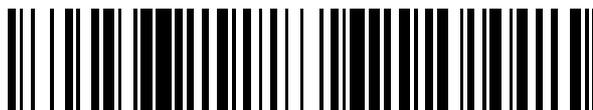


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 406 686**

51 Int. Cl.:

**C12N 15/113** (2010.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.10.2008 E 08801378 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.02.2013 EP 2205737**

54 Título: **Micromirs**

30 Prioridad:

**04.10.2007 US 977497 P**

**11.10.2007 US 979217 P**

**12.02.2008 US 28062**

**17.07.2008 EP 08104780**

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

**07.06.2013**

73 Titular/es:

**SANTARIS PHARMA A/S (100.0%)**

**Fremtidsvej 3**

**2970 Horsholm , DK**

72 Inventor/es:

**OBAD, SUSANNA;**

**KAUPPINEN, SAKARI;**

**ELMÉN, JOACIM;**

**LINDOW, MORTEN y**

**HEIDENBLAD, MARKUS**

74 Agente/Representante:

**PÉREZ BARQUÍN, Eliana**

**ES 2 406 686 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

Micromirs

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a oligonucleótidos muy cortos que están dirigidos e inhiben microARN *in vivo* y a su uso en medicamentos y composiciones farmacéuticas.

10 **Antecedentes de la invención**

Los microARN (microARN) son una clase abundante de ARN endógenos cortos que actúan como reguladores postranscripcionales de la expresión génica mediante apareamiento de bases con sus ARNm diana. Se procesan a partir de precursores de tipo horquilla más largos (de aproximadamente 70-80 nucleótidos) denominados pre-miARN a través del dímero enzimático RNasa III. Los microARN se ensamblan en complejos de ribonucleoproteínas denominados miRNP y reconocen sus sitios diana mediante complementariedad antisentido de modo que participan en la regulación por disminución de sus genes diana. La complementariedad casi perfecta o perfecta entre el miARN y su sitio diana tiene como resultado la escisión del ARNm diana, mientras que una complementariedad limitada entre el microARN y el sitio diana tiene como resultado la inhibición traduccional del gen diana.

Un resumen del papel de los microARN en enfermedades humanas y la inhibición de microARN usando oligonucleótidos monocatenarios se proporciona en los documentos WO 2007/112754, WO 2007/112753. El documento WO 2008046911 proporciona secuencias de microARN que están asociadas con cáncer. Numerosos microARN se han relacionado con fenotipos de enfermedad y, por tanto, es deseable proporcionar sustancias capaces de modular la disponibilidad de microARN *in vivo*. Los documentos WO 2007/112754 y WO 2007/112753 divulgan oligonucleótidos monocatenarios cortos que se considera que forman un dúplex fuerte con su ARNm diana. Las SEC ID N° 1-45 son ejemplos de oligonucleótidos microARN como se divulgan en el documento WO 2007/112754 y WO 2007/112753.

Fabini y Gait, 2008 (RNA vol 14 pág. 336-346), Elmén J y col. 2008 (Nature Vol 452, p142), Elmén J y col., 2007 (Nucleic Acid Research vol 36 pág. 1153-1162) divulgan LNA y oligonucleótidos antimir modificados con 2'O-metilo que son más largos que 10 unidades de nucleótidos. Obad S y col., 2008 (European Journal of Cancer Supplements vol.6 p142) hace referencia a LNA cortos-oligonucleótidos antimir, sin indicar ninguna longitud adicional de dichos oligonucleótidos. El documento WO 2007/112753 hace referencia a oligonucleótidos de una longitud que es improbable que forme un complejo de siARN y con suficiente carga de análogos nucleotídicos de alta afinidad que casi se adhieren de forma permanente a su miARN diana, formando con eficacia un dúplex estable y no funcional con el miARN. El documento WO 2007/11275 divulga oligonucleótidos que tienen una longitud de 8 y 10 nucleótidos, y divulga oligonucleótidos que consisten en análogos nucleotídicos sustituidos en 2' con LNA.

40 **Solicitudes relacionadas**

La presente solicitud reivindica prioridad sobre cuatro solicitudes: US 60/977497 presentada el 4 de octubre de 2007, US 60/979217 presentada el 11 de octubre de 2007, US 61/028062 presentada el 12 de febrero de 2008 y EP 08104780 presentada el 17 de julio de 2008.

45 **Sumario de la invención**

La presente invención se basa en el descubrimiento de que el uso de oligonucleótidos muy cortos que están dirigidos a microARN y que tienen una proporción elevada de nucleótidos LNA es muy eficaz en el alivio de la represión de los ARN, tal como un ARNm, mediante los microARN al que están dirigidos *in vivo*.

La presente invención proporciona a un oligómero una secuencia contigua de una longitud de 7, 8, 9 o 10 unidades nucleotídicas para usar en la reducción de la cantidad eficaz de un microARN diana en una célula o un organismo, en el que al menos el 70 %, tal como al menos el 80 % de las unidades nucleotídicas del oligómero son unidades de LNA y en el que el oligómero comprende al menos un enlace fosforotioato y en el que el oligómero es para uso en la reducción de la cantidad eficaz de un microARN diana en una célula u organismo.

La presente invención proporciona a un oligómero una secuencia contigua de una longitud de 7, 8, 9 o 10 unidades nucleotídicas para usar en la reducción de la cantidad eficaz de un microARN diana en una célula o un organismo, en el que al menos el 70 % de las unidades nucleotídicas del oligómero son unidades de LNA y en el que el oligómero comprende al menos un enlace fosforotioato y en el que el oligómero es para uso en la reducción de la cantidad eficaz de un microARN diana en una célula u organismo.

La invención proporciona oligómeros de una longitud entre 7-10 nucleótidos que comprende una secuencia de nucleótidos contigua de un total de entre 7-10 nucleótidos, tal como 7, 8, 9 unidades nucleotídicas, en el que al menos el 70 % de las unidades nucleotídicas del oligómero son análogos nucleotídicos de LNA y en el que el

oligómero comprende al menos un enlace fosforotioato y en el que el oligómero es para uso en la reducción de la cantidad eficaz de un microARN diana en una célula u organismo.

5 La invención proporciona además un oligómero de una longitud entre 7-10 nucleótidos que comprende una secuencia de nucleótidos contigua de un total de entre 7-10 nucleótidos, tal como 7, 8, 9 o 10 unidades nucleotídicas, en el que la secuencia de nucleótidos es complementaria a una correspondiente secuencia de nucleótidos encontrada en microARN de mamífero o viral, y en el que al menos el 70 % de las unidades nucleotídicas del oligómero son análogos nucleotídicos de LNA y en el que el oligómero comprende al menos un enlace fosforotioato y en el que el oligómero es para uso en la reducción de la cantidad eficaz de un microARN diana en una célula u organismo.

La presente invención proporciona oligómeros de acuerdo con la invención como medicamento.

15 Los oligómeros de la invención se pueden usar en composiciones farmacéuticas de la presente invención que comprenden el oligómero de la invención y un diluyente, vehículo, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

La invención proporciona un conjugado que comprende un oligómero de acuerdo con la invención, conjugado con al menos un no nucleótido o entidad polinucleotídica, tal como un esteroide, tal como colesterol.

20 La invención proporciona el uso de un oligómero o un conjugado de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión de un microARN, tal como uno o más de los microARN a los que se hace referencia en el presente documento.

25 Los oligómeros de la invención se pueden usar en el tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión del microARN, comprendiendo el procedimiento la etapa de administrar una composición (tal como la composición farmacéutica) que comprende un oligómero o conjugado de acuerdo con la invención a un paciente que sufre, o es probable que sufra, dicha enfermedad o trastorno médico.

30 La invención proporciona un procedimiento in Vitro para reducir la cantidad eficaz de un microARN diana en una célula, que comprende administrar a la célula el oligómero de la invención, o una composición (tal como una composición farmacéutica) que comprende el oligómero o conjugado de acuerdo con la invención.

35 La invención proporciona un procedimiento in vitro para reducir la cantidad eficaz de un microARN diana en una célula, que comprende administrar a la célula el oligómero o conjugado o composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

40 La invención proporciona un procedimiento in vitro para desreprimir un ARNm (o uno o más ARN) diana en una célula, que comprende administrar a dicha célula el oligómero o conjugado de acuerdo con la invención o una composición que comprende dicho oligómero o conjugado.

La invención proporciona el uso in vitro de un oligómero o un o conjugado de acuerdo con la invención para inhibir el microARN en una célula, que comprende dicho microARN, tal como una célula humana.

#### 45 **Breve descripción de los dibujos**

Figura 1. Presentación esquemática de los LNA-antimiR miR-21, miR-155 y miR-122 de 8 unidades, que indica las posiciones diana con el LNA-antimiR fosforotiolado y completamente modificado con LNA. También Se indican las posiciones de hibridación preferidas para oligonucleótidos LNA de 7, 8, 9 y 10 unidades del microARN maduro.

50 Figura 2. Evaluación del antagonismo de miR-21 mediante anti-miR de LNA de SEC ID N° 3205 y SEC ID N° 3204 en células MCF-7 usando un ensayo sensor de luciferasa. Las células MCF-7 se co-transfectaron con plásmidos con sensor de luciferasa que contienen un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-21 o un sitio diana de coincidencia errónea (.mm2) y LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestra la media de las proporciones de renilla/luciérnaga para tres experimentos distintos (barras= SEM), en los que todos se han normalizado frente a psiCHECK2 0 nM (=control).

60 Figura 3. Evaluación del antagonismo de miR-21 mediante anti-miR de LNA de SEC ID N° 3205 y SEC ID N° 3204 en células HeLa usando un ensayo sensor de luciferasa. Las células HeLa se co-transfectaron con plásmidos con sensor de luciferasa que contienen un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-21 (mir-21) o un sitio diana de coincidencia errónea (mm2) y LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestra la media de las proporciones de renilla/luciérnaga para tres experimentos distintos (barras= SEM), en los que todos se han normalizado frente a psiCHECK2 0 nM (=control).

65 Figura 4. Evaluación del antagonismo de miR-155 mediante anti-miR de LNA de SEC ID N° 3206 y SEC ID N° 3207 en células RAW de ratón tratadas con LPS usando un ensayo sensor de luciferasa. Las células RAW se co-

transfectaron con miR-155 y los diferentes LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestra la media de las proporciones de renilla/luciérnaga todas normalizadas frente a psiCHECK2 0 nM.

- 5 Figura 5. Evaluación del antagonismo de miR-122 mediante anti-miR de LNA de SEC ID N° 3208 y SEC ID N° 4 en células HuH-7 usando un ensayo sensor de luciferasa. Las células HuH-7 se co-transfectaron con un sensor de luciferasa miR-122 que contiene un sitio diana de miR-122 de coincidencia perfecta en los diferentes LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestra la media de las proporciones de renilla/luciérnaga para tres experimentos distintos (barras= SEM), en los que todos se han normalizado frente a psiCHECK2 0 nM (=control).

Figura 6. Presentación esquemática de los constructos indicadores de la luciferasa miR-21.

- 15 Figura 7. Evaluación del antagonismo de miR-21 mediante LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3205) frente a LNA-antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3204) en células PC3 usando un ensayo indicador de luciferasa. Las células PC3 se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-21 o un sitio diana de coincidencia errónea y LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = SEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y la posición de los LNA-antimiR. Los nucleótidos LNA se indican con óvalos y los residuos de ADN se indican con barras.

- 25 Figura 8. Evaluación de la especificidad del antagonismo de miR-21 mediante un LNA-antimiR de 8 unidades en células HeLa usando un ensayo indicador de luciferasa. Las células HeLa se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen un sitio diana de coincidencia perfecta o un sitio diana de coincidencia errónea para miR-21 y LNA-antimiR (SEC ID N° 3205) o un oligo control de coincidencia errónea de LNA de 8 unidades (SEC ID N° 3218) a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = SEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y la posición de los LNA-antimiR. Las coincidencias erróneas se indican con óvalos rellenos.

- 35 Figura 9. Evaluación de la longitud más corta posible de un LNA-antimiR modificado con LNA que media en el antagonismo eficaz de miR-21. Las células HeLa se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen un sitio diana de coincidencia perfecta o de coincidencia errónea para miR-21 y los LNA-antimiR a diferentes concentraciones (SEC ID N° 3209 =6 unidades y SEC ID N° 3210=7 unidades). Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = SEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y la posición de los LNA-antimiR.

- 45 Figura 10. Evaluación de la longitud de LNA-antimiR sustituidos completamente con LNA que antagonizan miR-21. Las células HeLa se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen un sitio diana de coincidencia perfecta o de coincidencia errónea para miR-21 y los LNA-antimiR a diferentes concentraciones (SEC ID N° 3211 =9 unidades y SEC ID N° 3212=10 unidades, SEC ID N° 3213= 12 unidades y SEC ID N° 3214= 14 unidades). Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = SEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y la posición de los LNA-antimiR.

