Asp Asp Phe Arg Asn Glu
 220 225 230

 ttt aaa gtt cct cca ttt caa gat tgt att tta agt ttc ctg gga ttt 1191
 Phe Lys Val Pro Pro Phe Gln Asp Cys Ile Leu Ser Phe Leu Gly Phe
 235 240 245

 tca gat gaa gag aaa acc aat atg gaa gaa atg act gaa atg caa gga 1239
 Ser Asp Glu Glu Lys Thr Asn Met Glu Glu Met Thr Glu Met Gln Gly
 250 255 260 265

ggt aaa tat tta ccg ctt gga gat gaa aga tgc act cac ctt gta gtt 1287

Gly Lys Tyr Leu Pro Leu Gly Asp Glu Arg Cys Thr His Leu Val Val

270

275

280

gaa gag aat ata gta aaa gat ctt ccc ttt gaa cct tca aag aaa ctt 1335

Glu Glu Asn Ile Val Lys Asp Leu Pro Phe Glu Pro Ser Lys Lys Leu

285

290

295

tat gtt gtc aag caa gag tgg ttc tgg gga agc att caa atg gat gcc 1383

Tyr Val Val Lys Gln Glu Trp Phe Trp Gly Ser Ile Gln Met Asp Ala

300

305

310

cga gct gga gaa act atg tat tta tat gaa aag gca aat act cct gag 1431

Arg Ala Gly Glu Thr Met Tyr Leu Tyr Glu Lys Ala Asn Thr Pro Glu

315

320

325

ctc aag aaa tca gtg tca atg ctt tct cta aat acc cct aac agc aat 1479

Leu Lys Lys Ser Val Ser Met Leu Ser Leu Asn Thr Pro Asn Ser Asn

330

335

340

345

cgc aaa cga cgt cgt tta aaa gaa aca ctt gct cag ctt tca aga gag 1527

Arg Lys Arg Arg Arg Leu Lys Glu Thr Leu Ala Gln Leu Ser Arg Glu

350

355

360

aca gac gtg tca cca ttt cca ccc cgt aag cgc cca tca gct gag cat 1575

Thr Asp Val Ser Pro Phe Pro Pro Arg Lys Arg Pro Ser Ala Glu His	
365	370
375	
tcc ctt tcc ata ggg tca ctc cta gat atc tcc aac aca cca gag tct	1623
Ser Leu Ser Ile Gly Ser Leu Leu Asp Ile Ser Asn Thr Pro Glu Ser	
380	385
390	
agc att aac tat gga gac acc cca aag tct tgt act aag tct tct aaa	1671
Ser Ile Asn Tyr Gly Asp Thr Pro Lys Ser Cys Thr Lys Ser Ser Lys	
395	400
405	
agc tcc act cca gtt cct tca aag cag tca gca agg tgg caa gtt gca	1719
Ser Ser Thr Pro Val Pro Ser Lys Gln Ser Ala Arg Trp Gln Val Ala	
410	415
420	425
aaa gag ctt tat caa act gaa agt aat tat gtt aat ata ttg gca aca	1767
Lys Glu Leu Tyr Gln Thr Glu Ser Asn Tyr Val Asn Ile Leu Ala Thr	
430	435
440	
att att cag tta ttt caa gta cca ttg gaa gag gaa gga caa cgt ggt	1815
Ile Ile Gln Leu Phe Gln Val Pro Leu Glu Glu Glu Gly Gln Arg Gly	
445	450
455	
gga cct atc ctt gca cca gag gag att aag act att ttt ggt agc atc	1863
Gly Pro Ile Leu Ala Pro Glu Glu Ile Lys Thr Ile Phe Gly Ser Ile	
460	465
470	

cca gat atc ttt gat gta cac act aag ata aag gat gat ctt gaa gac 1911
 Pro Asp Ile Phe Asp Val His Thr Lys Ile Lys Asp Asp Leu Glu Asp
 475 480 485

ctt ata gtt aat tgg gat gag agc aaa agc att ggt gac att ttt ctg 1959
 Leu Ile Val Asn Trp Asp Glu Ser Lys Ser Ile Gly Asp Ile Phe Leu
 490 495 500 505

aaa tat tca aaa gat ttg gta aaa acc tac cct ccc ttt gta aac ttc 2007
 Lys Tyr Ser Lys Asp Leu Val Lys Thr Tyr Pro Pro Phe Val Asn Phe
 510 515 520

ttt gaa atg agc aag gaa aca att att aaa tgt gaa aaa cag aaa cca 2055
 Phe Glu Met Ser Lys Glu Thr Ile Ile Lys Cys Glu Lys Gln Lys Pro
 525 530 535

aga ttt cat gct ttt ctc aag ata aac caa gca aaa cca gaa tgt gga 2103
 Arg Phe His Ala Phe Leu Lys Ile Asn Gln Ala Lys Pro Glu Cys Gly
 540 545 550

cgg cag agc ctt gtt gaa ctt ctt atc cga cca gta cag agg tta ccc 2151
 Arg Gln Ser Leu Val Glu Leu Leu Ile Arg Pro Val Gln Arg Leu Pro
 555 560 565

agt gtt gca tta ctt tta aat gat ctt aag aag cat aca gct gat gaa 2199

Ser Val Ala Leu Leu Leu Asn Asp Leu Lys Lys His Thr Ala Asp Glu
570 575 580 585

aat cca gac aaa agc act tta gaa aaa gct att gga tca ctg aag gaa 2247

Asn Pro Asp Lys Ser Thr Leu Glu Lys Ala Ile Gly Ser Leu Lys Glu
590 595 600

gta atg acg cat att aat gag gat aag aga aaa aca gaa gct caa aag 2295

Val Met Thr His Ile Asn Glu Asp Lys Arg Lys Thr Glu Ala Gln Lys
605 610 615

caa att ttt gat gtt gtt tat gaa gta gat gga tgc cca gct aat ctt 2343

Gln Ile Phe Asp Val Val Tyr Glu Val Asp Gly Cys Pro Ala Asn Leu
620 625 630

tta tct tct cac cga agc tta gta cag cgg gtt gaa aca att tct cta 2391

Leu Ser Ser His Arg Ser Leu Val Gln Arg Val Glu Thr Ile Ser Leu
635 640 645

ggt gag cac ccc tgt gac aga gga gaa caa gta act ctc ttc ctc ttc 2439

Gly Glu His Pro Cys Asp Arg Gly Glu Gln Val Thr Leu Phe Leu Phe
650 655 660 665

aat gat tgc cta gag ata gca aga aaa cgg cac aag gtt att ggc act 2487

Asn Asp Cys Leu Glu Ile Ala Arg Lys Arg His Lys Val Ile Gly Thr
670 675 680

ttt agg agt cct cat ggc caa acc cga ccc cca gct tct ctt aag cat 2535

Phe Arg Ser Pro His Gly Gln Thr Arg Pro Pro Ala Ser Leu Lys His

685

690

695

att cac cta atg cct ctt tct cag att aag aag gta ttg gac ata aga 2583

Ile His Leu Met Pro Leu Ser Gln Ile Lys Lys Val Leu Asp Ile Arg

700

705

710

gag aca gaa gat tgc cat aat gct ttt gcc ttg ctt gtg agg cca cca 2631

Glu Thr Glu Asp Cys His Asn Ala Phe Ala Leu Leu Val Arg Pro Pro

715

720

725

aca gag cag gca aat gtg cta ctc agt ttc cag atg aca tca gat gaa 2679

Thr Glu Gln Ala Asn Val Leu Leu Ser Phe Gln Met Thr Ser Asp Glu

730

735

740

745

ctt cca aaa gaa aac tgg cta aag atg ctg tgt cga cat gta gct aac 2727

Leu Pro Lys Glu Asn Trp Leu Lys Met Leu Cys Arg His Val Ala Asn

750

755

760

acc att tgt aaa gca gat gct gag aat ctt att tat act gct gat cca 2775

Thr Ile Cys Lys Ala Asp Ala Glu Asn Leu Ile Tyr Thr Ala Asp Pro

765

770

775

gaa tcc ttt gaa gta aat aca aaa gat atg gac agt aca ttg agt aga 2823

Glu Ser Phe Glu Val Asn Thr Lys Asp Met Asp Ser Thr Leu Ser Arg
 780 785 790

 gca tca aga gca ata aaa aag act tca aaa aag gtt aca aga gca ttc 2871
 Ala Ser Arg Ala Ile Lys Lys Thr Ser Lys Lys Val Thr Arg Ala Phe
 795 800 805

 tct ttc tcc aaa act cca aaa aga gct ctt cga agg gct ctt atg aca 2919
 Ser Phe Ser Lys Thr Pro Lys Arg Ala Leu Arg Arg Ala Leu Met Thr
 810 815 820 825

 tcc cac ggc tca gtg gag gga aga agt cct tcc agc aat gat aag cat 2967
 Ser His Gly Ser Val Glu Gly Arg Ser Pro Ser Ser Asn Asp Lys His
 830 835 840

 gta atg agt cgt ctt tct agc aca tca tca tta gca ggt atc cct tct 3015
 Val Met Ser Arg Leu Ser Ser Thr Ser Ser Leu Ala Gly Ile Pro Ser
 845 850 855

 ccc tcc ctt gtc agc ctt cct tcc ttc ttt gaa agg aga agt cat acg 3063
 Pro Ser Leu Val Ser Leu Pro Ser Phe Phe Glu Arg Arg Ser His Thr
 860 865 870

 tta agt aga tct aca act cat ttg ata tga agcgttacca aaatcttaaa 3113
 Leu Ser Arg Ser Thr Thr His Leu Ile
 875 880

ttatagaaat gtagagacac ctcatactca aataagaaac tgacttaaata ggtacttgta 3173
 attagcacgt tggatgaaagc tggaaggaag ataaataaca ctaaactatg ctatttgatt 3233
 tttcttcttg aaagagtaag gtttacctgt tacattttca agttaattca tgtaaaaaat 3293
 gatagtgatt ttgatgtaat ttatctcttg tttgaatctg tcattcaaag gccataaatt 3353
 taagtgcta tcagctgata ttagtagctt tgcaaccctg atagagtaaa taaattttat 3413
 gggtaggtgc caaatactgc tgtgaatcta tttgtatagt atccatgaat gaatttatgg 3473
 aaatagatat ttgtgcagct caatttatgc agagattaaa tgacatcata atactggatg 3533
 aaaacttgca tagaattctg attaaatagi gggctctgttt cacatgtgca gtttgaagta 3593
 tttaaataac cactcctttc acagtttatt ttctttctca gcgttttcaa gatctagcat 3653
 gtggatttta aaagatttgc cctcattaac aagaataaca tttaaaggag attgtttcaa 3713
 aatatttttg caaattgaga taaggacaga aagattgaga aacattgtat attttgcaaa 3773
 aacaagatgt ttgtagctgt ttcagagaga gtacggata tttatggtaa ttttatccac 3833
 tagcaaatct tgatttagtt tgatagtcgt cgtcggaatt ttattttgaa ggataagacc 3893

atgggaaaat tgtggtaaag actgtttgta cccttcatga aataattctg aagttgccat 3953
 cagttttact aatcttctgt gaaatgcata gatatgcgca tgttcaactt tttattgtgg 4013
 tcttataatt aaatgtaaaa ttgaaaattc atttgcgttt tcaaagtggt atatctttca 4073
 caatagcctt tttatagtca gtaattcaga ataatcaagt tcatatggat aaatgcattt 4133
 ttatttccta tttcttttagg gagtgctaca aatgtttgtc acttaaattt caagtttctg 4193
 ttttaatagt taactgacta tagattgttt tctatgccat gtatgtgcca cttctgagag 4253
 tagtaaatga ctctttgcta cattttaaaa gcaattgtat tagtaagaac tttgtaaata 4313
 aatacctaaa acccaagtgt aaaaaaaaaa aaaaaa 4349

<210> 31

<211> 882

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 31

Met Ala Glu Asn Ser Val Leu Thr Ser Thr Thr Gly Arg Thr Ser Leu

Asp Cys Arg Val Ile Gly Pro Pro Val Val Leu Asn Cys Ser Gln Lys
 115 120 125

Gly Glu Pro Leu Pro Phe Ser Cys Arg Pro Leu Tyr Cys Thr Ser Met
 130 135 140

Met Asn Leu Val Leu Cys Phe Thr Gly Phe Arg Lys Lys Glu Glu Leu
 145 150 155 160

Val Arg Leu Val Thr Leu Val His His Met Gly Gly Val Ile Arg Lys
 165 170 175

Asp Phe Asn Ser Lys Val Thr His Leu Val Ala Asn Cys Thr Gln Gly
 180 185 190

Glu Lys Phe Arg Val Ala Val Ser Leu Gly Thr Pro Ile Met Lys Pro
 195 200 205

Glu Trp Ile Tyr Lys Ala Trp Glu Arg Arg Asn Glu Gln Asp Phe Tyr

210		215		220
Ala Ala Val Asp Asp Phe Arg Asn Glu Phe Lys Val Pro Pro Phe Gln				
225		230		240
Asp Cys Ile Leu Ser Phe Leu Gly Phe Ser Asp Glu Glu Lys Thr Asn				
	245		250	255
Met Glu Glu Met Thr Glu Met Gln Gly Gly Lys Tyr Leu Pro Leu Gly				
	260		265	270
Asp Glu Arg Cys Thr His Leu Val Val Glu Glu Asn Ile Val Lys Asp				
	275		280	285
Leu Pro Phe Glu Pro Ser Lys Lys Leu Tyr Val Val Lys Gln Glu Trp				
	290		295	300
Phe Trp Gly Ser Ile Gln Met Asp Ala Arg Ala Gly Glu Thr Met Tyr				
305		310		320

Leu Tyr Glu Lys Ala Asn Thr Pro Glu Leu Lys Lys Ser Val Ser Met
 325 330 335

Leu Ser Leu Asn Thr Pro Asn Ser Asn Arg Lys Arg Arg Arg Leu Lys
 340 345 350

Glu Thr Leu Ala Gln Leu Ser Arg Glu Thr Asp Val Ser Pro Phe Pro
 355 360 365

Pro Arg Lys Arg Pro Ser Ala Glu His Ser Leu Ser Ile Gly Ser Leu
 370 375 380

Leu Asp Ile Ser Asn Thr Pro Glu Ser Ser Ile Asn Tyr Gly Asp Thr
 385 390 395 400

Pro Lys Ser Cys Thr Lys Ser Ser Lys Ser Ser Thr Pro Val Pro Ser
 405 410 415

Lys Gln Ser Ala Arg Trp Gln Val Ala Lys Glu Leu Tyr Gln Thr Glu

Ile Ile Lys Cys Glu Lys Gln Lys Pro Arg Phe His Ala Phe Leu Lys
 530 535 540

Ile Asn Gln Ala Lys Pro Glu Cys Gly Arg Gln Ser Leu Val Glu Leu
 545 550 555 560

Leu Ile Arg Pro Val Gln Arg Leu Pro Ser Val Ala Leu Leu Leu Asn
 565 570 575

Asp Leu Lys Lys His Thr Ala Asp Glu Asn Pro Asp Lys Ser Thr Leu
 580 585 590

Glu Lys Ala Ile Gly Ser Leu Lys Glu Val Met Thr His Ile Asn Glu
 595 600 605

Asp Lys Arg Lys Thr Glu Ala Gln Lys Gln Ile Phe Asp Val Val Tyr
 610 615 620

Glu Val Asp Gly Cys Pro Ala Asn Leu Leu Ser Ser His Arg Ser Leu

Leu Ser Phe Gln Met Thr Ser Asp Glu Leu Pro Lys Glu Asn Trp Leu
 740 745 750

Lys Met Leu Cys Arg His Val Ala Asn Thr Ile Cys Lys Ala Asp Ala
 755 760 765

Glu Asn Leu Ile Tyr Thr Ala Asp Pro Glu Ser Phe Glu Val Asn Thr
 770 775 780

Lys Asp Met Asp Ser Thr Leu Ser Arg Ala Ser Arg Ala Ile Lys Lys
 785 790 795 800

Thr Ser Lys Lys Val Thr Arg Ala Phe Ser Phe Ser Lys Thr Pro Lys
 805 810 815

Arg Ala Leu Arg Arg Ala Leu Met Thr Ser His Gly Ser Val Glu Gly
 820 825 830

Arg Ser Pro Ser Ser Asn Asp Lys His Val Met Ser Arg Leu Ser Ser

835

840

845

Thr Ser Ser Leu Ala Gly Ile Pro Ser Pro Ser Leu Val Ser Leu Pro

850

855

860

Ser Phe Phe Glu Arg Arg Ser His Thr Leu Ser Arg Ser Thr Thr His

865

870

875

880

Leu Ile

<210> 32

<211> 1871

<212> ADN

5 <213> *Homo sapiens*

<220>

<221> CDS

<222> (31).. (1731)

10

<400> 32

gcgagcgcca ggcgtccggc cgccgtggct atg ttc gtg tcc gat ttc cgc aaa	54
Met Phe Val Ser Asp Phe Arg Lys	
1 5	
gag ttc tac gag gtg gtc cag agc cag agg gtc ctt ctc ttc gtg gcc	102
Glu Phe Tyr Glu Val Val Gln Ser Gln Arg Val Leu Leu Phe Val Ala	
10 15 20	
tcg gac gtg gat gct ctg tgt gcg tgc aag atc ctt cag gcc ttg ttc	150
Ser Asp Val Asp Ala Leu Cys Ala Cys Lys Ile Leu Gln Ala Leu Phe	
25 30 35 40	
cag tgt gac cac gtg caa tat acg ctg gtt cca gtt tct ggg tgg caa	198
Gln Cys Asp His Val Gln Tyr Thr Leu Val Pro Val Ser Gly Trp Gln	
45 50 55	
gaa ctt gaa act gca ttt ctt gag cat aaa gaa cag ttt cat tat ttt	246
Glu Leu Glu Thr Ala Phe Leu Glu His Lys Glu Gln Phe His Tyr Phe	
60 65 70	
att ctc ata aac tgt gga gct aat gta gac cta ttg gat att ctt caa	294
Ile Leu Ile Asn Cys Gly Ala Asn Val Asp Leu Leu Asp Ile Leu Gln	
75 80 85	
cct gat gaa gac act ata ttc ttt gtg tgt gac acc cat agg cca gtc	342
Pro Asp Glu Asp Thr Ile Phe Phe Val Cys Asp Thr His Arg Pro Val	

ES 2 379 805 T3

90	95	100	
aat gtc gtc aat gta tac aac gat acc cag gtc aaa tta ctc att aaa			390
Asn Val Val Asn Val Tyr Asn Asp Thr Gln Val Lys Leu Leu Ile Lys			
105	110	115	120
caa gat gat gac ctt gaa gtt ccc gcc tat gaa gac atc ttc agg gat			438
Gln Asp Asp Asp Leu Glu Val Pro Ala Tyr Glu Asp Ile Phe Arg Asp			
	125	130	135
gaa gag gag gat gaa gag cat tca gga aat gac agt gat ggg tca gag			486
Glu Glu Glu Asp Glu Glu His Ser Gly Asn Asp Ser Asp Gly Ser Glu			
	140	145	150
cct tct gag aag cgc aca cgg tta gaa gag gag ata gtg gag caa acc			534
Pro Ser Glu Lys Arg Thr Arg Leu Glu Glu Glu Ile Val Glu Gln Thr			
	155	160	165
atg cgg agg agg cag cgg cga gag tgg gag gcc cgg aga aga gac atc			582
Met Arg Arg Arg Gln Arg Arg Glu Trp Glu Ala Arg Arg Arg Asp Ile			
170	175	180	
ctc ttt gac tac gag cag tat gaa tat cat ggg aca tcg tca gcc atg			630
Leu Phe Asp Tyr Glu Gln Tyr Glu Tyr His Gly Thr Ser Ser Ala Met			
185	190	195	200

gtg atg ttt gag ctg gct tgg atg ctg tcc aag gac ctg aat gac atg 678
 Val Met Phe Glu Leu Ala Trp Met Leu Ser Lys Asp Leu Asn Asp Met
 205 210 215

ctg tgg tgg gcc atc gtt gga cta aca gac cag tgg gtg caa gac aag 726
 Leu Trp Trp Ala Ile Val Gly Leu Thr Asp Gln Trp Val Gln Asp Lys
 220 225 230

atc act caa atg aaa tac gtg act gat gtt ggt gtc ctg cag cgc cac 774
 Ile Thr Gln Met Lys Tyr Val Thr Asp Val Gly Val Leu Gln Arg His
 235 240 245

gtt tcc cgc cac aac cac cgg aac gag gat gag gag aac aca ctc tcc 822
 Val Ser Arg His Asn His Arg Asn Glu Asp Glu Glu Asn Thr Leu Ser
 250 255 260

gtg gac tgc aca cgg atc tcc ttt gag tat gac ctc cgc ctg gtg ctc 870
 Val Asp Cys Thr Arg Ile Ser Phe Glu Tyr Asp Leu Arg Leu Val Leu
 265 270 275 280

tac cag cac tgg tcc ctc cat gac agc ctg tgc aac acc agc tat acc 918
 Tyr Gln His Trp Ser Leu His Asp Ser Leu Cys Asn Thr Ser Tyr Thr
 285 290 295

gca gcc agg ttc aag ctg tgg tct gtg cat gga cag aag cgg ctc cag 966
 Ala Ala Arg Phe Lys Leu Trp Ser Val His Gly Gln Lys Arg Leu Gln