- 55 Figura 11. Determinación de la posición más óptima para un LNA-antimiR de 8 unidades dentro de la secuencia de reconocimiento de la diana de miR. Las células HeLa se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen un sitio diana de coincidencia perfecta o de coincidencia errónea para miR-21 y los LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = SEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y la posición de los LNA-antimiR.

- 60 Figura 12. Validación de la interacción de la Pdc4-3'-UTR y miR-21 mediante el LNA-antimiR de 8 unidades de SEC ID N° 3205. Las células HeLa se co-transfectaron con un plásmido indicador de la luciferasa que contiene parte de la 3'UTR del gen de Pdc4 y LNA-antimiR a concentraciones diferentes (SEC ID N° 3205= 8 unidades, coincidencia perfecta; SEC ID N° 3218= 8 unidades, coincidencia errónea; SEC ID N° 3204= 15 unidades; mezcla de LNA/ADN, SEC ID N° 3220= 15 unidades, gámpero). Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran las proporciones de renilla/luciérnaga que se han normalizado frente a 0 nM. También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y la posición de los LNA-antimiR.

Figura 13. Comparación de un LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3207) con un LNA-antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3206) en el antagonismo de miR-155 en células RAW de ratón. Las células RAW de ratón se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen una coincidencia perfecta para miR-155 y los diferentes LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = SEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana de miR155 (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-155 y el diseño y la posición de os LNA-antimiR.

Figura 14. Evaluación de c/EBP. Evaluación de /EBPer LNA-antimiR (SEC ID N° 3207) con un LNA-antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3206) en el antagonismo de miR-155 en células RAW de ratón. Las células RAW de ratón se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen una coincidencia perfecta para miR-155 y the diffter 20 horas, se recogieron las células y se realizó un análisis de transferencia de tipo western de los extractos proteicos de las células RAW. Se indican las diferentes isoformas de c/EBP $\beta$  y las proporciones calculadas en c/EBP $\beta$  LIP y beta-tubulina se muestran más adelante.

Figura 15. Antagonismo de miR-106b por un LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA (SEC ID N° 3221) o por una mezcla de antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3228). Las células HeLa se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen una coincidencia perfecta para miR-106b y los diferentes LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios de cuatro duplicados en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana en miARN (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-106b y el diseño y la posición de os LNA-antimiR.

Figura 16. Antagonismo de miR-19b por un LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA (SEC ID N° 3222) o por una mezcla de antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3229). Las células HeLa se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen una coincidencia perfecta para miR-19a y los dos LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios de cuatro duplicados en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana en miR-19a (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-19a y el diseño y la posición de os LNA-antimiR.

Figura 17. Presentación esquemática que muestra las secuencias de miR-221 y miR-222 maduras. En el cuadrado se muestra la secuencia semilla (7 unidades) que está conservada en ambas secuencias de miARN.

Figura 18. Objetivo la familia de microARN usando LNA-antimiR cortos completamente sustituidos con LNA. Las células PC3 se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa para miR-221 y miR-222 por separado o juntos y con los diferentes LNA-antimiR a concentraciones variables. En la co-transfección con los LNA-antimiR (15 unidades) SEC ID N° 3223 (contra miR-221) y SEC ID N° 3224 (contra miR-222), la concentración total fue 2 nM (1 nM cada uno), mientras que en la transfección de las células con la SEC ID N° 3225 (7 unidades), las concentraciones fueron 0, 1, 5, 10 o 25 nM. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = SEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana en miARN (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-221/222 y el diseño y la posición de os LNA-antimiR.

Figura 19. Evaluación de los niveles de la proteína p27 como lectura funcional del antagonismo de la familia miR-221/222 por el LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225. Las células PC3 se transfectaron con el LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225 dirigido a miR-221 y miR-222 a concentraciones variables. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midieron los niveles proteicos en una transferencia de tipo western. Se muestran las proporciones de p27/tubulina.

Figura 20. Evaluación del antagonismo de miR-21 mediante LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3205) frente a LNA-antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3204) y una de 8 unidades con 2 coincidencias erróneas (SEC ID N° 3218) en células HepG2 usando un ensayo indicador de luciferasa. Las células HepG2 se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen un sitio diana de coincidencia perfecta miR-21 y LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = SEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y la posición de os LNA-antimiR.

Figura 21. Validación de la interacción de la Pdc43'-UTR y miR-21 mediante el LNA-antimiR de 8 unidades de SEC ID N° 3205 frente al de 15 unidades (SEC ID N° 3204) y una de 8 unidades con dos coincidencias erróneas (SEC ID N° 3218). Las células HuH-7 se co-transfectaron con un plásmido indicador de luciferasa que contiene parte de la 3'UTR del gen Pdc4, pre-miR-21 (10 nM) y LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron

las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = SEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana (=control). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y la posición de los LNA-antimiR.

5  
Figura 22. El antagonismo de miR-21 o la SEC ID N° 3205 conduce a mayores niveles de la proteína Pdcd4. Las células HeLa se transfectaron con LNA-antimiR 5 mM SEC ID N° 3205 (coincidencia perfecta) o el LNA de SEC ID N° 3219 mezclado (8 unidades) o la SEC ID N° 3218 (coincidencia errónea de 8 unidades). Las células se recogieron tras 24 horas y se sometieron a transferencia de tipo western con anticuerpo frente a Pdcd4.

10  
Figura 23. Niveles de ALT y AST en ratones tratados con la SEC ID N° 3205 (coincidencia perfecta) o la SEC ID N° 3218 (control de coincidencia errónea). Se sacrificó a los ratones tras 14 días y después de recibir 25 mg/kg en días alternos.

15  
Figura 24. Evaluación de los niveles de la proteína PU.1 como lectura funcional del antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR corto (SEC ID N° 3207). Las células THP-1 se co-transfectaron con pre-miR-155 (5 nmol) y diferentes oligonucleótidos de LNA (5 nM) y se añadió LPS 100 ng/ml. Tras 24 horas se recogieron las células y se realizó análisis de transferencia de tipo western de los extractos proteicos de las células THP-1. Se indican la PU.1 y la tubulina.

20  
Figura 25. Evaluación de los niveles de la proteína p27 como lectura funcional del antagonismo de la familia miR-221/222 por el LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225. Las células PC3 se transfectaron con el LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225 dirigido a miR-221 y miR-222 y un LNA mezclado control a 5 y 25 nM. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midieron los niveles proteicos en una transferencia de tipo western. Se muestran las proporciones de p27/tubulina.

25  
Figura 26. La eliminación de miR-221/222 por el LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225 (coincidencia perfecta) reduce la formación de colonias en agar blando en células PC3. Las células PC3 se transfectaron con 25 nM del LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225 dirigido a miR-221 y miR-222 o control mezclado de 7 unidades (SEC ID N° 3231). Tras 24 horas, se recogieron las células y se sembraron en agar blando. Tras 12 días se contaron las colonias. Se ha realizado un experimento por triplicado.

30  
Figura 27. Visión general de la familia let-7 humana y de los antagonistas analizados. (superior) Las secuencias representan el miARN maduro para cada miembro y el recuadro representa los nucleótidos 2-16, las posiciones normalmente antagonizadas por LNA-antimiR. Las columnas de la derecha muestran el número de diferencias de nucleótidos comparados con let-7a, dentro de la semilla (S; posición 2-8), semilla extendida (SE; posición 2-9) y la secuencia restante típicamente objetivo de LNA-antimiR (NE; posición 9-16), respectivamente. Los nucleótidos con colores invertidos están alterados en comparación con let-7a. (inferior) Resumen de los antagonistas analizados contra la familia let-7, incluida la información sobre el diseño, la longitud y las dianas perfectamente complementarias. Todos los compuestos están completamente fosforotiolados.

35  
Figura 28. Evaluación del antagonismo de let-7 por seis LNA-antimiR diferentes en células Huh-7 usando un ensayo sensor de luciferasa. Las células Huh-7 se co-transfectaron con plásmidos sensores de luciferasa que contienen una HMGA2 3'UTR parcial (con cuatro sitios de unión en let-7), con o sin un precursor de let-7a (barras de color gris y negro, respectivamente) y con 6 LNA-antimiR diferentes a concentraciones crecientes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestra la media de las proporciones de renilla/luciérnaga para mediciones por duplicado y desviaciones estándar para cada ensayo. Dentro de cada grupo de LNA-antimiR todas las proporciones se han normalizado al promedio de pocillos que no contienen precursor de let-7a (barras negras).

45  
50  
Figura 29. Resultados de luciferasa de células Huh-7 transfectadas con el plásmido sensor con HMGA2 3'UTR, LNA-antimiR de SEC ID N° 3226 (izquierda) y la SEC ID N° 3227 (derecha), y pre-miR para let-7a (A), let-7d (B), let-7e (C), y let-7i (D). Las barras grises indican la desrepresión diana tras la preinclusión de miR, mientras que las barras control negras representan el nivel equivalente sin adición de pre-miR. Cada proporción se basa en mediciones por cuadruplicado y se han normalizado frente al promedio de pocillos que no contienen precursor (barras negras) dentro de cada grupo de tratamiento.

55  
60  
Figura 30. Resultados de luciferasa de células HeLa transfectadas con el plásmido sensor con HMGA2 3'UTR o vector control y el LNA-antimiR de SEC ID N° 3227 a varias concentraciones. Cada proporción se basa en mediciones por cuadruplicado normalizadas frente al vector control vacío sin tratar (0 nM) (psi-CHECK-2; barras grises).

65  
Figura 31. Evaluación del antagonismo de miR-21 por el de 8 unidades (n° 3205) en células HCT116 usando un ensayo sensor de luciferasa. Las células HCT116 se co-transfectaron con plásmidos sensores de luciferasa que contienen un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-21 (barras grises) y LNA-antimiR y oligonucleótidos control a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestra un ejemplo típico de dos en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al

vector vacío 0 nM (=barras negras).

Figura 32. La silenciación de miR-21 por el LNA-antimiR de 8 unidades nº 3205 reduce la formación de colonias en agar blando en células PC3. Las células PC3 se transfectaron con 25 nM del LNA-antimiR de 8 unidades nº 3205 dirigido a miR-21. Tras 24 horas se recogieron las células y se sembraron en agar blando. Tras 12 días se contaron las colonias. Se muestra la media de tres experimentos distintos, cada uno realizado por triplicado y normalizados frente al control 0 nM (es decir, transfección pero sin LNA).  $p=0,01898$  para el nº 3205.

Figura 33. La eliminación de miR-21 por el LNA-antimiR de 8 unidades nº 3205 reduce la formación de colonias en agar blando en células HepG2. Las células HepG2 se transfectaron con 25 nM del LNA-antimiR de 8 unidades nº 3205 dirigido a miR-21. Tras 24 horas se recogieron las células y se sembraron en agar blando. Tras 17 días se contaron las colonias. Se muestra la media de tres duplicados de un experimento (barras= SEM).

Figura 34. Cierre de heridas en la línea celular invasiva de próstata humana PC3 tras tratamiento con el nº 3205. (A) Las células PC3 se transfectaron el día 3 con LNA-antimiR y oligonucleótidos control a 25 nM, nº 3205 (8 unidades, coincidencia perfecta) y el nº 3219 (8 unidades, coincidencia errónea) y al día siguiente se realizó un raspado. Se realizaron fotos tras 24 horas con el fin de controlar la migración. (B) El área de cada punto de tiempo se ha medido con el programa de software Image J y se normalizaron frente al correspondiente punto de tiempo a 0 horas.

Figura 35. Evaluación de la longitud de LNA-antimiR completamente sustituido con LNA antagonista de miR-155. Las células RAW se co-transfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contienen un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-155 y oligonucleótidos LNA-antimiR a concentraciones diferentes. Tras 24 horas, se recogieron las células y se midió la actividad de luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = SEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones de renilla/luciérnaga se han normalizado frente al vector vacío 0 nM sin sitio diana (= simulado). También se muestra una presentación esquemática de la secuencia de miR y el diseño y la posición de los LNA-antimiR.

Figura 36. Unión de LNA-antimiR-21 (nº 3205) marcado con 5'-FAM a proteínas plasmáticas de ratón. (A) % del compuesto LNA-antimiR-21 no unido como función de la concentración de oligonucleótidos en plasma de ratón. (B) Concentración del compuesto LNA-antimiR-21 no unido nº 3205 como función de la concentración del nº 3205 en plasma de ratón.

Figura 37. Cuantificación de los niveles de la proteína Ras mediante análisis de transferencia de tipo western.

A. Imagen en gel que muestra las proteínas Ras y tubulina (patrón interno) en muestras de pulmón y riñón tratadas (anti-let-7, 8 unidades) frente a no tratadas (solución salina). B Cuantificación de los niveles de la proteína Ras en pulmón y riñón, respectivamente, de ratones tratados con LNA-antimiR (barras negras), normalizados frente a controles de solución salina (barras grises) usando tubulina como control de igual carga.