ES 2 379 805 T3

300	305	310	
gag ttc ctt gca gac atg ggt ctt ccc ctg aag cag gtg aag cag aag			1014
Glu Phe Leu Ala Asp Met Gly Leu Pro Leu Lys Gln Val Lys Gln Lys			
315	320	325	
ttc cag gcc atg gac atc tcc ttg aag gag aat ttg cgg gaa atg att			1062
Phe Gln Ala Met Asp Ile Ser Leu Lys Glu Asn Leu Arg Glu Met Ile			
330	335	340	
gaa gaa tct gca aat aaa ttt ggg atg aag gac atg cgc gtg cag act			1110
Glu Glu Ser Ala Asn Lys Phe Gly Met Lys Asp Met Arg Val Gln Thr			
345	350	355	360
ttc agc att cat ttt ggg ttc aag cac aag ttt ctg gcc agc gac gtg			1158
Phe Ser Ile His Phe Gly Phe Lys His Lys Phe Leu Ala Ser Asp Val			
365	370	375	
gtc ttt gcc acc atg tct ttg atg gag agc ccc gag aag gat ggc tca			1206
Val Phe Ala Thr Met Ser Leu Met Glu Ser Pro Glu Lys Asp Gly Ser			
380	385	390	
ggg aca gat cac ttc atc cag gct ctg gac agc ctc tcc agg agt aac			1254
Gly Thr Asp His Phe Ile Gln Ala Leu Asp Ser Leu Ser Arg Ser Asn			
395	400	405	

ctg gac aag ctg tac cat ggc ctg gaa ctc gcc aag aag cag ctg cga 1302
 Leu Asp Lys Leu Tyr His Gly Leu Glu Leu Ala Lys Lys Gln Leu Arg
 410 415 420

gcc acc cag cag acc att gcc agc tgc ctt tgc acc aac ctc gtc atc 1350
 Ala Thr Gln Gln Thr Ile Ala Ser Cys Leu Cys Thr Asn Leu Val Ile
 425 430 435 440

tcc cag ggg cct ttc ctg tac tgc tct ctc atg gag ggc act cca gat 1398
 Ser Gln Gly Pro Phe Leu Tyr Cys Ser Leu Met Glu Gly Thr Pro Asp
 445 450 455

gtc atg ctg ttc tct agg ccg gca tcc cta agc ctg ctc agc aaa cac 1446
 Val Met Leu Phe Ser Arg Pro Ala Ser Leu Ser Leu Leu Ser Lys His
 460 465 470

ctg ctc aag tcc ttt gtg tgt tcg aca aag aac cgg cgc tgc aaa ctg 1494
 Leu Leu Lys Ser Phe Val Cys Ser Thr Lys Asn Arg Arg Cys Lys Leu
 475 480 485

ctg ecc ctg gtg atg gct gcc ccc ctg agc atg gag cat ggc aca gtg 1542
 Leu Pro Leu Val Met Ala Ala Pro Leu Ser Met Glu His Gly Thr Val
 490 495 500

acc gtg gtg ggc atc ccc cca gag acc gac agc tcg gac agg aag aac 1590
 Thr Val Val Gly Ile Pro Pro Glu Thr Asp Ser Ser Asp Arg Lys Asn

ES 2 379 805 T3

505	510	515	520	
ttt ttt ggg agg gcg ttt gag aag gca gcg gaa agc acc agc tcc cgg				1638
Phe Phe Gly Arg Ala Phe Glu Lys Ala Ala Glu Ser Thr Ser Ser Arg				
	525	530	535	
atg ctg cac aac cat ttt gac ctc tca gta att gag ctg aaa gct gag				1686
Met Leu His Asn His Phe Asp Leu Ser Val Ile Glu Leu Lys Ala Glu				
	540	545	550	
gat cgg agc aag ttt ctg gac gca ctt att tcc ctc ctg tcc tag				1731
Asp Arg Ser Lys Phe Leu Asp Ala Leu Ile Ser Leu Leu Ser				
	555	560	565	
gaatttgatt cttocagaat gaccttctta tttatgtaac tggctttcat ttagattgta				1791
agttatggac atgatttgag atgtagaagc cattttttat taaataaaat gcttatttta				1851
gaaaaaaaaa aaaaaaaaaa				1871

<210> 33

<211> 566

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 33

Met Phe Val Ser Asp Phe Arg Lys Glu Phe Tyr Glu Val Val Gln Ser
1 5 10 15

Gln Arg Val Leu Leu Phe Val Ala Ser Asp Val Asp Ala Leu Cys Ala
 20 25 30

Cys Lys Ile Leu Gln Ala Leu Phe Gln Cys Asp His Val Gln Tyr Thr
 35 40 45

Leu Val Pro Val Ser Gly Trp Gln Glu Leu Glu Thr Ala Phe Leu Glu
 50 55 60

His Lys Glu Gln Phe His Tyr Phe Ile Leu Ile Asn Cys Gly Ala Asn
65 70 75 80

Val Asp Leu Leu Asp Ile Leu Gln Pro Asp Glu Asp Thr Ile Phe Phe
 85 90 95

Val Cys Asp Thr His Arg Pro Val Asn Val Val Asn Val Tyr Asn Asp
 100 105 110

Thr Gln Val Lys Leu Leu Ile Lys Gln Asp Asp Asp Leu Glu Val Pro
 115 120 125

Ala Tyr Glu Asp Ile Phe Arg Asp Glu Glu Glu Asp Glu Glu His Ser
 130 135 140

Gly Asn Asp Ser Asp Gly Ser Glu Pro Ser Glu Lys Arg Thr Arg Leu
 145 150 155 160

Glu Glu Glu Ile Val Glu Gln Thr Met Arg Arg Arg Gln Arg Arg Glu
 165 170 175

Trp Glu Ala Arg Arg Arg Asp Ile Leu Phe Asp Tyr Glu Gln Tyr Glu
 180 185 190

Tyr His Gly Thr Ser Ser Ala Met Val Met Phe Glu Leu Ala Trp Met
 195 200 205

Leu Ser Lys Asp Leu Asn Asp Met Leu Trp Trp Ala Ile Val Gly Leu
 210 215 220

Thr Asp Gln Trp Val Gln Asp Lys Ile Thr Gln Met Lys Tyr Val Thr
 225 230 235 240

Asp Val Gly Val Leu Gln Arg His Val Ser Arg His Asn His Arg Asn
 245 250 255

Glu Asp Glu Glu Asn Thr Leu Ser Val Asp Cys Thr Arg Ile Ser Phe
 260 265 270

Glu Tyr Asp Leu Arg Leu Val Leu Tyr Gln His Trp Ser Leu His Asp
 275 280 285

Ser Leu Cys Asn Thr Ser Tyr Thr Ala Ala Arg Phe Lys Leu Trp Ser
 290 295 300

Glu Leu Ala Lys Lys Gln Leu Arg Ala Thr Gln Gln Thr Ile Ala Ser
 420 425 430

Cys Leu Cys Thr Asn Leu Val Ile Ser Gln Gly Pro Phe Leu Tyr Cys
 435 440 445

Ser Leu Met Glu Gly Thr Pro Asp Val Met Leu Phe Ser Arg Pro Ala
 450 455 460

Ser Leu Ser Leu Leu Ser Lys His Leu Leu Lys Ser Phe Val Cys Ser
 465 470 475 480

Thr Lys Asn Arg Arg Cys Lys Leu Leu Pro Leu Val Met Ala Ala Pro
 485 490 495

Leu Ser Met Glu His Gly Thr Val Thr Val Val Gly Ile Pro Pro Glu
 500 505 510

Thr Asp Ser Ser Asp Arg Lys Asn Phe Phe Gly Arg Ala Phe Glu Lys
515 520 525

Ala Ala Glu Ser Thr Ser Ser Arg Met Leu His Asn His Phe Asp Leu
530 535 540

Ser Val Ile Glu Leu Lys Ala Glu Asp Arg Ser Lys Phe Leu Asp Ala
545 550 555 560

Leu Ile Ser Leu Leu Ser
565

<210> 34

<211> 23

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

10 <400> 34

cacaaccatt ttgacctctc agt

23

<210> 35

<211> 24

15 <212> ADN

	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
5		
	<400> 35	
	cctcaggtct tcactcttct ttct	24
	<210> 36	
10	<211> 24	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
15	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 36	
	tgccatgtac aatgtagtaa cagc	24
20	<210> 37	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
25	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 37	
	tagagaacct catgccctt a	21
30	<210> 38	
	<211> 25	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
35	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	

	<400> 38	
	tcagtaagaa agactggcta atggt	25
5	<210> 39	
	<211> 22	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
10	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 39	
	agccattga tggagaagaa tg	22
15	<210> 40	
	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
20	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 40	
25	tggatgaagg ggtcccgaa t	21
	<210> 41	
	<211> 22	
	<212> ADN	
30	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
35	<400> 41	
	ccagtctgg ctgaaatgtt tt	22

	<210> 42	
	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
5		
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 42	
10	ctctctgaaa tgcaactggt cgt	23
	<210> 43	
	<211> 25	
	<212> ADN	
15	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
20	<400> 43	
	gaggaagaat tgctttctc ttacc	25
	<210> 44	
	<211> 22	
25	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
30	<400> 44	
	ttttaaagtg catctgtgga gg	22
	<210> 45	
35	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	

	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
5	<400> 45 gtggtaacgt tcagcaaaag c	21
	<210> 46	
	<211> 23	
10	<212> ADN <213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
15	<400> 46 atggctcctt acctgagaga aac	23
	<210> 47	
20	<211> 23 <212> ADN <213> Artificial	
	<220>	
25	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 47 gacagcaaag tcttgactcc ttc	23
30	<210> 48 <211> 23 <212> ADN <213> Artificial	
35	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	

	<400> 48	
	aaagtggtg ggagtaagg atc	23
	<210> 49	
5	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
10	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 49	
	agacaaagag agaaagagac gca	23
	<210> 50	
15	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
20	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 50	
	agaggatcct attgtcttg agg	23
25	<210> 51	
	<211> 22	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
30	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 51	
35	cagaatcgca ggatgaaaga ta	22
	<210> 52	

<211> 23

<212> ADN

<213> Artificial

5 <220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 52

gtgactcatg ccttgatag aca

23

10

<210> 53

<211> 23

<212> ADN

<213> Artificial

15

<220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 53

20 tatctgtgat tggctcac ctg

23

<210> 54

<211> 23

<212> ADN

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

30 <400> 54

gccatcctt acttcctca tac

23

<210> 55

<211> 23

35 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 55

5 cttgaagaag aactccaga cga 23

<210> 56

<211> 23

<212> ADN

10 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

15 <400> 56

aatgttctaa agatgagagg ggg 23

<210> 57

<211> 23

20 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

25

<400> 57

gccttaaac tggagagagg aat 23

<210> 58

30 <211> 22

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

35 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 58

	tagcagagcg cacaaacatt ta	22
	<210> 59	
	<211> 22	
5	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
10		
	<400> 59	
	gtgcacaaaa aactgacat tt	22
	<210> 60	
15	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
20	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 60	
	ggcttgcaa cttgtccat t	21
25	<210> 61	
	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
30	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 61	
	tctgaagcct gattactgtg tga	23
35		
	<210> 62	
	<211> 23	

<212> ADN
 <213> Artificial

 <220>
 5 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

 <400> 62
 atgtgcactg gactgaaaca tct 23

 10 <210> 63
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Artificial

 15 <220>
 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

 <400> 63
 tgtgtgagca ttgacaaga ct 22
 20
 <210> 64
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Artificial
 25
 <220>
 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

 <400> 64
 30 aatttaaca gcaagtgtg gg 22

 <210> 65
 <211> 23
 <212> ADN
 35 <213> Artificial

 <220>

	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 65	
	actgcaaatg ggagtgctta gta	23
5		
	<210> 66	
	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
10		
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 66	
15	ggagagggta tgagtccttt gat	23
	<210> 67	
	<211> 22	
	<212> ADN	
20	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
25	<400> 67	
	cagctgtatc ccctaaacaa cc	22
	<210> 68	
	<211> 23	
30	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
35		
	<400> 68	
	ggtgaggtat cctgtctca gag	23

<210> 69
<211> 23
<212> ADN
5 <213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

10 <400> 69
tccagaattg ctgttacgt agg 23

<210> 70
<211> 22
15 <212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

20 <400> 70
ggttcacaga gctgtttgac tt 22

<210> 71
25 <211> 23
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
30 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 71
gtattaccga tgcctctgaa aag 23

35 <210> 72
<211> 23
<212> ADN

<213> Artificial

<220>
<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

5

<400> 72
tgaggtgat ggcaagttga atc 23

<210> 73

10 <211> 24
<212> ADN
<213> Artificial

<220>

15 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 73
tagagtctag aacgcaagga tctc 24

20 <210> 74
<211> 24
<212> ADN
<213> Artificial

25 <220>
<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 74
caaaaactat cacagcctaa aggg 24

30 <210> 75
<211> 23
<212> ADN
<213> Artificial

35 <220>
<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

	<400> 75	
	attagaattc tggggctgta agg	23
5	<210> 76	
	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
10	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 76	
	ctaccctggg gtgttttcta aat	23
15	<210> 77	
	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
20	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 77	
25	ggtgcataaa cactaatgca gtc	23
	<210> 78	
	<211> 23	
	<212> ADN	
30	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
35	<400> 78	
	gttaaaagga gcacaggac ata	23

	<210> 79	
	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
5		
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 79	
10	cacccataac caagagaact cag	23
	<210> 80	
	<211> 23	
	<212> ADN	
15	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
20	<400> 80	
	gggatgtctg ttcctttat tcc	23
	<210> 81	
	<211> 23	
25	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
30	<400> 81	
	gtggccactg aatgtaaac aac	23
	<210> 82	
35	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	

	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
5	<400> 82	
	agtaactctg tcttcacccg cag	23
	<210> 83	
	<211> 22	
10	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
15	<400> 83	
	gttttgccc aattaaccag ta	22
	<210> 84	
20	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
25	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 84	
	gcacttgaa ggggtattgt att	23
30	<210> 85	
	<211> 22	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
35	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	

	<400> 85	
	attcattctg gaccaaagat cc	22
	<210> 86	
5	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
10	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 86	
	tctactgtgg acaagaagcc tgt	23
	<210> 87	
15	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
20	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 87	
	agcagtcagg gacagacata cat	23
25	<210> 88	
	<211> 23	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
30	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 88	
35	aaggtaaact ctaggcatcc gtc	23
	<210> 89	

<211> 23

<212> ADN

<213> Artificial

5 <220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 89

aaagaggaac acactgggtg taa

23

10

<210> 90

<211> 23

<212> ADN

<213> Artificial

15

<220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 90

20 aggagcctag agaagcaatc atc

23

<210> 91

<211> 22

<212> ADN

25 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

30 <400> 91

tcttcagcat gatgtttgt gt

22

<210> 92

<211> 24

35 <212> ADN

<213> Artificial

<220>
 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 92
 5 tgagagattc atgaggaagt cttg 24

<210> 93
 <211> 23
 <212> ADN
 10 <213> Artificial

<220>
 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

15 <400> 93
 agtgtactg agtggggaag aat 23

<210> 94
 <211> 23
 20 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

25 <400> 94
 ctggcataac agtggcttaa gtt 23

<210> 95
 30 <211> 23
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 35 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 95

	gctccttctc tcatggatta cct	23
	<210> 96	
	<211> 23	
5	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
10	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 96	
	caagtgggta aaatgctgtc ttc	23
	<210> 97	
15	<211> 21	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
20	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 97	
	acaagtgcga agtctggtaa g	21
25	<210> 98	
	<211> 22	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
30	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 98	
	acagtggtat ttgtggcgta tc	22
35	<210> 99	
	<211> 23	

ES 2 379 805 T3

<212> ADN
<213> Artificial

<220>

5 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 99
ccaaaagcta agcagtggtg aac 23

10 <210> 100
<211> 22
<212> ADN
<213> Artificial

15 <220>
<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 100
ctgtgcaaca gttcccaaaa tg 22

20 <210> 101
<211> 23
<212> ADN
<213> Artificial

25 <220>
<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

<400> 101

30 ttgacaagct gtagaactgg att 23

<210> 102
<211> 21
<212> ADN

35 <213> Artificial

<220>

ES 2 379 805 T3

	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 102	
	aaagttggaa tgccgatgac a	21
5		
	<210> 103	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Artificial	
10		
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
	<400> 103	
15	cagcctcaat ggatactggc	20
	<210> 104	
	<211> 24	
	<212> ADN	
20	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
25	<400> 104	
	gctagaaagc aaactcatgc tctg	24
	<210> 105	
	<211> 21	
30	<212> ADN	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR	
35		
	<400> 105	
	gagtgatag cattgcttcc g	21

- <210> 106
<211> 21
<212> ADN
5 <213> Artificial
- <220>
<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR
- 10 <400> 106
caagtcagtg tacaggaag c 21
- <210> 107
<211> 21
15 <212> ADN
<213> Artificial
- <220>
<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR
- 20 <400> 107
tatggtctcc ggcctacca c 21
- <210> 108
25 <211> 23
<212> ADN
<213> Artificial
- <220>
30 <223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR
- <400> 108
atacagacag gaaaagcaga gca 23
- 35 <210> 109
<211> 1815
<212> ADN

ES 2 379 805 T3

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> CDS

5 <222> (155)..(955)

<400> 109

gcagagctct gtgctccctg cagtcaggac tctgggaccg cagggggctc cggaccctg 60

actctgcagc cgaaccggca cggtttcgtg gggaccagg cttgcaaagt gacggtcatt 120

ttctttttct ttctccctct tgagtccttc tgag atg atg gct ctg ggc gca gcg 175

Met Met Ala Leu Gly Ala Ala

1

5

gga gct acc cgg gtc ttt gtc gcg atg gta gcg gcg gct ctc ggc ggc 223

Gly	Ala	Thr	Arg	Val	Phe	Val	Ala	Met	Val	Ala	Ala	Ala	Leu	Gly	Gly	
	10						15						20			
cac	cct	ctg	ctg	gga	gtg	agc	gcc	acc	ttg	aac	tcg	gtt	ctc	aat	tcc	271
His	Pro	Leu	Leu	Gly	Val	Ser	Ala	Thr	Leu	Asn	Ser	Val	Leu	Asn	Ser	
	25						30					35				
aac	gct	atc	aag	aac	ctg	ccc	cca	ccg	ctg	ggc	ggc	gct	gcg	ggg	cac	319
Asn	Ala	Ile	Lys	Asn	Leu	Pro	Pro	Pro	Leu	Gly	Gly	Ala	Ala	Gly	His	
	40				45					50					55	
cca	ggc	tct	gca	gtc	agc	gcc	gcg	ccg	gga	atc	ctg	tac	ccg	ggc	ggg	367
Pro	Gly	Ser	Ala	Val	Ser	Ala	Ala	Pro	Gly	Ile	Leu	Tyr	Pro	Gly	Gly	
				60					65					70		
aat	aag	tac	cag	acc	att	gac	aac	tac	cag	ccg	tac	ccg	tgc	gca	gag	415
Asn	Lys	Tyr	Gln	Thr	Ile	Asp	Asn	Tyr	Gln	Pro	Tyr	Pro	Cys	Ala	Glu	
				75					80					85		
gac	gag	gag	tgc	ggc	act	gat	gag	tac	tgc	gct	agt	ccc	acc	cgc	gga	463
Asp	Glu	Glu	Cys	Gly	Thr	Asp	Glu	Tyr	Cys	Ala	Ser	Pro	Thr	Arg	Gly	
				90					95					100		
ggg	gac	gca	ggc	gtg	caa	atc	tgt	ctc	gcc	tgc	agg	aag	cgc	cga	aaa	511
Gly	Asp	Ala	Gly	Val	Gln	Ile	Cys	Leu	Ala	Cys	Arg	Lys	Arg	Arg	Lys	
				105					110						115	

ES 2 379 805 T3

cgc tgc atg cgt cac gct atg tgc tgc ccc ggg aat tac tgc aaa aat 559
 Arg Cys Met Arg His Ala Met Cys Cys Pro Gly Asn Tyr Cys Lys Asn
 120 125 130 135

gga ata tgt gtg tct tct gat caa aat cat ttc cga gga gaa att gag 607
 Gly Ile Cys Val Ser Ser Asp Gln Asn His Phe Arg Gly Glu Ile Glu
 140 145 150

gaa acc atc act gaa agc ttt ggt aat gat cat agc acc ttg gat ggg 655
 Glu Thr Ile Thr Glu Ser Phe Gly Asn Asp His Ser Thr Leu Asp Gly
 155 160 165

tat tcc aga aga acc acc ttg tct tca aaa atg tat cac acc aaa gga 703
 Tyr Ser Arg Arg Thr Thr Leu Ser Ser Lys Met Tyr His Thr Lys Gly
 170 175 180

caa gaa ggt tct gtt tgt ctc egg tca tca gac tgt gcc tca gga ttg 751
 Gln Glu Gly Ser Val Cys Leu Arg Ser Ser Asp Cys Ala Ser Gly Leu
 185 190 195

tgt tgt gct aga cac ttc tgg tcc aag atc tgt aaa cct gtc ctg aaa 799
 Cys Cys Ala Arg His Phe Trp Ser Lys Ile Cys Lys Pro Val Leu Lys
 200 205 210 215

gaa ggt caa gtg tgt acc aag cat agg aga aaa ggc tct cat gga cta 847

1	5	10	15
Val Ala Ala Ala Leu Gly Gly His Pro Leu Leu Gly Val Ser Ala Thr			
	20	25	30
Leu Asn Ser Val Leu Asn Ser Asn Ala Ile Lys Asn Leu Pro Pro Pro			
	35	40	45
Leu Gly Gly Ala Ala Gly His Pro Gly Ser Ala Val Ser Ala Ala Pro			
	50	55	60
Gly Ile Leu Tyr Pro Gly Gly Asn Lys Tyr Gln Thr Ile Asp Asn Tyr			
	65	70	75
Gln Pro Tyr Pro Cys Ala Glu Asp Glu Glu Cys Gly Thr Asp Glu Tyr			
	85	90	95
Cys Ala Ser Pro Thr Arg Gly Gly Asp Ala Gly Val Gln Ile Cys Leu			
	100	105	110