B. La silenciación de miR-21 por el nº 3205 conduce a mayores niveles de la proteína Pdc4 *in vivo*.

C. En los ratones se inyectó solución salina o LNA-antimiR (nº 3205) 25 mg/kg durante 14 días en días alternos, con un total de 5 dosis. Se sacrificó a los ratones y se aisló la proteína del riñón y se sometió a análisis de transferencia de tipo western con anticuerpo frente a la proteína Pdc4. A. Imagen en gel que muestra las proteínas Pdc4 y Gapdh (patrón interno) en muestras de riñón tratadas (antimiR-21; 8 unidades) frente a no tratadas (solución salina) (M1, ratón 1; M2, ratón 2). B. Cuantificación de los niveles de la proteína Pdc4 en riñones de ratones tratados con LNA-antimiR (barras de color gris oscuro) normalizados frente a la media de controles de solución salina equivalentes (barras de color gris claro) usando Gapdh como control de carga.

## Descripción detallada de la invención

A partir del sector de reactivos *in vitro* se conocen oligonucleótidos cortos que incorporan LNA (véase, por ejemplo, los documentos WO 2005/098029 y WO 2006/069584). No obstante, las moléculas diseñadas para uso diagnóstico o reactivo son muy diferentes en términos de diseño a las diseñadas para uso *in vivo* o farmacéutico. Por ejemplo, los nucleótidos terminales de los oligos reactivos normalmente no son LNA, sino ADN, y los enlaces internucleosídicos normalmente son distintos a fosforotioato, el enlace preferido para usar en los oligonucleótidos de la presente invención. Por tanto, la invención proporciona una nueva clase de oligonucleótidos (denominados en el presente documento oligómeros) *per se*.

Las siguientes realizaciones hacen referencia a ciertas realizaciones del oligómero de la invención, que se pueden usar en una composición farmacéutica. Los aspectos que se refieren al oligómero pueden también hacer referencia a secuencias nucleotídicas contiguas y al contrario.

### El oligómero

El oligómero de la invención es un oligonucleótido monocatenario que comprende al menos un 70 % de análogos

nucleotídicos de LNA, que forman parte de, o la totalidad de la secuencia nucleotídica contigua del oligonucleótido, y el oligómero comprende al menos un enlace fosforotioato. La secuencia nucleotídica del oligómero consiste en una secuencia nucleotídica contigua.

5 El término “oligonucleótido” (o simplemente “oligo”), que se usa de forma intercambiable con el término “oligómero”, hace referencia en el contexto de la presente invención a una molécula formada mediante enlace covalente de dos o más nucleótidos. Cuando se usa en el contexto del oligonucleótido de la presente invención (también denominado oligonucleótido monocatenario), el término “oligonucleótido” puede tener, en una realización, por ejemplo entre 7 - 10 nucleótidos, tal como en realizaciones individuales, 7, 8, 9 o 10.

10 El término “nucleótido” hace referencia a nucleótidos, tales como ADN y ARN, y análogos nucleotídicos. Debe reconocerse que, en algunos aspectos, el término base nucleotídica también se puede usar para hacer referencia a un nucleótido que puede ser natural o no; a este respecto, el término base nucleotídica y nucleótido se pueden usar de forma intercambiable en el presente documento.

15 En algunas realizaciones, la secuencia nucleotídica contigua consiste en 7 análogos nucleotídicos. En algunas realizaciones, la secuencia nucleotídica contigua consiste en 8 análogos nucleotídicos. En algunas realizaciones, la secuencia nucleotídica contigua consiste en 9 análogos nucleotídicos.

20 Al menos un 70 % de los nucleótidos del oligómero son nucleótidos LNA, tal como al menos aproximadamente el 75 %, tal como al menos aproximadamente el 80 %, tal como al menos aproximadamente el 85 %, tal como al menos aproximadamente el 90 %, tal como al menos aproximadamente el 95 %, o tal como el 100 %. También será evidente que el oligonucleótido puede comprender una secuencia de nucleótidos que consiste únicamente en análogos nucleotídicos. Idóneamente, el oligómero puede comprender al menos cinco monómeros de LNA, tal como  
25 6, 7, 8, 9 o 10 monómeros de LNA. Como se describe más adelante, la secuencia de nucleótidos contigua puede consistir únicamente en unidades de LNA (incluidos grupos de enlace, tal como enlaces fosforotioato) o puede consistir en unidades de LNA o ADN, o LNA y otros análogos nucleotídicos. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos contigua comprende uno o dos nucleótidos de ADN, siendo el resto de los nucleótidos LNA.

30 En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en 6 análogos nucleotídicos de LNA y un único nucleótido de ADN. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en 7 análogos nucleotídicos de LNA y un único nucleótido de ADN. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en 8 análogos nucleotídicos de LNA y un único nucleótido de ADN. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en 9 análogos nucleotídicos de LNA y un único nucleótido de ADN. En algunas  
35 realizaciones, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en 7 análogos nucleotídicos de LNA y dos nucleótidos de ADN. En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en 8 análogos nucleotídicos de LNA y dos nucleótidos de ADN.

40 El oligómero puede consistir en la secuencia de nucleótidos contigua.

En una forma de realización especialmente preferida, todos los análogos nucleotídicos son LNA. En una forma de realización preferida adicional, todos los nucleótidos del oligómero son LNA. En una forma de realización preferida adicional, todos los nucleótidos del oligómero son LNA y todos los grupos de enlaces internucleosídicos son fosforotioato.

45 En el presente documento, con la expresión “base nitrogenada” se pretende abarcar purinas y pirimidinas, tal como las bases nucleotídicas de ADN A, C T y G, las bases nucleotídicas de ARN A, C, U y G, así como bases nucleotídicas que no son de ADN/ARN, tales como 5-metilcitosina, isocitosina (<sup>Me</sup>C), isocitosina, pseudocitosina, 5-bromouracilo, 5-propiniluracilo, 5-propinil-6-fluorouracilo, 5-metiltilazoluracilo, 6-aminopurina, 2-aminopurina, inosina, 2,6-diaminopurina, 7-propin-7-deazaadenina, 7-propin-7-deazaguanina y 2-cloro-6-aminopurina, en concreto <sup>Me</sup>C. Se entenderá que la selección actual de la base nucleotídica no ADN/ARN dependerá del correspondiente nucleótido (o coincidente) presente en la hebra del microARN al que se pretende dirigir el oligonucleótido. Por ejemplo, en el caso en el que el correspondiente nucleótido sea G, normalmente será necesario seleccionar una base nucleotídica no ADN/ARN que sea capaz de establecer puentes de hidrógeno con G. En este caso específico, en el que el  
50 nucleótido correspondiente es G, un ejemplo típico de una base nucleotídica no ADN/ARN es <sup>Me</sup>C.

Debe reconocerse que el término en “una realización” no necesariamente debe limitarse a hacer referencia a una realización específica sino que puede hacer referencia a una característica que puede estar presente en “algunas realizaciones” o incluso como característica genérica de la invención. Asimismo, el uso de la expresión “algunas realizaciones” puede usarse para describir una característica de una realización específica o un conjunto de características, o incluso como una característica genérica de la invención.

60 Los términos “correspondiente a” y “corresponde a” hacen referencia a la comparación entre la secuencia de nucleótidos del oligómero o la secuencia de nucleótidos contigua (una primera secuencia) y la secuencia de nucleótidos equivalente de una secuencia adicional seleccionada de i) una subsecuencia de la complementaria inversa del ácido nucleico microARN diana (tal como una diana de microARN seleccionada de las SEC ID 40 - SEC  
65

ID 76, y/o ii) la secuencia de nucleótidos proporcionada en el presente documento, tal como el grupo que consiste en las SEC ID N° 977 - 1913 o las SEC ID N° 1914 - 2850 o las SEC ID N° 2851 - 3787. Los análogos nucleotídicos se comparan directamente con sus nucleótidos equivalentes o correspondientes. Una primera secuencia que corresponde a una secuencia adicional en i) o ii) normalmente es idéntica a la secuencia sobre la longitud de la primera secuencia (tal como la secuencia de nucleótidos contigua).

Cuando se hace referencia a la longitud de una molécula nucleotídica como se hace referencia en el presente documento, la longitud corresponde al número de unidades monoméricas, es decir nucleótidos, con independencia de si las unidades monoméricas son nucleótidos o análogos nucleotídicos. Con respecto a los nucleótidos o bases nucleotídicas, los términos monómero y unidad se usan de forma intercambiable en el presente documento.

Debe entenderse que cuando el término "aproximadamente" se usa en el contexto de valores o intervalos de valores específicos, la divulgación se leerá de modo que incluya el valor o intervalo de valores específico al que se hace referencia.

Como se usa en el presente documento, "hibridación" significa unión de hidrógeno, que puede ser unión de Watson-Crick, de Hoogsteen, de hidrógeno de Hoogsteen inverso, etc. entre nucleósidos o bases nucleotídicas complementarias. Las cuatro bases nucleotídicas que normalmente se encuentran en el ADN son G, A, T y C, de las que G se aparea con C y A se aparea con T. En el ARN, la base nucleotídica T se sustituye por la base nucleotídica uracilo (U), que se aparea con A. Los grupos químicos en las bases nucleotídicas que participan en la formación del dúplex estándar constituyen la cara de Watson-Crick. Hoogsteen demostró un par de años después que las bases nucleotídicas de purina (G y A), además de su cara de Watson-Crick, tienen una cara de Hoogsteen que se puede reconocer desde el exterior de un dúplex y usarse para unir los oligonucleótidos de pirimidina a través de puentes de hidrógeno formando de este modo una estructura de triple hélice.

En el contexto de la presente invención, "complementario" se refiere a la capacidad para aparear de forma precisa dos secuencias de nucleótidos entre sí. Por ejemplo, si un nucleótido en una posición determinada de un oligonucleótido es capaz de unirse a través de hidrógeno con un nucleótido en la posición correspondiente de una molécula de ADN o de ARN, el oligonucleótido y el ADN o ARN se consideran complementarios entre sí en dicha posición. La hebra de ADN o ARN se consideran complementarios entre sí cuando un número suficiente de nucleótidos en el oligonucleótido pueden formar puentes de hidrógeno con los nucleótidos correspondientes en el ADN o ARN diana para permitir la formación de un complejo estable. Para ser estable *in vitro* o *in vivo*, la secuencia de un oligonucleótido no tiene que ser complementaria al 100 % de su microARN diana. Por tanto, las expresiones "complementario" y "específicamente hibridizable" implican que el oligonucleótido se une con la suficiente fuerza y de forma específica a la molécula diana para proporcionar la interferencia deseada con la función normal del ARNm diana mientras que no afecta a la función de los ARN no diana. No obstante, en una realización preferida, el término complementario deberá significar complementario al 100 % o completamente complementario.

En un ejemplo preferido, el oligonucleótido de la invención es complementario al 100 % de una secuencia de miARN, tal como una secuencia de microARN humano, o una de las secuencias de microARN a las que se hace referencia en el presente documento.

En un ejemplo preferido, el oligonucleótido de la invención comprende una secuencia contigua, que es complementaria al 100 % con la región semilla de la secuencia de microARN humano.

Preferentemente, el término "microARN" o "miARN", en el contexto de la presente invención, significa un ARN oligonucleótido con una longitud de entre 18 y 25 nucleótidos. En términos funcionales, los miARN normalmente son moléculas de ARN endógeno regulador.

Las expresiones "microARN diana" o "miARN diana" hacen referencia a un microARN con una función biológica en la enfermedad humana, por ejemplo un miARN oncogénico regulado por aumento o un miARN supresor tumoral en cáncer, siendo de este modo una diana para la intervención terapéutica de la enfermedad en cuestión.

Las expresiones "gen diana" o "ARNm diana" hace referencia a ARNm reguladores dianas de microARN, en los que dicho "gen diana" o "ARNm diana" está regulado postranscripcionalmente por el microARN basado en una complementariedad perfecta o casi perfecta entre el miARN y su sitio diana, lo que tiene como resultado una escisión del ARNm diana, o una complementariedad limitada, a menudo conferida a una complementariedad entre la denominada secuencia semilla (nucleótidos 2-7 del miARN) y el sitio diana que tiene como resultado una inhibición de la traducción del ARNm diana.

En el contexto de la presente invención, el oligonucleótido es monocatenario, esto se refiere a la situación en la que el oligonucleótido está en ausencia de un oligonucleótido complementario, es decir no es un complejo oligonucleotídico bicatenario, tal como un siARN. En una realización, la composición de acuerdo con la invención no comprende un oligonucleótido adicional que tiene una región de complementariedad con el oligómero de 5 o más, tal como 6, 7, 8, 9 o 10 nucleótidos consecutivos, tal como ocho o más.