Ala Cys Arg Lys Arg Arg Lys Arg Cys Met Arg His Ala Met Cys Cys
115 120 125

Pro Gly Asn Tyr Cys Lys Asn Gly Ile Cys Val Ser Ser Asp Gln Asn
130 135 140

His Phe Arg Gly Glu Ile Glu Glu Thr Ile Thr Glu Ser Phe Gly Asn
145 150 155 160

Asp His Ser Thr Leu Asp Gly Tyr Ser Arg Arg Thr Thr Leu Ser Ser
165 170 175

Lys Met Tyr His Thr Lys Gly Gln Glu Gly Ser Val Cys Leu Arg Ser
180 185 190

Ser Asp Cys Ala Ser Gly Leu Cys Cys Ala Arg His Phe Trp Ser Lys
195 200 205

Ile Cys Lys Pro Val Leu Lys Glu Gly Gln Val Cys Thr Lys His Arg

210

215

220

Arg Lys Gly Ser His Gly Leu Glu Ile Phe Gln Arg Cys Tyr Cys Gly

225

230

235

240

Glu Gly Leu Ser Cys Arg Ile Gln Lys Asp His His Gln Ala Ser Asn

245

250

255

Ser Ser Arg Leu His Thr Cys Gln Arg His

260

265

<210> 111

<211> 20

<212> ADN

5 <213> Artificial

<220>

<223> Una secuencia de cebador sintetizado artificialmente para RT-PCR

10 <400> 111

catcagactg tgctcagga

20

REIVINDICACIONES

1. Método de selección de un compuesto para tratar o prevenir cáncer de esófago, comprendiendo dicho método las etapas de:
 - (a) poner en contacto un compuesto de prueba con un polipéptido codificado por el gen ECT 2;
 - 5 (b) detectar la actividad de unión entre el polipéptido y el compuesto de prueba; y
 - (c) seleccionar el compuesto de prueba que se une al polipéptido.
2. Método de selección de un compuesto para tratar o prevenir cáncer de esófago, comprendiendo dicho método las etapas de:
 - (a) poner en contacto un compuesto candidato con una célula que expresa el gen ECT 2; y
 - 10 (b) seleccionar el compuesto candidato que reduce el nivel de expresión del gen ECT 2, en comparación con un nivel de expresión detectado en ausencia del compuesto candidato.
3. Método según la reivindicación 2, en el que dicha célula comprende una célula de cáncer de esófago.
4. Método de selección de un compuesto para tratar o prevenir cáncer de esófago, comprendiendo dicho método las etapas de:
 - 15 (a) poner en contacto un compuesto de prueba con un polipéptido codificado por el gen ECT 2;
 - (b) detectar la actividad biológica del polipéptido de la etapa (a); y
 - (c) seleccionar el compuesto de prueba que suprime la actividad biológica del polipéptido codificado por el gen ECT 2 en comparación con la actividad biológica de dicho polipéptido detectado en ausencia del compuesto de prueba.
- 20 5. Método de selección de un compuesto para tratar o prevenir cáncer de esófago, comprendiendo dicho método las etapas de:
 - (a) poner en contacto un compuesto candidato con una célula en la que se ha introducido un vector, que comprende la región reguladora de la transcripción del gen marcador ECT 2 y un gen indicador que se expresa bajo el control de la región reguladora de la transcripción;
 - 25 (b) medir el nivel de expresión o actividad de dicho gen indicador; y
 - (c) seleccionar el compuesto candidato que reduce el nivel de expresión o actividad de dicho gen indicador, en comparación con un nivel de expresión o actividad detectado en ausencia del compuesto candidato.
6. Molécula bicatenaria que comprende una hebra sentido y una hebra antisentido, en la que la hebra antisentido consiste en una secuencia de nucleótidos que es complementaria a dicha hebra sentido, en la que dicha hebra sentido y dicha hebra antisentido se hibridan entre sí para formar dicha molécula bicatenaria, e inhibiendo dicha molécula bicatenaria la expresión del gen ECT 2, en la que la secuencia diana de la hebra sentido consiste en la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8 o 9.
- 30 7. Uso de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un anticuerpo, o fragmento inmunológicamente activo del mismo, que se une a una proteína codificada por el gen ECT 2 para la preparación de una composición farmacéutica para tratar o prevenir cáncer de esófago.
- 35 8. Composición para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer de esófago, comprendiendo dicha composición una vacuna que comprende
 - (a) un polipéptido codificado por el gen ECT 2;
 - (b) un fragmento inmunológicamente activo de dicho polipéptido; o
 - 40 (c) un polinucleótido que codifica para el polipéptido.
9. Uso de una vacuna que comprende
 - (a) un polipéptido codificado por el gen ECT 2;
 - (b) un fragmento inmunológicamente activo de dicho polipéptido; o
 - (c) un polinucleótido que codifica para el polipéptido;

para la preparación de una composición farmacéutica para tratar o prevenir cáncer de esófago.

- 5
10. Composición para su uso en la inducción de inmunidad antitumoral contra cáncer de esófago, comprendiendo dicha composición un polipéptido, un polinucleótido que codifica para el polipéptido o un vector que comprende el polinucleótido, en la que el polipéptido está codificado por el gen ECT 2, o un fragmento del mismo.
- 10
11. Uso de un polipéptido, un polinucleótido que codifica para el polipéptido o un vector que comprende el polinucleótido, en el que el polipéptido está codificado por el gen ECT 2, o un fragmento del mismo para la preparación de una composición farmacéutica para inducir una inmunidad antitumoral contra cáncer de esófago.
- 10
12. Composición para su uso en la inducción de una inmunidad antitumoral contra cáncer de esófago, comprendiendo dicha composición una célula presentadora de antígeno que presenta un polipéptido codificado por el gen ECT 2, o un fragmento del mismo.
- 15
13. Uso de una célula presentadora de antígeno que presenta un polipéptido codificado por el gen ECT 2, o un fragmento del mismo para la preparación de una composición farmacéutica para inducir una inmunidad antitumoral contra cáncer de esófago.
- 15
14. Composición para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer de esófago, comprendiendo dicha composición una cantidad farmacéuticamente eficaz de un polinucleótido antisentido o ARNip contra el gen ECT 2.
- 20
15. Composición según la reivindicación 14 para su uso en el tratamiento o la prevención de cáncer de esófago, en la que dicho ARNip comprende una hebra sentido que comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8 ó 9 como secuencia diana.
- 25
16. Uso de una cantidad farmacéuticamente eficaz de un polinucleótido antisentido o ARNip contra el gen ECT 2 para la preparación de una composición farmacéutica para tratar o prevenir cáncer de esófago.
17. Uso según la reivindicación 16, en el que dicho ARNip comprende una hebra sentido que comprende una secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 8 ó 9 como secuencia diana.
18. Composición para su uso en el tratamiento o prevención de cáncer de esófago, comprendiendo dicha composición una cantidad farmacéuticamente eficaz de un anticuerpo o fragmento del mismo que se une a una proteína codificada por el gen ECT 2.

Fig. 1

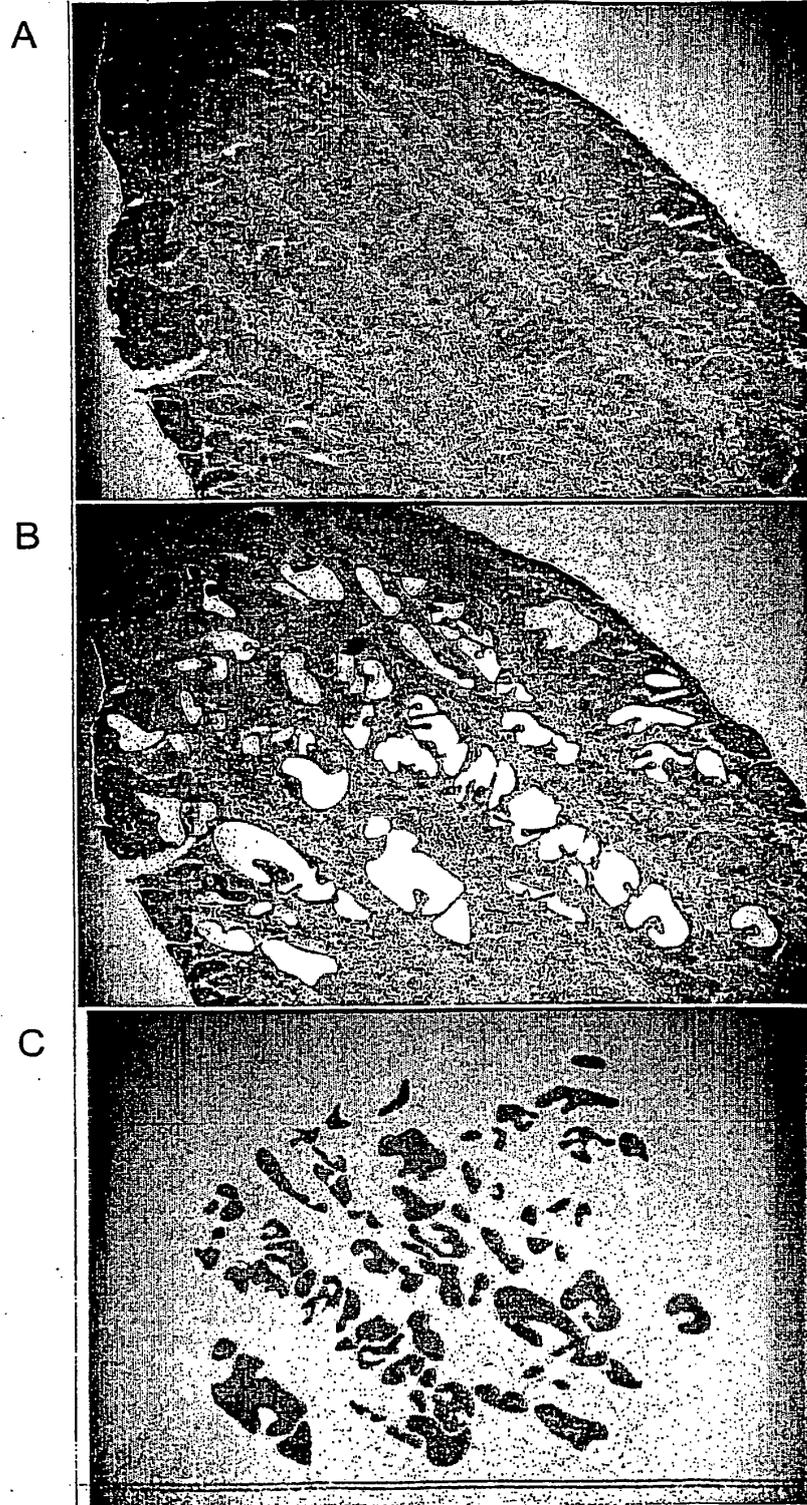
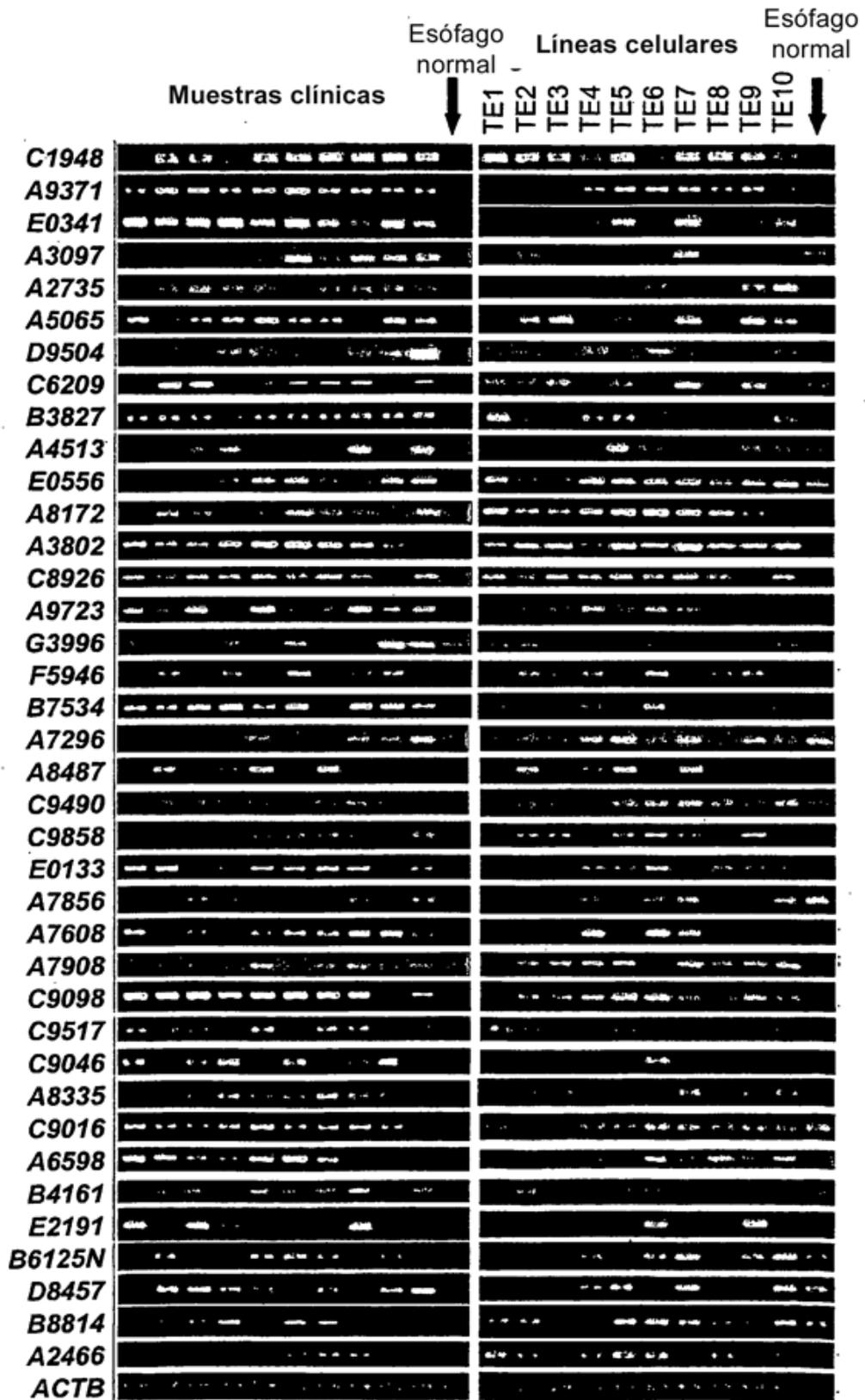


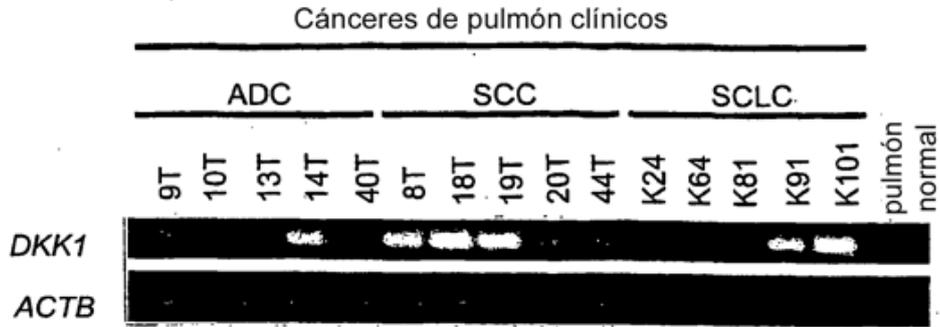
Fig 2

A

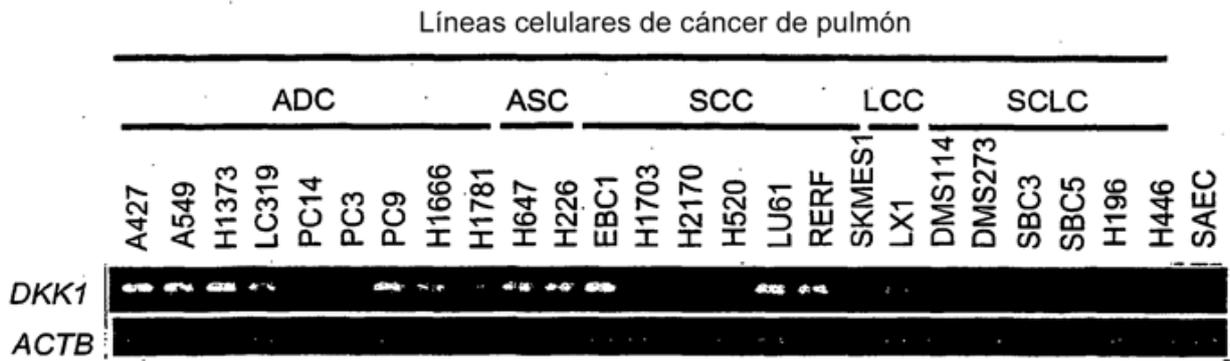


Continuación de la fig. 2

B



C



D

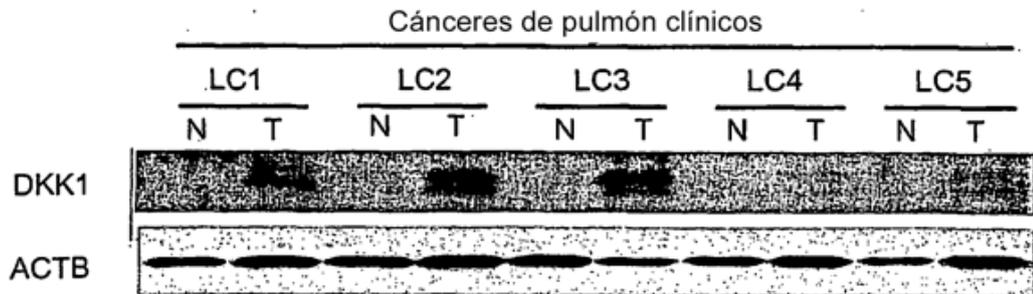
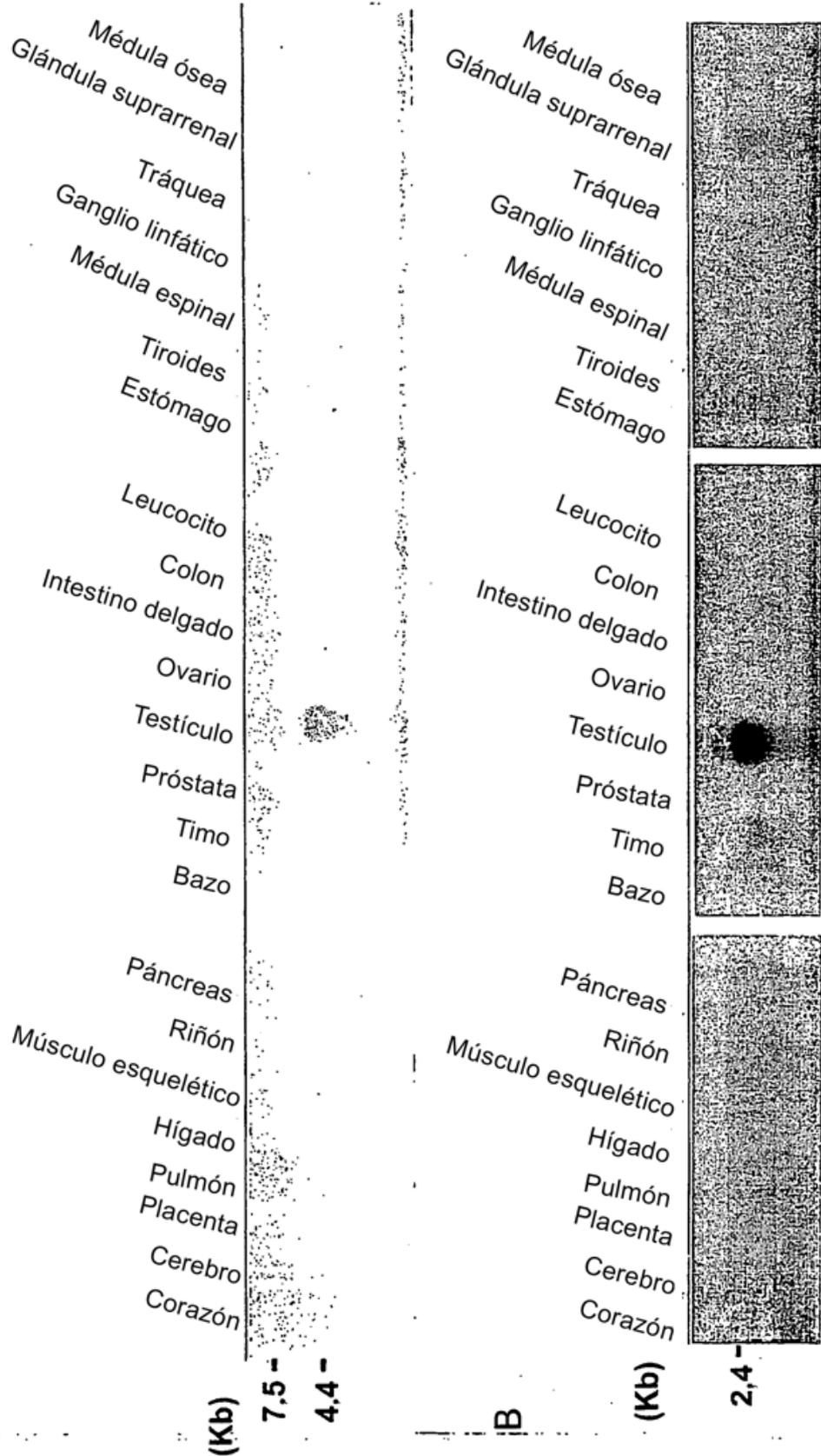