Longitud

Sorprendentemente, los inventores han encontrado que dichos "antimiR" cortos proporcionan una mejor inhibición específica de los microARN *in vivo*, al tiempo que conservan una considerable especificidad por el microARN diana. Se ha encontrado como beneficio adicional la capacidad para inhibir varios microARN de forma simultánea debido a la conservación de secuencias cortas homólogas entre especies de microARN, tal como las regiones diana como se describe en el presente documento. De acuerdo con la presente invención, se ha descubierto que es particularmente ventajoso tener oligonucleótidos cortos de 7, 8, 9, 19 nucleótidos, tal como de 7, 8 o 9 nucleótidos.

Secuencias

La secuencia de nucleótidos contigua es complementaria (tal como complementaria al 100 %, es decir perfectamente complementaria) a una región correspondiente de una secuencia de microARN (miARN) de mamífero, humano o virus, preferentemente una secuencia de miARN humana o de virus.

La secuencia de microARN puede ser, idóneamente, un microARN maduro. En algunas realizaciones, el microARN puede ser un precursor de microARN.

La secuencia de microARN humano se puede seleccionar de las SEC ID N° 1 - 558, como se divulga en el documento WO 2008/046911. Como se describe en el documento WO 2008/046911, estos microARN están relacionados con cáncer.

La secuencia de microARN de virus, puede seleccionarse, en algunas realizaciones, del grupo que consiste en el virus 1 del herpes simple, virus herpes asociados con el sarcoma de Kaposi, virus de Epstein Barr y citomegalovirus humano.

En una realización, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria (tal como complementaria al 100 %) de una región correspondiente de una secuencia de miARN seleccionada del grupo de miARN indicado en la tabla 1. La tabla 1 proporciona oligómeros de 7 unidades, 8 unidades y 9 unidades, dirigidos a microARN diana humanos o virales publicados en la miRBase (versión 12.0 - <http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/>).

En algunas realizaciones, los oligómeros de acuerdo con la invención pueden consistir en, o comprender, una secuencia de nucleótidos contigua que es complementaria con una secuencia de microARN correspondiente seleccionada del grupo que consiste en miR-1, miR-10b, miR-17-3p, miR-18, miR-19a, miR-19b, miR-20, miR-21, miR-34a, miR-93, miR-106a, miR-106b, miR-122, miR-133, miR-134, miR-138, miR-155, miR-192, miR-194, miR-221, miR-222, miR-375.

Por tanto, en una realización, el miARN (es decir, el ARNm diana) se selecciona del grupo que consiste en miR-1, miR-10b, miR-17-3p, miR-18, miR-19a, miR-19b, miR-20, miR-21, miR-34a, miR-93, miR-106a, miR-106b, miR-122, miR-133, miR-134, miR-138, miR-155, miR-192, miR-194, miR-221, miR-222 y miR-375.

En una realización, el miARN diana es un miembro del clúster de miR 17 - 92, tal como miR 17, miR 106a, miR 106b, miR 18, miR 19a, miR 19b/1, miR 19b/2, miR20/93, miR92/1, miR92/2 y miR25.

En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a una región correspondiente de una secuencia de microARN (miARN) seleccionada del grupo que consiste en miR-21, miR-155, miR-221, miR-222 y miR-122.

En algunas realizaciones, dicho miARN se selecciona del grupo que consiste en miR-1, miR-10miR-29, miR-125b, miR-126, miR-133, miR-141, miR-143, miR-200b, miR-206, miR-208, miR-302, miR-372, miR-373, miR-375, y miR-520c/e.

En algunas realizaciones, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a una región correspondiente de una secuencia de microARN (miARN) presente en el clúster de miR 17 - 92, tal como un microARN seleccionado del grupo que consiste en miR-17-5p, miR-20a/b, miR-93, miR-106a/b, miR-18a/b, miR-19a/b, miR-25, miR-92a, miR-363.

En una realización, el miARN (es decir, el miARN diana) es miR-21, tal como hsa-miR-21. En una realización, el miARN (es decir, el miARN diana) es miR-122, tal como hsa-miR-122. En una realización, el miARN (es decir, el miARN diana) es miR-19b, tal como hsa-miR-19b. En una realización, el miARN (es decir, el miARN diana) es miR-155, tal como hsa-miR-155. En una realización, el miARN (es decir, el miARN diana) es miR-375, tal como hsa-miR-375. En una realización, el miARN (es decir, el miARN diana) es miR-375, tal como hsa-miR-106b.

Idóneamente, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a una región correspondiente de un microARN, tal como un hsa-miR, seleccionado del grupo que consiste en 19b, 21, 122, 155 y 375.

La región semilla y los seedmeros

Los inventores han encontrado que oligonucleótidos monocatenarios cortos cuidadosamente diseñados que comprenden o consisten en análogos nucleotídicos, tales como análogos nucleotídicos de alta afinidad tales como unidades de ácido nucleico bloqueado (LNA), muestran una silenciaci3n significativa de microARN, lo que tiene como resultado menores niveles de microARN. Se descubri3 que la uni3n estrecha de dichos oligonucle3tidos a la denominada secuencia semilla, normalmente los nucle3tidos de 2 a 8 o de 2 a 7, contando desde el extremo 5', de los microARN diana, era importante. El nucle3tido 1 de los microARN diana es una base no apareada y, con gran probabilidad, escondido en una cavidad de uni3n en la prote3na Ago 2. Sin desear quedar anclado a teor3a espec3fica alguna, los presentes inventores consideran que seleccionando las secuencias de la regi3n semilla, en particular con oligonucle3tidos que comprenden LNA, preferentemente unidades de LNA en la regi3n que es complementaria a la regi3n semilla, el d3plex entre miARN y el oligonucle3tido es particularmente eficaz sobre los miARN diana, evitando los efectos diana y posiblemente proporcionando una caracter3stica adicional que evita la funci3n del miARN dirigida a RISC.

Los inventores han descubierto que la silenciaci3n del microARN est3 todav3a m3s potenciada cuando los oligonucle3tidos monocatenarios modificados con LNA no contienen un nucle3tido en el extremo 3' correspondiente a este nucle3tido 1 no apareado. Adem3s se descubri3 que al menos dos unidades de LNA en el extremo 3' de los oligonucle3tidos de acuerdo con la presente invenci3n hac3an dichos oligonucle3tidos altamente resistentes a la nucleasa.

En una realizaci3n, el primero o el segundo nucle3tido en 3' del olig3mero corresponden al segundo nucle3tido en 5' de la secuencia del microARN y puede ser un an3logo nucleot3dico, tal como LNA.

En una realizaci3n, las unidades nucleot3dicas 1 a 6 (ambas incluidas) del olig3mero, medidas desde la regi3n en el extremo 3' del olig3mero, son complementarias a la secuencia de la regi3n semilla del microARN y todas pueden ser an3logos nucleot3dicos, tale como LNA.

En una realizaci3n, las unidades nucleot3dicas 1 a 7 (ambas incluidas) del olig3mero, medidas desde la regi3n en el extremo 3' del olig3mero, son complementarias a la secuencia de la regi3n semilla del microARN y todas pueden ser an3logos nucleot3dicos, tale como LNA.

En una realizaci3n, las unidades nucleot3dicas 2 a 7 (ambas incluidas) del olig3mero, medidas desde la regi3n en el extremo 3' del olig3mero, son complementarias a la secuencia de la regi3n semilla del microARN y todas pueden ser an3logos nucleot3dicos, tale como LNA.

En una realizaci3n, el olig3mero comprende al menos una unidad an3loga nucleot3dica, tal como al menos una unidad de LNA, en una posici3n que est3 dentro de la regi3n complementaria a la regi3n semilla del miARN. En una realizaci3n, el olig3mero puede comprender entre una y 6 o entre 1 y 7 unidades de an3logos nucleot3dicos, tal como entre 1 y 6 y entre 1 y 7 unidades de LNA, en una posici3n que est3 dentro de la regi3n complementaria a la regi3n semilla del miARN.

En una realizaci3n, la secuencia de nucle3tidos contigua consiste en o comprende una secuencia que es complementaria (tal como complementaria al 100 %) a la secuencia semilla de dicho microARN.

En una realizaci3n, la secuencia de nucle3tidos contigua consiste en o comprende una secuencia seleccionada de una cualquiera de las secuencias del seedmero enumeradas en la tabla 1.

En una realizaci3n, el nucle3tido en 3' del seedmero forma el nucle3tido m3s en 3' de la secuencia de nucle3tidos contigua, en la que la secuencia de nucle3tidos contigua puede comprender, opcionalmente, uno o dos nucle3tidos adicionales en 5' de la secuencia del seedmero.

En una realizaci3n, el olig3mero no comprende un nucle3tido que corresponde al primer nucle3tido presente en la secuencia de microARN contando desde el extremo 5'.

En una realizaci3n, el oligonucle3tido de acuerdo con la invenci3n no comprende un nucle3tido en el extremo 3' que corresponda al primer nucle3tido en el extremo 5' del microARN diana.

An3logos nucleot3dicos

De acuerdo con la presente invenci3n, se ha descubierto que es particularmente ventajoso tener oligonucle3tidos cortos de 7, 8, 9, 19 nucle3tidos, tal como de 7, 8 o 9 nucle3tidos, en los que al menos el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o tal como el 100 % de las unidades nucleot3dicas del olig3mero son nucle3tidos de LNA.

En algunas realizaciones, el oligonucle3tido de la invenci3n tiene una longitud de 7, 8 o 9 nucle3tidos y comprende una secuencia de nucle3tidos contigua que es complementaria de una regi3n semilla de un microARN humano o

viral y en el que al menos el 75 %, tal como al menos el 80 %, tal como al menos el 85 %, tal como al menos el 90 %, tal como al menos el 95 %, tal como al menos el 100 %, de los nucleótidos son unidades nucleotídicas de ácido nucleico bloqueado (LNA).

- 5 En dichos oligómeros, al menos uno de los grupos de enlace es un enlace fosforotioato.

En una realización, todas las unidades nucleotídicas de la secuencia de nucleótidos contigua son unidades nucleotídicas de LNA.

- 10 En una realización, la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 7, 8, 9 o 10 unidades nucleotídicas de LNA, preferentemente contiguas.

En una realización adicional preferida, el oligonucleótido de la invención tiene una longitud de 7, 8 o 9 nucleótidos y comprende una secuencia contigua de nucleótidos que es complementaria a una región semilla de un microARN humano o viral y en el que al menos el 80 % de los nucleótidos son LNA y en el que al menos el 80 %, tal como el 85 %, tal como el 90 %, tal como el 95 %, tal como el 100 %, de los enlaces internucleotídicos son enlaces fosforotioato. Se reconocerá que la secuencia contigua de nucleótidos del oligómero (un seedmero) puede extenderse más allá de la región semilla.

- 20 En algunas realizaciones, el oligonucleótido de la invención tiene una longitud de 7 nucleótidos, todos LNA.

En algunas realizaciones, el oligonucleótido de la invención tiene una longitud de 8 nucleótidos, de los cuales hasta 1 nucleótido puede ser distinto de LNA. En algunas realizaciones, el oligonucleótido de la invención tiene una longitud de 9 nucleótidos, de los cuales hasta 1 o 2 nucleótidos pueden ser distintos de LNA. En algunas realizaciones, el oligonucleótido de la invención tiene una longitud de 10 nucleótidos, de los cuales hasta 1, 2 o 3 nucleótidos pueden ser distintos de LNA. Los nucleótidos "distintos de LNA" pueden ser, por ejemplo, ADN o análogos nucleotídicos sustituidos en 2'.

- 30 Los análogos nucleotídicos de alta afinidad son análogos nucleotídicos que tienen como resultado oligonucleótidos que tienen una estabilidad térmica del dúplex con un nucleótido de ARN complementario mayor que la afinidad de unión de un nucleótido de ADN equivalente. Esto se puede determinar midiendo la  $T_m$ .

En algunas realizaciones se seleccionan otras unidades de análogos nucleotídicos presentes en la secuencia de nucleótidos contigua opcionalmente de forma independiente, del grupo que consiste en unidad 2'-O-alkil-ARN, unidad 2'-OMe-ARN, unidad 2'-amino-ADN, unidad 2'-fluoro-ADN, unidad PNA, unidad HNA, unidad INA y una unidad 2'MOE ARN.

- 40 En algunas realizaciones, las otras unidades de análogos nucleotídicos presentes en la secuencia de nucleótidos contigua se seleccionan, opcionalmente de forma independiente, del grupo que consiste en unidad 2'-O-alkil-ARN, unidad 2'-OMe-ARN, unidad 2'-amino-ADN, unidad 2'-fluoro-ADN y una unidad 2'MOE ARN.

El término 2'-fluoro-ADN hace referencia a un análogo de ADN con una sustitución a flúor en la posición 2' (2'F). 2'-fluoro-ADN es una forma preferida de 2'-fluoro-nucleótido.

- 45 En algunas realizaciones, el oligómero comprende al menos 5 unidades de análogos nucleotídicos, tal como al menos 6 unidades de análogos nucleotídicos, tal como al menos 7 unidades de análogos nucleotídicos, tal como al menos 8 unidades de análogos nucleotídicos, tal como al menos 9 unidades de análogos nucleotídicos, tal como 10 unidades de análogos nucleotídicos.

- 50 El oligómero comprende al menos 5 unidades LNA, tal como al menos 6 unidades LNA, tal como al menos 7 unidades LNA, tal como al menos 8 unidades LNA, tal como al menos 9 unidades LNA, tal como 10 unidades LNA.

En una realización en la que al menos uno de los análogos nucleotídicos, tal como unidades LNA, es citosina o guanina, tal como entre 1 - 10 de los análogos nucleotídicos, tal como unidades LNA, es citosina o guanina, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 de los análogos nucleotídicos, tal como unidades LNA, es citosina o guanina.

- 60 En una realización, al menos dos de los análogos nucleotídicos, tal como unidades LNA, son citosina o guanina. En una realización, al menos tres de los análogos nucleotídicos, tal como unidades LNA, son citosina o guanina. En una realización, al menos cuatro de los análogos nucleotídicos, tal como unidades LNA, son citosina o guanina. En una realización, al menos cinco de los análogos nucleotídicos, tal como unidades LNA, son citosina o guanina. En una realización, al menos seis de los análogos nucleotídicos, tal como unidades LNA, son citosina o guanina. En una realización, al menos siete de los análogos nucleotídicos, tal como unidades LNA, son citosina o guanina. En una realización, al menos ocho de los análogos nucleotídicos, tal como unidades LNA, son citosina o guanina.

- 65 En una realización preferida, los análogos nucleotídicos tienen una estabilidad térmica del dúplex para un nucleótido de ARN complementario mayor que la afinidad de unión de un nucleótido de ADN equivalente a dicho nucleótido de

ARN complementario.

En una realización, los análogos nucleotídicos confieren mayor estabilidad en suero al oligonucleótido monocatenario.

5 Aunque las SEC ID específicas en el listado de secuencias y la tabla 1 hacen referencia a los oligómeros de monómeros de LNA con una estructura de fosforotioato (PS), se reconocerá que la invención también abarca el uso de otros análogos nucleotídicos y/o enlaces, en combinación con LNA y al menos un enlace PS. Como tal, la secuencia de nucleótidos (bases) que se muestra en el listado de secuencias puede ser LNA/PS o puede ser oligómeros que comprenden una química estructural alternativa, tal como una química de azúcar/enlace, además de las unidades de LNA y el o los enlaces PS, al tiempo que conserva la misma secuencia de bases (A, T, C o G).

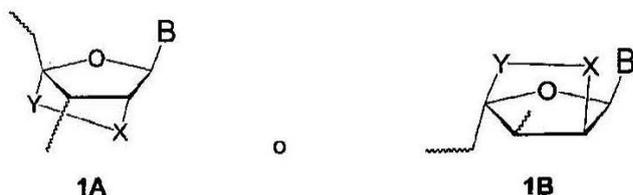
Aunque se prevé que otros análogos nucleotídicos, tales como nucleótidos 2'-MOE-ARN o 2'-fluoro, pueden ser útiles en los oligómeros de acuerdo con la invención, los oligómeros tienen al menos un 70 % de nucleótidos LNA.

15 El otro análogo nucleotídico puede ser un análogo de ADN tal como un análogo de ADN, en el que el grupo 2'-H está sustituido con una sustitución distinta a -OH (ARN), por ejemplo mediante sustitución con -O-CH<sub>3</sub>, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH o -F. El otro análogo nucleotídico puede ser un análogo de ARN, tal como un análogo de ARN que se ha modificado en su grupo 2'-OH, por ejemplo mediante sustitución con un grupo distinto de -H (ADN), por ejemplo O-CH<sub>3</sub>, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH o -F.

LNA

25 Cuando se usan en el presente contexto, las expresiones "unidad de LNA", "monómero de LNA", "residuo de LNA", "unidad de ácido nucleico bloqueado" o "residuo de ácido nucleico bloqueado" hacen referencia a un análogo de nucleósido bicíclico. Las unidades de LNA se describen en, entre otros, los documentos WO 99/14226, WO 00/56746, WO 00/56748, WO 01/25248, WO 02/28875, WO 03/006475 y WO 03/095467. La unidad de LNA puede también definirse con respecto a su fórmula química. Por tanto, una "unidad de LNA", como se usa en el presente documento, tiene la estructura química mostrada en el Esquema 1 a continuación:

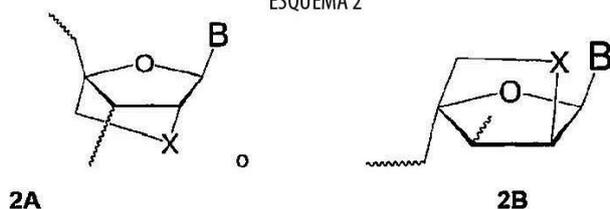
ESQUEMA 1



en el que X se selecciona del grupo que consiste en O, S y NR<sup>H</sup>, en la que R<sup>H</sup> es H o alquilo-C<sub>1-4</sub>; Y es (-CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>, en la que r es un número entero de 1-4; y B es una base nitrogenada.

35 En una realización preferida de la invención, r es 1 o 2, en particular 1, es decir una unidad de LNA preferida tiene la estructura química mostrada en el Esquema 2 siguiente:

ESQUEMA 2

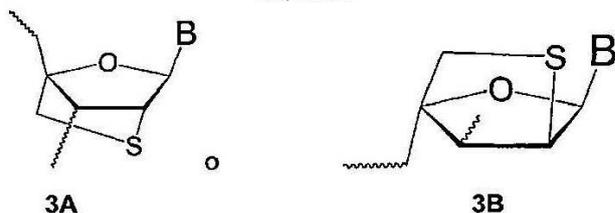


40 en el que X y B son como se ha definido con anterioridad.

En una realización interesante, las unidades de LNA incorporadas en los oligonucleótidos de la invención se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en unidades tio-LNA, unidades amino-LNA y unidades oxi-LNA.

Por tanto, la unidad tio-LNA puede tener la estructura química mostrada en el Esquema 3 siguiente:

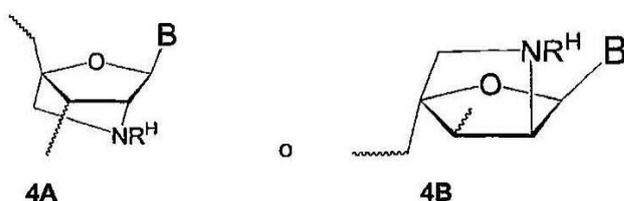
ESQUEMA 3



en el que B es como se ha definido anteriormente.

- 5 Preferentemente, la unidad tio-LNA está en su forma beta-D, es decir que tiene la estructura mostrada en 3A anterior, asimismo, la unidad amino-LNA puede tener la estructura química mostrada en el Esquema 4 siguiente:

ESQUEMA 4

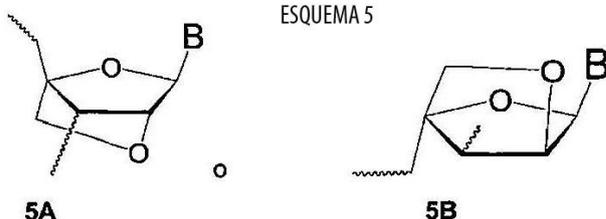


- 10 en el que B y R<sup>H</sup> como se ha definido con anterioridad.

Preferentemente, la unidad amino-LNA está en su forma beta-D, es decir que tiene la estructura mostrada en 4A anterior.

- 15 La unidad oxi-LNA puede tener la estructura química mostrada en el Esquema 5 siguiente:

ESQUEMA 5



en el que B es como se ha definido anteriormente.

- 20 Preferentemente, la unidad oxi-LNA está en su forma beta-D, es decir que tiene la estructura mostrada en 5A anterior. Como se ha indicado anteriormente, B es una base nitrogenada que puede ser de origen natural o no natural. Ejemplos específicos de bases nitrogenadas incluyen adenina (A), citosina (C), 5-metilcitosina (<sup>Me</sup>C), isocitosina, pseudocitosina, guanina (G), timina (T), uracilo (U), 5-bromouracilo, 5-propiniluracilo, 5-propinil-6-fluorouracilo, 5-metil-tiazoluracilo, 6-aminopurina, 2-aminopurina, inosina, 2,6-diaminopurina, 7-propin-7-deazaadenina, 7-propin-deazaguanina y 2-cloro-6-aminopurina.

La expresión "unidad tio-LNA" hace referencia a una unidad de LNA en la que X en el Esquema 1 es S. Una unidad tio-LNA puede estar en forma beta-D y en forma alfa-L. Generalmente, se prefiere la forma beta-D de la unidad tio-LNA. La forma beta-D y la forma alfa-L de una unidad tio-LNA se muestran en el Esquema 3 como los compuestos 3A y 3B, respectivamente.

El término "unidad amino-LNA" hace referencia a una unidad de LNA en la que X en el Esquema 1 es NH o NR<sup>H</sup>, en la que R<sup>H</sup> es hidrógeno o alquilo-C<sub>1-4</sub>. Una unidad amino-LNA puede estar tanto en forma beta-D como en forma alfa-L. Generalmente, se prefiere la forma beta-D de la unidad amino-LNA. La forma beta-D y la forma alfa-L de una unidad amino-LNA se muestran en el Esquema 4 como los compuestos 4A y 4B, respectivamente.

La expresión "unidad oxi-LNA" hace referencia a una unidad de LNA en la que X en el Esquema 1 es O. Una unidad oxi-LNA puede estar en forma beta-D y en forma alfa-L. Generalmente, se prefiere la forma beta-D de la unidad oxi-LNA. La forma beta-D y la forma alfa-L de una unidad oxi-LNA se muestran en el Esquema 5 como los compuestos 5A y 5B, respectivamente.

En el presente contexto, con el término “alquilo C<sub>1-6</sub>” se quiere decir una cadena de hidrocarburo saturado lineal o ramificada, en la que las cadenas más largas tienen de uno a seis átomos de carbono, tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, ventilo, isopentilo, neopentilo y hexilo. Con una cadena de hidrocarburo ramificada se pretende querer decir un alquilo-C<sub>1-6</sub> sustituido en cualquier carbono con una cadena de hidrocarburo.

En el presente contexto, con el término “alquilo C<sub>1-4</sub>” se quiere decir una cadena de hidrocarburo saturado lineal o ramificada, en la que las cadenas más largas tienen de uno a cuatro átomos de carbono, tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo y terc-butilo. Con una cadena de hidrocarburo ramificada se pretende querer decir un alquilo-C<sub>1-4</sub> sustituido en cualquier carbono con una cadena de hidrocarburo.

Cuando se usa en el presente documento, con el término “alcoxi-C<sub>1-6</sub>” se quiere decir alquilo-C<sub>1-6</sub>, tal como metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, pentoxi, isopentoxi, neopentoxi y hexoxi.

En el presente contexto, con el término “alqueno-C<sub>2-6</sub>” se pretende querer decir un grupo hidrocarburo lineal o ramificado que tiene de dos a seis átomos de carbono y que contiene uno o más dobles enlaces. Ejemplos ilustrativos de grupos alqueno-C<sub>2-6</sub> incluyen alilo, homo-alilo, vinilo, crotilo, butenilo, butadienilo, pentenilo, pentadienilo, hexenilo y hexadienilo. La posición de la insaturación (el doble enlace) puede estar en cualquier posición a lo largo de la cadena carbonada.

En el presente contexto, con el término “alquino-C<sub>2-6</sub>” se pretende querer decir un grupo hidrocarburo lineal o ramificado que tiene de dos a seis átomos de carbono y que contiene uno o más triples enlaces. Ejemplos ilustrativos de grupos alquino-C<sub>2-6</sub> incluyen acetileno, propinilo, butinilo, pentinilo y hexinilo. La posición de la insaturación (el triple enlace) puede estar en cualquier posición a lo largo de la cadena carbonada. Más de un enlace puede estar insaturado, de modo que el “alquino-C<sub>2-6</sub>” es un di-ino o enedi-ino, como conoce el experto en la técnica.

Al hacer referencia a la sustitución de una unidad de ADN por su correspondiente unidad de LNA en el contexto de la presente invención, con la expresión “unidad de LNA correspondiente” se pretende decir que la unidad de ADN se ha sustituido por una unidad de LNA que contiene la misma base nitrogenada que la unidad de ADN que se ha sustituido, por ejemplo la correspondiente unidad de LNA de una unidad de ADN que contiene la base nitrogenada A también contiene la base nitrogenada A. La excepción es que cuando una unidad de ADN contiene la base C, la correspondiente unidad de LNA puede contener la base C o la base <sup>Me</sup>C, preferentemente <sup>Me</sup>C.