Fig. 3



Continuación de la fig. 3

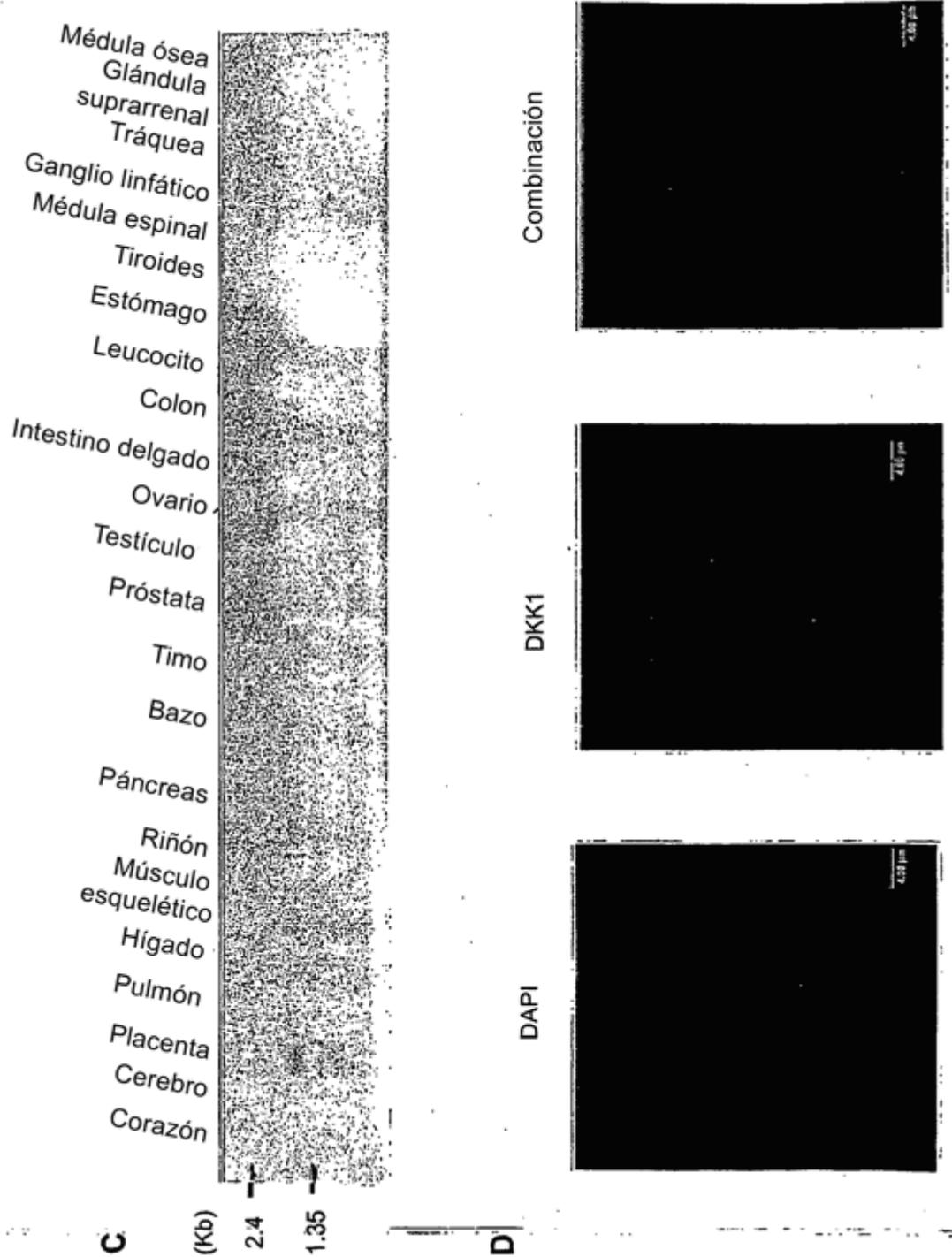


Fig. 4

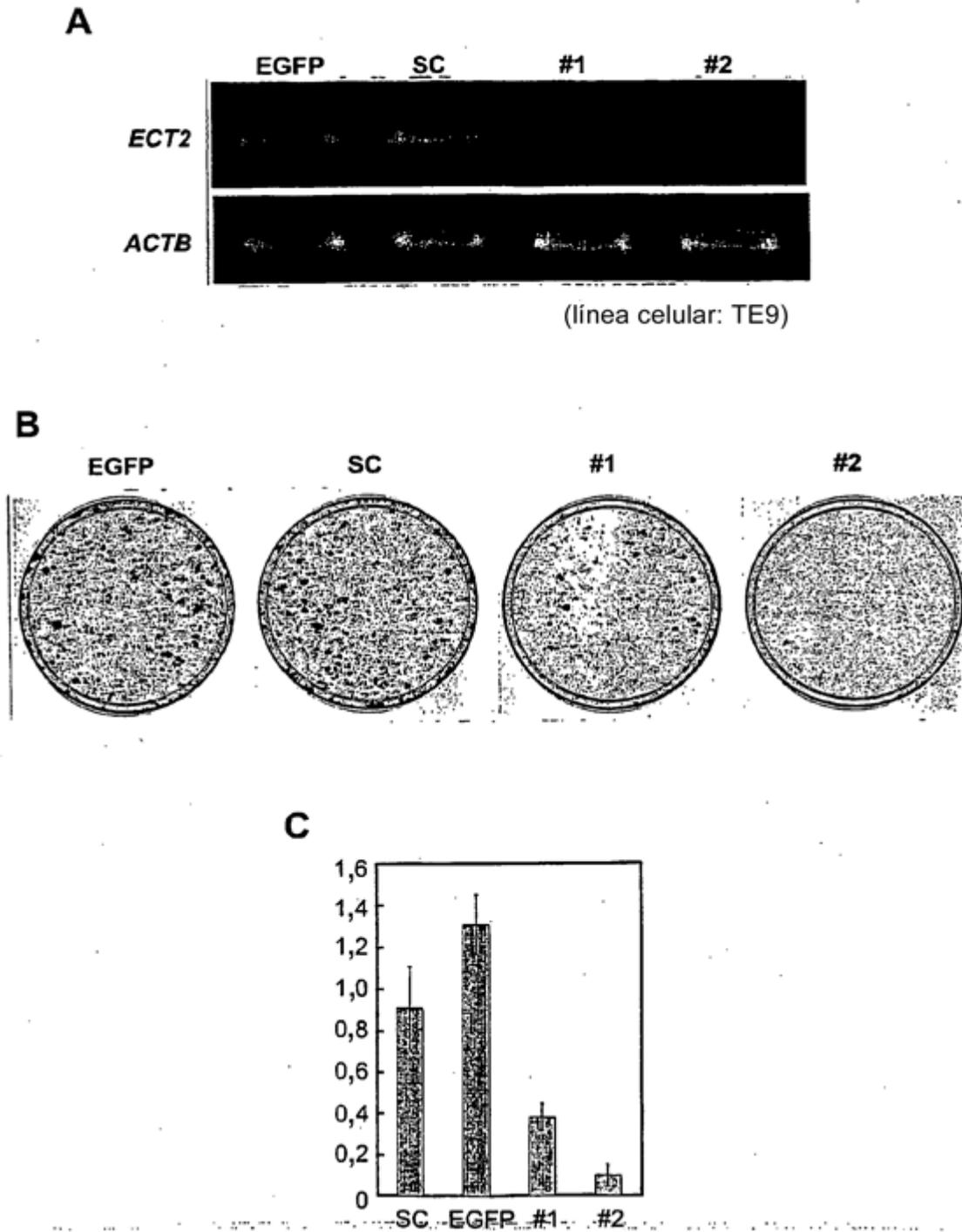
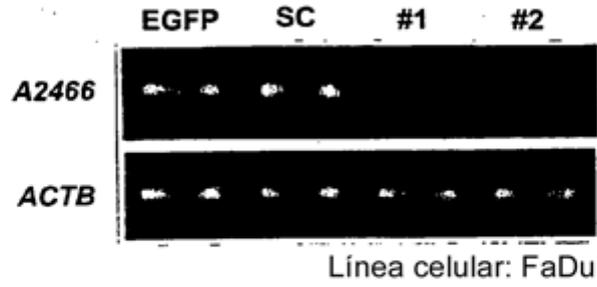
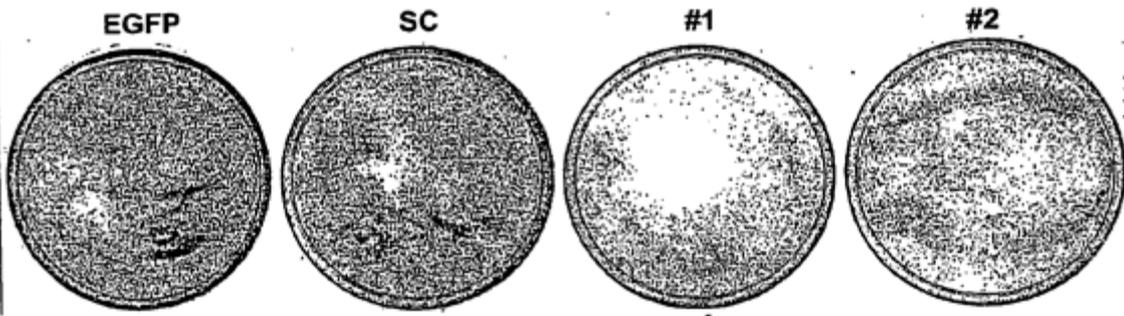