En el presente documento, la expresión “unidad no LNA” hace referencia a un nucleósido diferente de una unidad de LNA, es decir la expresión “unidad no LNA” incluye una unidad de ADN así como una unidad de ARN. Una unidad no LNA preferida es una unidad de ADN.

Los términos “unidad”, “residuo” y “monómero” se usan de forma intercambiable en el presente documento.

La expresión “al menos uno” abarca un número entero mayor o igual a 1, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y así sucesivamente.

Con los términos “un” y “uno/una” como se usa sobre un nucleótido, un agente, una unidad de LNA etc. se pretende decir uno o más. En concreto, la expresión “un componente (tal como un nucleótido, un agente, una unidad de LNA o similares) seleccionado del grupo que consiste en...” se pretende decir que se puede seleccionar uno o más de los componentes citados. Por tanto, expresiones como “un componente seleccionado del grupo que consiste en A, B y C” se pretende que incluyan todas las combinaciones de A, B y C, es decir A, B, C, A+B, A+C, B+C y A+B+C.

#### Enlaces internucleosídicos

Con la expresión “grupo de enlace internucleosídico” se pretende decir un grupo capaz de acoplar covalentemente dos nucleótidos, tal como entre unidades de ADN, entre unidades de ADN y análogos nucleotídicos, entre dos unidades no-LNA, entre una unidad no LNA y una unidad de LNA, y entre dos unidades de LNA etc. Ejemplos incluyen fosfato, grupos fosfodiéster y grupos fosforotioato.

En algunas realizaciones, al menos uno de los enlaces internucleosídicos en el oligómero es fosfodiéster. No obstante, para el uso *in vivo* se pueden preferir los enlaces fosforotioato.

Grupos de enlace internucleosídico típicos en los oligonucleótidos son grupos fosfato, pero estos se pueden reemplazar con grupos enlace internucleosídico que no sean fosfato. El oligonucleótido de la invención está modificado en su estructura del grupo de enlace internucleosídico, es decir el oligonucleótido modificado comprende un grupo de enlace internucleosídico que no es fosfato. De acuerdo con lo anterior, el oligonucleótido de acuerdo con la presente invención comprende al menos un grupo de enlace internucleosídico fosforotioato.

Ejemplos específicos de grupos de enlaces internucleosídicos que difieren de fosfato (-O-P(O)<sub>2</sub>-O-) incluyen -O-

5 P(O,S)-O-, -O-P(S)<sub>2</sub>-O-, -S-P(O)<sub>2</sub>-O-, -S-P(O,S)-O-, -S-P(S)<sub>2</sub>-O-, -O-P(O)<sub>2</sub>-S-, -O-P(O,S)-S-, -S-P(O)<sub>2</sub>-S-, -O-PO(R<sup>H</sup>)-O-, O-PO(OCH<sub>3</sub>)-O-, -O-PO(NR<sup>H</sup>)-O-, -O-PO(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S-R)-O-, -O-PO(BH<sub>3</sub>)-O-, -O-PO(NHR<sup>H</sup>)-O-, -O-P(O)<sub>2</sub>-NR<sup>H</sup>-, -NR<sup>H</sup>-P(O)<sub>2</sub>-O-, -NR<sup>H</sup>-CO-O-, -NR-CO-NR<sup>H</sup>-, -O-CO-O-, -O-CO-NR<sup>H</sup>-, -NR<sup>H</sup>-CO-CH<sub>2</sub>-, -O-CH<sub>2</sub>-CO-NR<sup>H</sup>-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NR<sup>H</sup>-, -CO-NR<sup>H</sup>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-NR<sup>H</sup>-CO-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CO-NR<sup>H</sup>-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NR<sup>H</sup>-CO-, -CH<sub>2</sub>-NCH<sub>3</sub>-O-CH<sub>2</sub>-, en los que R<sup>H</sup> se selecciona de hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>.

10 Cuando el grupo de enlace internucleosídico está modificado, el grupo de enlace internucleosídico es, preferentemente, un grupo fosforotioato (O-P(O,S)-O-). En una realización preferida, todos los grupos de enlace internucleosídico de los oligonucleótidos de acuerdo con la presente invención son fosforotioato.

15 Otro enlace internucleosídico se puede seleccionar del grupo que consiste: -O-P(O)<sub>2</sub>-O-, -O-P(O,S)-O-, -O-P(S)<sub>2</sub>-O-, -S-P(O)<sub>2</sub>-O-, -S-P(O,S)-O-, -S-P(S)<sub>2</sub>-O-, "O" P(O)<sub>2</sub>"S", -O-P(O,S)-S-, -S-P(O)<sub>2</sub>-S-, -O-PO(R<sup>H</sup>)-O-, O-PO(OCH<sub>3</sub>)-O-, -O-PO(NR<sup>H</sup>)-O-, -O-PO(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S-R)-O-, -O-PO(BH<sub>3</sub>)-O-, -O-PO(NHR<sup>H</sup>)-O-, -O-P(O)<sub>2</sub>-NR<sup>H</sup>-, -NR<sup>H</sup>-P(O)<sub>2</sub>-O-, -NR<sup>H</sup>-CO-O-, -NR<sup>H</sup>-CO-NR<sup>H</sup>-, y/u otro enlace internucleosídico puede seleccionarse del grupo que consiste en: -O-CO-O-, -O-CO-NR<sup>H</sup>-, -NR<sup>H</sup>-CO-CH<sub>2</sub>-, -O-CH<sub>2</sub>-CO-NR<sup>H</sup>-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NR<sup>H</sup>-, -CO-NR<sup>H</sup>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-NR<sup>H</sup>-CO-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CO-NR<sup>H</sup>-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NR<sup>H</sup>-CO-, -CH<sub>2</sub>-NCH<sub>3</sub>-O-CH<sub>2</sub>-, en los que R<sup>H</sup> se selecciona de hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>. Idóneamente, en algunas realizaciones se pueden preferir enlaces internucleosídicos que contienen azufre (S) como se ha indicado en lo que antecede. Los enlaces internucleosídicos se pueden seleccionar de forma independiente, o ser todos iguales, es decir enlaces fosforotioato.

20 En una realización, al menos el 75 %, tal como el 80% u 85% o 90% o 95% o todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleótidos de la secuencia de nucleótidos contigua son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.

#### 25 Oligonucleótidos micromir dirigidos a más de un microARN

25 En una realización, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a la correspondiente secuencia de al menos dos secuencias de miARN, tales como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 secuencias de miARN. El uso de una única base universal puede dejar dirigir un único oligómero de la invención a dos microARN independientes, de los que uno o los dos tienen una única coincidencia errónea en la región que corresponde al oligómero en la posición en la que está colocado el nucleótido universal.

30 En una realización, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia que es complementaria a la secuencia de al menos dos secuencias de la región semilla de miARN, tales como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 secuencias de la región semilla de miARN.

35 En una realización, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a la correspondiente región de miR-221 y miR-222.

40 En una realización, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a la región correspondiente de más de un miembro del clúster de miR-17-92, tal como dos o más o todos de miR-17-5p, miR-20a/b, miR-93, miR-106a/b; o dos o más o todos de miR-25, miR-92a y miR-363..

45 En una realización, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia que es complementaria a 5'GCTACAT3'.

#### 50 Diseño del oligómero

50 En una realización, el primer nucleótido del oligómero de acuerdo con la presente invención, contando desde el extremo 3', es un análogo nucleotídico, tal como una unidad de LNA. En una realización, que puede ser igual o diferente, el último nucleótido del oligómero de acuerdo con la invención, contando desde el extremo 3', es un análogo nucleotídico, tal como una unidad de LNA.

55 En una realización, el segundo nucleótido del oligómero de acuerdo con la presente invención, contando desde el extremo 3', es un análogo nucleotídico, tal como una unidad de LNA.

En una realización, el noveno y/o décimo nucleótido del oligómero de acuerdo con la presente invención, contando desde el extremo 3', es un análogo nucleotídico, tal como una unidad de LNA.

60 En una realización, el noveno nucleótido del oligómero de acuerdo con la presente invención, contando desde el extremo 3', es un análogo nucleotídico, tal como una unidad de LNA.

En una realización, el décimo nucleótido del oligómero de acuerdo con la presente invención, contando desde el extremo 3', es un análogo nucleotídico, tal como una unidad de LNA.

65 En una realización, tanto el noveno como el décimo nucleótido del oligómero de acuerdo con la presente invención, calculado desde el extremo 3', es un análogo nucleotídico, tal como una unidad de LNA.

En una realización, el oligómero de acuerdo con la invención no comprende una región de más de 3 unidades nucleotídicas de ADN consecutivas, En una realización, el oligómero de acuerdo con la invención no comprende una región de más de 2 unidades nucleotídicas de ADN consecutivas,

5 En una realización, el oligómero comprende al menos una región que consiste en al menos dos unidades de análogos nucleotídicos consecutivos, tal como al menos dos unidades de LNA consecutivas.

10 En una realización, el oligómero comprende al menos una región que consiste en al menos tres unidades de análogos nucleotídicos consecutivos, tal como al menos tres unidades de LNA consecutivas.

Otros patrones de análogos nucleotídicos tales como LNA en el oligómero

15 Aunque se prevé que puede ser preferible los oligómeros que contienen al menos 6 LNA, tal como al menos 7 unidades de nucleótidos de LNA, el descubrimiento de que dichos oligómeros cortos son muy eficaces al estar dirigidos a microARN *in vivo* puede usarse para preparar oligómeros más cortos de la invención que comprendan otros análogos nucleotídicos, tales como análogos nucleotídicos de alta afinidad. De hecho, la combinación de LNA con otros análogos nucleotídicos de alta afinidad se considera parte de la presente invención.

20 Modificación de los nucleótidos en las posiciones 1 a 2 contando desde el extremo 3'. El nucleótido en las posiciones 1 y/o 2 puede ser un análogo nucleotídico, tal como un análogo nucleotídico de alta afinidad, tal como LNA, o un análogo nucleotídico seleccionado del grupo que consiste en unidad 2'-O-alkil-ARN, unidad 2'-OMe-ARN, unidad 2'-amino-ADN, unidad 2'-fluoro-ADN, unidad 2'-MOE-ARN, unidad LNA, unidad PNA, unidad HNA, unidad INA. Por tanto, los dos nucleótidos en 3' pueden ser Xx, xX, XX o xx, en los que: En una realización, X es LNA y x es ADN u  
25 otro análogo nucleotídico, tal como un análogo nucleotídico sustituido en 2' seleccionado del grupo que consiste en unidad 2'-O-alkil-ARN, unidad 2'-OMe-ARN, unidad 2'-amino-ADN, unidad 2'-fluoro-ADN, LNA y una unidad 2'MOE ARN. Dicha unidad no LNA (x) puede ser, por tanto, 2'MOE ARN o 2-fluoro-ADN. Como alternativa, X es un análogo nucleotídico y x es ADN.

30 La modificación anterior en los 2 nucleótidos en el extremo 3' se puede combinar con la modificación de nucleótidos en las posiciones 3 - 8 contando desde el extremo 3', como se describe más adelante. A este respecto, los nucleótidos designados como X y x pueden ser iguales a lo largo del oligómero. Cabe destacar que cuando el oligómero tiene una longitud de únicamente 7 nucleótidos, el 8º nucleótido contando desde el extremo 3' se debe descartar. En las realizaciones siguientes que hacen referencia a la modificación de los nucleótidos en las  
35 posiciones 3 a 8 contando desde el extremo 3':

X es LNA.

40 En una realización, cuando el oligómero tiene una longitud de al menos 8 nucleótidos de la invención, los oligonucleótidos de la invención están modificados en las posiciones 3 a 8, contando desde el extremo 3'. El diseño de esta secuencia se puede definir con el número de unidades no LNA presentes o con el número de unidades de LNA presentes.

45 En una realización adicional, cuando el oligómero tiene una longitud de al menos 8 nucleótidos de la invención, el oligonucleótido de acuerdo con la presente invención comprende al menos cuatro unidades de LNA en las posiciones tres a ocho, contando desde el extremo 3'. En una realización de la misma, el oligonucleótido de acuerdo con la presente invención comprende cuatro unidades de LNA en las posiciones tres a ocho, contando desde el extremo 3'. El patrón de sustitución para los nucleótidos en las posiciones tres a ocho, contando desde el extremo 3', se puede seleccionar del grupo que consiste en xxXXXX, XXXxXx y XXXXxx, donde "X" indica una unidad de LNA y  
50 "x" indica una unidad no LNA.

55 En otra realización adicional, cuando el oligómero tiene una longitud de al menos 8 nucleótidos de la invención, el oligonucleótido de acuerdo con la presente invención comprende al menos cinco unidades de LNA en las posiciones tres a ocho, contando desde el extremo 3'. En una realización de la misma, el oligonucleótido de acuerdo con la presente invención comprende cinco unidades de LNA en las posiciones tres a ocho, contando desde el extremo 3'. El patrón de sustitución para los nucleótidos en las posiciones tres a ocho, contando desde el extremo 3', se puede seleccionar del grupo que consiste en xxxxxx, Xxxxxx, XXxxxx, XXXxxx, XXXxxX y XXXXXx, donde "X" indica una unidad de LNA y "x" indica una unidad no LNA.