Fig. 5

A



B



C

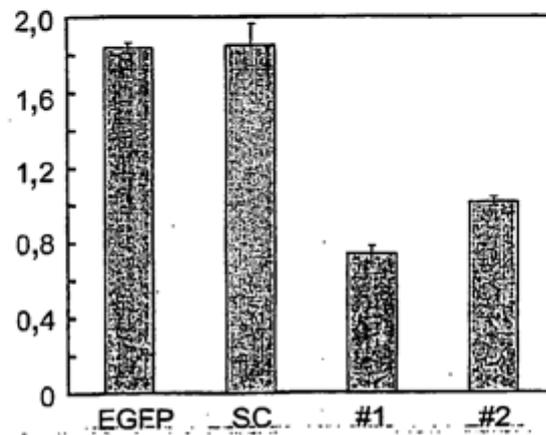


Fig. 6

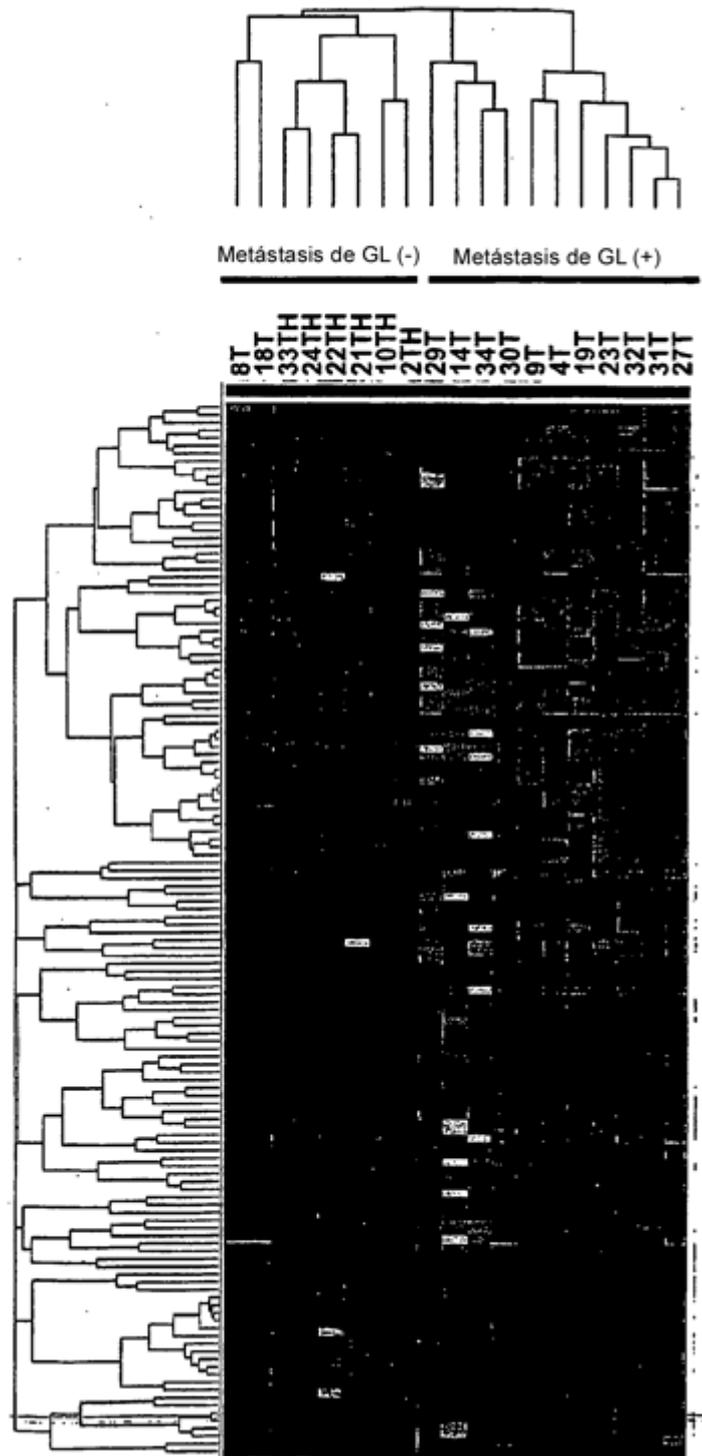
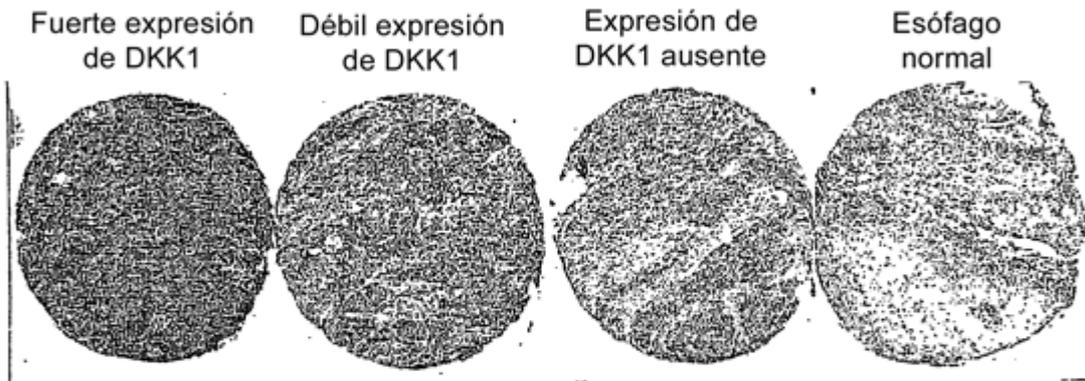


Fig. 7

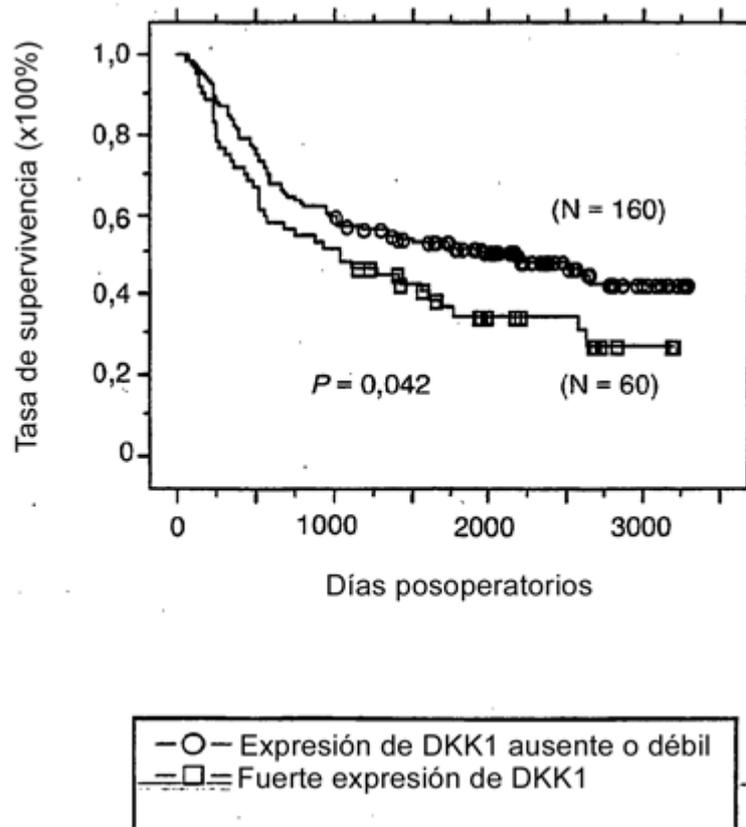


Fig. 8

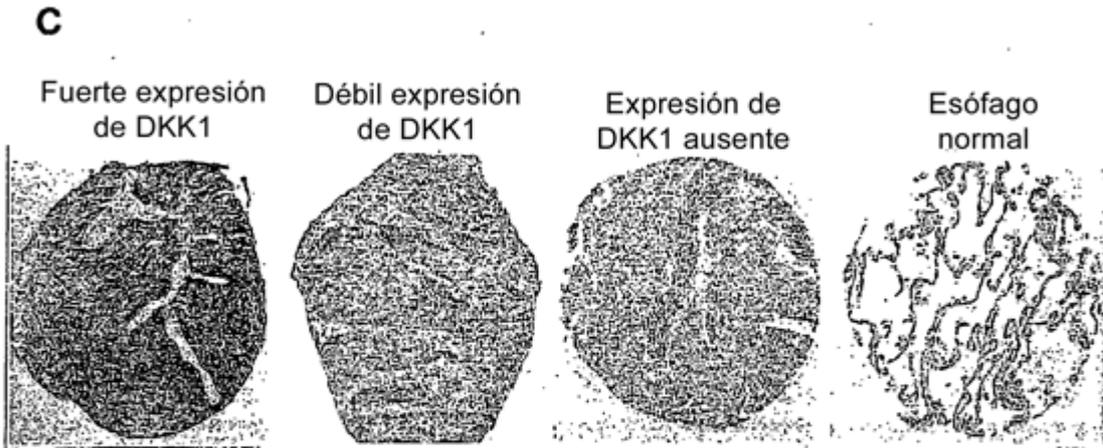
A



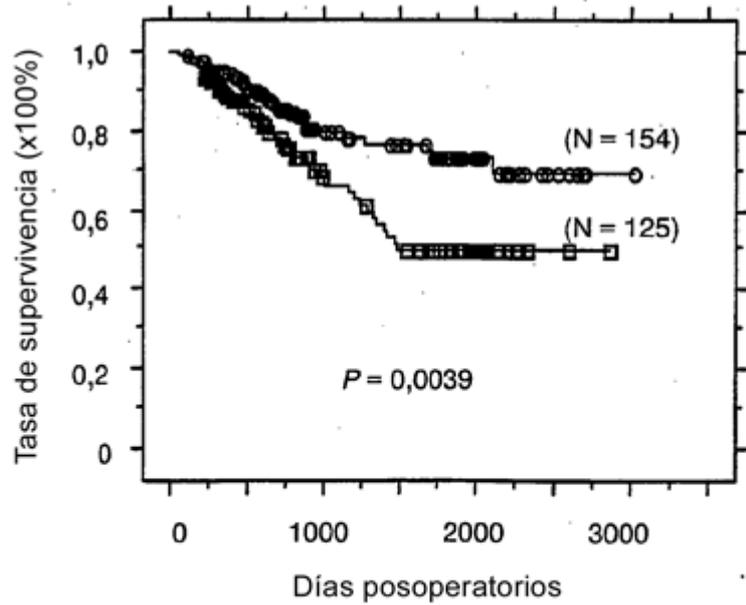
B



Continuación de la fig. 8



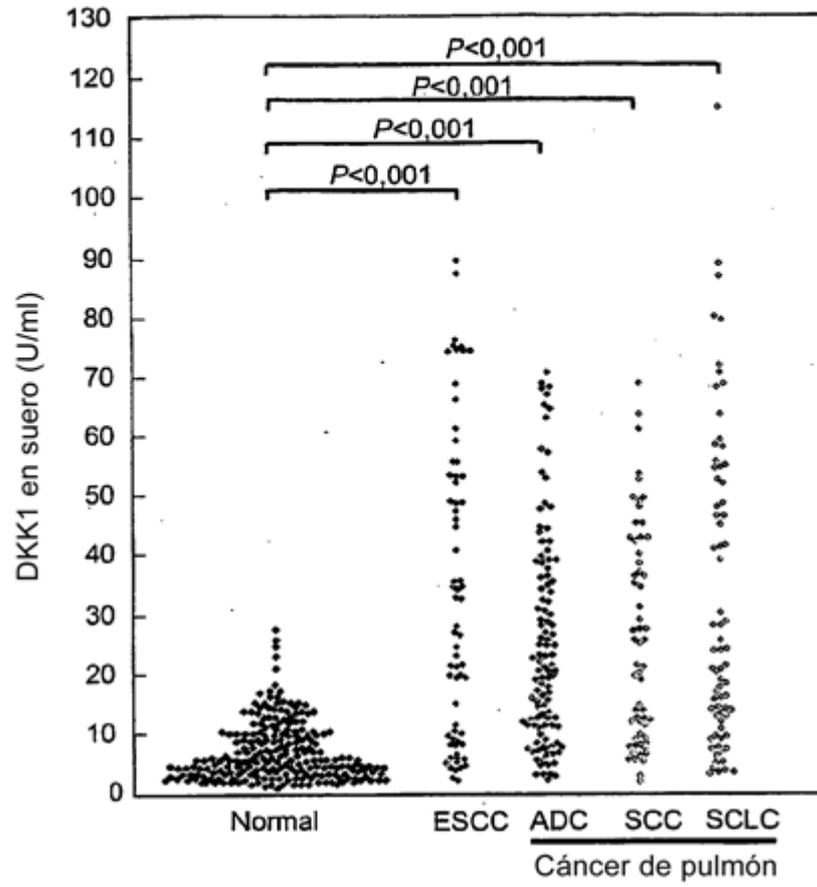
D



—○— Expresión de DKK1 ausente o débil
 —□— Fuerte expresión de DKK1

Fig 9

A



B

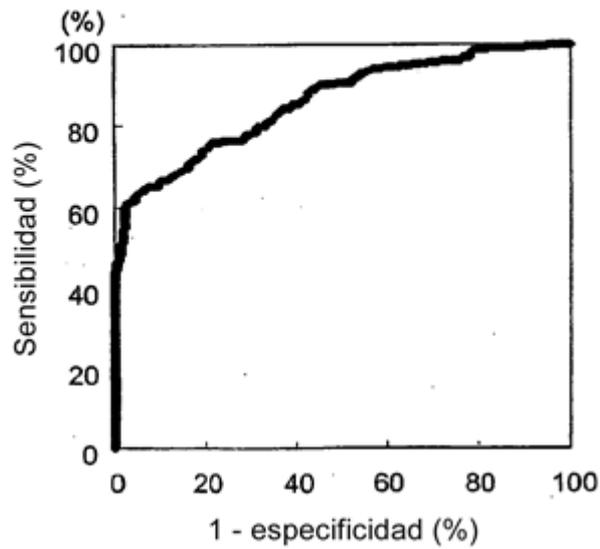


Fig. 10