60 En otra realización adicional, cuando el oligómero tiene una longitud de al menos 8 nucleótidos de la invención, el oligonucleótido de acuerdo con la presente invención comprende al menos seis unidades de LNA en las posiciones tres a ocho, contando desde el extremo 3'.

65 En algunas realizaciones, cuando X es LNA, dicha unidad no LNA (x) es otra unidad de análogo nucleotídico, tal como un análogo nucleotídico sustituido en 2' seleccionado del grupo que consiste en unidad 2'-O-alkil-ARN,

unidad 2'-OMe-ARN, unidad 2'-amino-ADN, unidad 2'-fluoro-ADN, LNA y una unidad 2'MOE ARN. Dicha unidad no LNA (x) puede ser, por tanto, 2'MOE ARN o 2-fluoro-ADN.

5 Para los oligómeros que tienen 9 o 10 nucleótidos, el nucleótido en las posiciones 9 y/o 10 puede ser un análogo nucleotídico, tal como un análogo nucleotídico de alta afinidad, tal como LNA, o un análogo nucleotídico seleccionado del grupo que consiste en unidad 2'-O-alkuil-ARN, unidad 2'-OMe-ARN, unidad 2'-amino-ADN, unidad 2'-fluoro-ADN, unidad 2'-MOE-ARN, unidad LNA, unidad PNA, unidad HNA, unidad INA. Por tanto, los dos nucleótidos en 5' pueden ser

10 Xx, xX, XX o xx, en las que: En una realización, X es LNA y x es ADN u otro análogo nucleotídico, tal como un análogo nucleotídico sustituido en 2' seleccionado del grupo que consiste en unidad 2'-O-alkuil-ARN, unidad 2'-OMe-ARN, unidad 2'-amino-ADN, unidad 2'-fluoro-ADN y una unidad 2'MOE ARN. Dicha unidad no LNA (x) puede ser, por tanto, 2'MOE ARN o 2-fluoro-ADN.

15 La modificación anterior en los 2 nucleótidos en el extremo 5' se puede combinar con la modificación de nucleótidos en las posiciones 3 - 8 contando desde el extremo 3', y/o los 2 nucleótidos en 3', como se ha descrito con anterioridad. A este respecto, los nucleótidos designados como X y x pueden ser iguales a lo largo del oligómero.

20 En una realización preferida de la invención, el oligonucleótido de acuerdo con la presente invención contiene una unidad de LNA en el extremo 5'. En otra realización preferida, el oligonucleótido de acuerdo con la presente invención contiene una unidad de LNA en las primeras dos posiciones, contando desde el extremo 5'.

25 En una realización, la invención proporciona además un oligómero como se describe en el contexto de la composición farmacéutica de la invención o para usar *in vivo* en un organismo, tal como un medicamento, en la que dicho oligómero (o secuencia de nucleótidos contigua) comprende

- i) al menos un enlace fosforotioato y
- ii) al menos una unidad de LNA en el extremo 3', y/o
- iii) al menos una unidad de LNA en el extremo 5'.

30 Por tanto, el oligómero contiene al menos un enlace fosforotioato, siendo todos los enlaces fosforotioatos, y puede contener al menos una unidad de LNA en el extremo 3', y al menos una unidad LNA en el extremo 5'.

35 Para la mayoría de los usos terapéuticos es preferible que el oligonucleótido esté completamente fosforotiolado, siendo una excepción los oligonucleótidos terapéuticos para uso en el SNC, tal como en el cerebro o la columna vertebral, lugares en los que la fosforotiolación puede ser tóxica, y debido a la ausencia de nucleasas, se pueden usar enlaces fosfodiéster, incluso entre unidades de ADN consecutivas.

40 Como se hace referencia en el presente documento, otro en otro aspecto del oligonucleótido de acuerdo con la invención es que el segundo nucleótido en 3' y/o el 9º y 10º (desde el extremo 3', si está presente, puede también ser LNA.

45 En una realización, el oligómero comprende al menos cinco unidades de análogos nucleotídicos de LNA, tal como en las posiciones que son complementarias a la región semilla del miARN.

50 En una realización, la secuencia de nucleótidos del oligómero que es complementaria a la secuencia de la región semilla de microARN se selecciona del grupo que consiste en (X)xXXXXXX, (X)XxX)CXX, (X)XXxXXX, (X)XXXxXX, (X)XXXXxX and (X)XXXXXx, en las que "X" indica una unidad de LNA, (X) indica un análogo nucleotídico opcional, tal como una unidad de LNA, y "x" indica una unidad nucleotídica de ADN o ARN.

55 En una realización, el oligómero comprende seis o siete unidades de LNA, en las posiciones que son complementarias a la región semilla del miARN.

60 En una realización, la secuencia de nucleótidos del oligómero que es complementaria a la secuencia de la región semilla de microARN se selecciona del grupo que consiste en (XXXXXX, XxXXXXX, XXxXXXX, XXXxXXX, XXXXxXX, XXXXXxX y XXXXXXx, en las que "X" indica una unidad de LNA, tal como una unidad de LNA y "x" indica una unidad nucleotídica de ADN o ARN.

65 En una realización, los dos motivos nucleotídicos en la posición 7 a 8, contando desde el extremo 3' del oligómero, se seleccionan del grupo que consiste en xx, XX, xX y Xx, en las que "X" indica un análogo nucleotídico, tal como una unidad de LNA, tal como una unidad de LNA, y "x" indica una unidad nucleotídica de ADN o ARN.

En una realización, los dos motivos nucleotídicos en la posición 7 a 8, contando desde el extremo 3' del oligómero, se seleccionan del grupo que consiste en XX, xX and Xx, en las que "X" indica un análogo nucleotídico, tal como una unidad de LNA, tal como una unidad de LNA, y "x" indica una unidad nucleotídica de ADN o ARN.

En una realización, el oligómero comprende una unidad de análogo nucleotídico, tal como una unidad de LNA, en el extremo 5'.

5 En una realización, otras unidades de análogos nucleotídicos se seleccionan de forma independiente del grupo que consiste en: una unidad 2'-O-alquilo-RNA, una unidad 2'-OMe-RNA, una unidad 2'-amino-ADN, unidad 2'-fluoro-ADN, una unidad 2'-MOE-ARN, una unidad PNA, una unidad HNA, una unidad INA.

En una realización, todos los nucleótidos del oligómero de la invención son unidades de análogos nucleotídicos.

10 En una realización, el oligómero comprende unidades de análogos de LNA y al menos una unidad de análogo nucleotídico adicional distinta a LNA.

En una realización, la unidad o unidades de análogo nucleotídico no LNA se seleccionan de forma independiente de unidades 2'-OMe-ARN y unidades 2'-fluoro-ADN.

15 En una realización, el oligómero consiste en al menos una secuencia XYX o YXY, en la que X es LNA e Y es una unidad 2'-OMe-ARN y una unidad 2'-fluoro-ADN.

20 En una realización, el oligómero comprende unidades de LNA y ADN alternantes (Xx) o (xX). En una realización, el oligómero comprende un motivo de LNA alternantes seguidas de 2 unidades de ADN (Xxx), xXx o xxX.

Diseños adicionales para oligómeros de la invención

25 La tabla 1 más adelante proporciona ejemplos no limitantes de secuencias de microARN cortos a las que ventajosamente se podría dirigir un oligonucleótido de la presente invención.

Los oligonucleótidos de acuerdo con la invención, como los divulgados en la tabla 1 pueden tener, en una realización, una secuencia de 7, 8, 9 o 10 nucleótidos de LNA 5' - 3' LLLLLL(L)(L)(L), en la que L= LNA y los residuos entre paréntesis son opcionales.

30 Composición farmacéutica y aplicación médica

El oligómero de la invención se puede usar en una composición farmacéutica que comprende el oligómero de acuerdo con la invención y un diluyente, vehículo, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

35 La invención proporciona además el uso de un oligonucleótido de acuerdo con la invención, tal como los que pueden formar parte de la composición farmacéutica, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión (regulación por aumento) del microARN.

40 La composición se puede usar en un procedimiento para tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión del microARN, que comprende la etapa de administrar a una persona que necesite dicho tratamiento una composición (tal como la composición farmacéutica) de acuerdo con la invención.

45 La invención proporciona además un procedimiento in vitro para reducir la cantidad eficaz de un miARN en una célula u organismo, que comprende administrar a la célula u organismo una composición (tal como la composición farmacéutica) de acuerdo con la invención o un oligómero de acuerdo con la invención. En este contexto, reducir la cantidad eficaz hace referencia a la reducción del miARN funcional presente en la célula u organismo. Se reconoce que los oligonucleótidos preferidos de acuerdo con la invención no siempre pueden reducir significativamente la cantidad real de miARN en la célula u organismo, ya que normalmente forman dúplex muy estables con sus miARN diana. La reducción de la cantidad eficaz de miARN en una célula puede medirse, en una realización, detectando el nivel de desrepresión de la diana del miARN en la célula.

50 La invención proporciona además un procedimiento in vitro para la des-represión de un ARNm diana de un miar en una célula u organismo, que comprende administrar a la célula u organismo una composición (tal como la composición farmacéutica) o un oligómero de acuerdo con la invención.

55 La invención proporciona además el uso del oligómero de una longitud de entre 7 y 10, tal como 7, 8, 9 o 10, nucleótidos, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión del microARN.

En una realización, la afección médica (o enfermedad) es hepatitis C (VHC) y el miARN es miR-122.

65 En una realización, la composición farmacéutica es para uso en el tratamiento de un trastorno médico o enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: infección por el virus de la hepatitis C e hipercolesterolemia y trastornos relacionados, y cánceres.

En una realización, el trastorno médico o enfermedad es una enfermedad del SNC, tal como una enfermedad del SNC en la que están indicados uno o más microARN.

5 En el contexto de los trastornos relacionados con la hipercolesterolemia se hace referencia a enfermedades tales como aterosclerosis o hiperlipidemia. Ejemplos adicionales de enfermedades relacionadas también incluyen tipos diferentes de desequilibrio del colesterol HDULDL; dislipidemias, por ejemplo hiperlipidemias combinada familiar (HLCF), hiperlipidemia adquirida, hipercolesterolemia resistente a estatinas, arteriopatía coronaria (CAD), cardiopatía coronaria (CHD), aterosclerosis.

10 En una realización, la composición farmacéutica comprende además un segundo principio activo independiente que es un inhibidor de la vía de ensamblaje de las VLDL, tal como un inhibidor de la ApoB, o un inhibidor de las MTP (como los divulgados en el documento US 60/977497).

15 La composición se puede usar en un procedimiento para tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión del microARN, que comprende la etapa de administrar a una persona que necesite dicho tratamiento una composición (tal como la composición farmacéutica) que comprende un oligómero de acuerdo con la invención.

20 La invención proporciona además un procedimiento in vitro para reducir la cantidad eficaz de una diana de miARN (es decir, miARN "disponible") en una célula u organismo, que comprende administrar a la célula u organismo una composición (tal como la composición farmacéutica) que comprende un oligómero de acuerdo con la invención.

25 Debe reconocerse que "reducir la cantidad eficaz" de uno o más microARN en una célula u organismo se refiere a la inhibición de la función de microARN en la célula u organismo. La célula es, preferentemente, una célula de mamífero o una célula humana que expresa el microARN o varios microARN.

30 La invención proporciona además un procedimiento in vitro para la des-represión de un ARNm diana de un miARN en una célula u organismo, que comprende un oligómero de acuerdo con la invención o (o una composición que comprende dicho oligonucleótido) a la célula u organismo.

35 Como se ha mencionado anteriormente, los microARN están relacionados con una serie de enfermedades. Por tanto, el oligonucleótido como se ha definido en el presente documento se puede usar para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada con la expresión de microARN seleccionados del grupo que consiste en atrofia muscular espinal, síndrome de Tourette, hepatitis C, retraso mental por cromosoma X frágil, síndrome de DiGeorge y cáncer, tal como, en un ejemplo no limitante, leucemia linfocítica crónica, cáncer de mama, cáncer de pulmón y cáncer de colon, en concreto cáncer.

#### Procedimientos de síntesis

40 Del oligómero de la invención dirigido contra un microARN humano, tal como un oligómero descrito en el presente documento se puede sintetizar mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

- 45 a. Seleccionar opcionalmente un primer nucleótido, contando desde el extremo 3', que es un nucleótido LNA.
- b. Seleccionar opcionalmente un segundo nucleótido, contando desde el extremo 3', que es un nucleótido LNA.
- 50 c. Seleccionar una región del oligómero que corresponde a la región semilla del miARN, en el que dicha región es como se ha definido en el presente documento.
- d. Seleccionar un séptimo, y opcionalmente un octavo, nucleótido como se ha definido en el presente documento.
- e. Seleccionar opcionalmente uno o dos más en 5' del oligómero como se ha definido en el presente documento.

55 En el que la síntesis se realiza mediante síntesis secuencial de las regiones definidas en las etapas a - e, en el que dicha síntesis se puede realizar en dirección 3'-5' (a - f) o 5' - 3' (e - a) y en el que dicho oligómero es complementario de una secuencia del miARN diana.

60 El oligómero de acuerdo con la invención se puede preparar mediante un procedimiento que comprende las etapas de a) comparar las secuencias de dos o más secuencias de miARN para identificar dos o más secuencias de miARN que comprenden una secuencia de nucleótidos contigua común de una longitud de al menos 7 nucleótidos, tal como una longitud de 7, 8, 9 o 10 nucleótidos (es decir, una secuencia encontrada en ambos miARN no idénticos), b) preparar una secuencia de oligómero que consiste en o comprende una secuencia de nucleótidos contigua que es complementaria a dicha secuencia de nucleótidos contigua común, en el que dicho oligómero es de acuerdo con el  
65 oligómero de la invención. En un ejemplo preferido, la secuencia de nucleótidos contigua común consiste en o comprende la región semilla de cada uno de dichas dos o más secuencias de miARN (que comprenden una

secuencia de nucleótidos contigua común de una longitud de al menos 6 nucleótidos). En una realización, las regiones semilla de los dos o más miARN son idénticas. Idóneamente, el oligómero consiste en o comprende una secuencia de seedmero de una longitud de 7 u 8 nucleótidos que comprende una secuencia que es complementaria de dichos dos o más miARN. Este procedimiento se puede usar junto con la etapa c del procedimiento anterior.

5 El procedimiento para la síntesis del oligómero se puede realizar usando síntesis estándar de oligonucleótidos en fase sólida.

10 En una realización, el procedimiento para la síntesis de un oligómero dirigido contra un microARN humano se realiza en dirección 3' a 5' a-e.

15 Un aspecto adicional de la invención es un procedimiento in Vitro para reducir los niveles de microARN diana poniendo en contacto el microARN diana con un oligonucleótido de acuerdo con la invención, en el que el oligonucleótido (i) es complementario de la secuencia de microARN diana (ii) no contiene un nucleótido en el extremo 3' que corresponda al primer nucleótido en el extremo 5' del microARN diana.

#### Estabilidad del dúplex y $T_m$

20 En una realización, el oligómero de la invención es capaz de formar un dúplex con una molécula de ácido nucleico ARN monocatenario complementaria (normalmente de aproximadamente la misma longitud de dicho oligonucleótido monocatenario) con enlaces internucleosídicos fosfodiéster, en el que el dúplex tiene una  $T_m$  de entre 30 °C y 70 °C u 80 °C, tal como entre 30 °C y 60 °C o 70 °C, o entre 30 °C y 50 °C o 60 °C. En una realización, la  $T_m$  desde al menos 40 °C. La  $T_m$  se puede determinar determinando la  $T_m$  del oligómero y un ARN diana complementario en las siguientes condiciones tampón. NaCl 100 mM, EDTA 0,1 mM, Na-fosfato 10 mM, pH 7,0 (véase en los ejemplos un protocolo detallado). Un análogo de alta afinidad se puede definir como un análogo que, cuando se usa en el oligómero de la invención, tiene como resultado un incremento de la  $T_m$  del oligómero en comparación con un oligómero idéntico que contiene únicamente bases de ADN.

#### Conjugados

30 En una realización, dicho oligómero está conjugado con uno o más compuestos no nucleotídicos (o polinucleotídicos).

35 En el contexto, con el término "conjugado" se pretende indicar una molécula heterogénea formada por la unión covalente ("conjugación") del oligómero como se describe en el presente documento a uno o más restos no nucleotídicos o no polinucleotídicos. Ejemplos de más restos no nucleotídicos o no polinucleotídicos incluyen agentes macromoleculares, tales como proteínas, cadenas de ácidos grasos, residuos de azúcares, glucoproteínas, polímeros o combinaciones de los mismos. Normalmente, las proteínas pueden ser anticuerpos frente a una proteína diana. Los polímeros típicos pueden ser polietilenglicol.

40 Por tanto, en varias realizaciones el oligómero de la invención puede comprender una región polinucleotídica que normalmente consiste en una secuencia contigua de nucleótidos y una región no nucleotídica adicional. En referencia al oligómero de la invención que consiste en una secuencia contigua de nucleótidos, el compuesto puede comprender componentes no nucleotídicos, tales como un componente conjugado.

45 En varias realizaciones de la invención, el compuesto oligomérico está unido a ligandos/conjugados, que pueden usarse para, por ejemplo, aumentar la captación celular de compuestos oligoméricos. El documento WO 2007/031091 proporciona ligandos y conjugados adecuados.

50 La invención también proporciona un conjugado que comprende el compuesto de acuerdo con la invención como se describe en el presente documento y al menos un resto no nucleotídico o no polinucleotídico unido covalentemente a dicho compuesto. Por tanto, en varias realizaciones en las que el compuesto de la invención consiste en un ácido nucleico o una secuencia nucleotídica especificados, como se divulga en el presente documento, el compuesto puede comprender también al menos un resto no nucleotídico o no polinucleotídico (p. ej., que no comprende uno o más nucleótidos o análogos nucleotídicos) unido covalentemente a dicho compuesto.

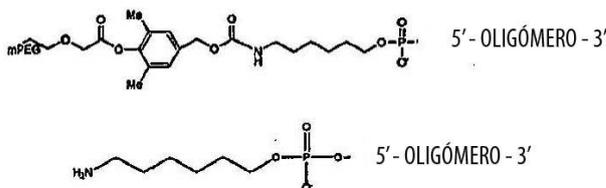
60 La conjugación (a un resto conjugado) puede potenciar la actividad, la distribución celular o la captación celular del oligómero de la invención. Dichos restos incluyen, entre otros, anticuerpos, polipéptidos, restos lipídicos tales como un resto de colesterol, ácido cólico, un tioéter, por ejemplo hexil-s-tritilol, un tiocolesterol, una cadena alifática, por ejemplo dodecadiol o residuos de undecilo, un fosfolípido, por ejemplo di-hexadecil-rac-glicerol o trietilamonio 1,2-di-o-hexadecil-rac-glicero-3-h-fosfonato, una poliamina o una cadena de polietilenglicol, Un ácido adamantano acético, un resto de palmitilo, una octadecilamina o un resto de hexilamino-carbonil-oxicolesterol.

65 Los oligómeros de la invención también pueden estar conjugados con sustancias farmacológicas activas, por ejemplo aspirina, ibuprofeno, un fármaco sulfa, un antidiabético, un antibacteriano o un antibiótico.

En ciertas realizaciones, el resto conjugado es un esteroide, tal como colesterol.

En varias realizaciones, el resto conjugado comprende o consiste en un polímero cargado positivamente, tal como péptidos cargados positivamente de una longitud de, por ejemplo, entre 1 y 50, tal como 2-20, tal como 3-10  
 5 residuos aminoácidos y/u óxido de polialquileno tal como polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol, véase el documento WO 2008/034123. Idóneamente, el polímero cargado positivamente, tal como un óxido de polialquileno puede estar unido al oligómero de la invención a través de un ligador tal como el ligador liberable descrito en el documento WO 2008/034123.

10 A modo de ejemplo, en los conjugados de la invención se pueden usar los siguientes restos conjugados:



### Oligómeros activados

15 La expresión "oligómero activado", como se usa en el presente documento, hace referencia a un oligómero de la invención que está unido covalentemente (es decir, funcionalizado) a al menos un resto funcional que permite la unión covalente del oligómero a uno o más restos conjugados, es decir restos que no son en sí mismos ácidos nucleicos o monómeros, para formar los conjugados descritos en el presente documento. Normalmente, un resto  
 20 funcional comprenderá un grupo químico que es capaz de unirse de forma covalente al oligómero a través de, por ejemplo, un grupo 3'-hidroxilo o el grupo  $\text{NH}_2$  exocíclico de la base adenina, un espaciador que es, preferentemente, un grupo hidrofílico y terminal que es capaz de unirse a un resto conjugado (p. ej., un grupo amino, sulfhidrilo o hidroxilo). En algunas realizaciones, este grupo terminal no está protegido, por ejemplo es un grupo  $\text{NH}_2$ . En otras realizaciones, el grupo terminal está protegido, por ejemplo mediante cualquier grupo protector adecuado tal como los descritos en 'Protective Groups in Organic Synthesis', de Theodorora W. Greene y Peter G. M. Wuts, 3ª Edición  
 25 (John Wiley & Sons, 1999). Ejemplos de grupos protectores hidroxilo adecuados incluyen ésteres tales como éster de acetato, grupos aralquilo tal como bencilo, difenilmetilo o trifenilmetilo y tetrahidropiraniolo. Ejemplos de grupos protectores amino adecuados incluyen bencilo, alfa-metilbencilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, benciloxicarbonilo, terc-butoxicarbonilo y grupos acilo tales como tricloroacetilo o trifluoroacetilo. En algunas realizaciones, el resto funcional es de autoescisión. En otras realizaciones, el resto funcional es biodegradable. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. nº 7.087.229.

En algunas realizaciones, los oligómeros de la invención están funcionalizados en el extremo 5' con el fin de permitir la unión covalente del resto conjugado al extremo 5' del oligómero. En otras realizaciones de la invención, los  
 35 oligómeros de la invención pueden estar funcionalizados en el extremo 3'. En otras realizaciones más, los oligómeros de la invención pueden estar funcionalizados a lo largo de la estructura o en el resto de base heterocíclica. En otras realizaciones más, los oligómeros de la invención pueden estar funcionalizados en más de una posición seleccionada de forma independiente del extremo 5'. El extremo 3', la estructura y la base.

40 En algunas realizaciones, los oligómeros activados de la invención se sintetizan incorporando durante la síntesis uno o más monómeros que están unidos covalentemente a un resto funcional. En otras realizaciones, los oligómeros activados de la invención se sintetizan con monómeros que no se han funcionalizado y el oligómero se funcionaliza tras la finalización de la síntesis. En algunas realizaciones, los oligómeros están funcionalizados con un éster impedido que contiene un ligador aminoalquilo, en el que la porción alquilo tiene la fórmula  $(\text{CH}_2)_w$ , en la que w es un número entero que varía de 1 a 10, preferentemente aproximadamente 6, en el que la porción alquilo del grupo  
 45 alquilamino puede ser de cadena lineal o de cadena ramificada, y en el que el grupo funcional está unido al oligómero a través de un grupo éster  $(-\text{O}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_w\text{NH})$ .

En otras realizaciones, los oligómeros están funcionalizados con un éster impedido que contiene un ligador  $(\text{CH}_2)_w$ -sulfhidrilo (SH), en el que w es un número entero que varía de 1 a 10, preferentemente aproximadamente 6, en el que la porción alquilo del grupo alquilamino puede ser de cadena lineal o de cadena ramificada, y en el que el grupo funcional está unido al oligómero a través de un grupo éster  $(-\text{O}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_w\text{NH})$ .

55 En algunas realizaciones, los oligonucleótidos activados por sulfhidrilo están conjugados con restos poliméricos tales como polietilenglicol o péptidos (mediante la formación de un puente disulfuro).

Los oligómeros activados que contienen ésteres impedidos como se ha descrito con anterioridad se pueden sintetizar mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica y, en concreto, mediante procedimientos divulgados en la publicación PCT nº WO 2008/034122 y los ejemplos en la misma.

En otras realizaciones más, los oligómeros de la invención se funcionalizan introduciendo grupos sulfhidrilo, amino o hidroxilo en el oligómeros por medio de un reactivo de funcionalización sustancialmente como se describe en las patentes de EE.UU. nº 4.962.029 y 4.914.210, es decir un reactivo sustancialmente lineal que tiene una fosforoamidita en un extremo unida a través de una cadena espaciadora hidrofílica al extremo opuesto, que comprende un grupo sulfhidrilo, amino o hidroxilo protegido o no protegido. Dichos reactivos reaccionan principalmente con grupos hidroxilo del oligómeros. En algunas realizaciones, dichos oligómeros activados tienen un reactivo de funcionalización acoplado a un grupo 5'-hidroxilo del oligómero. En otras realizaciones, los oligómeros activados tienen un reactivo de funcionalización acoplado a un grupo 3'-hidroxilo. En otras realizaciones más, los oligómeros activados de la invención tienen un reactivo de funcionalización acoplado a un grupo hidroxilo sobre la estructura del oligómero. En otras realizaciones adicionales, el oligómeros de la invención está funcionalizado con más de uno de los reactivos de funcionalización como se describe en las patentes de EE.UU. nº 4.962.029 and 4.914.210. Procedimientos de sintetizar dichos reactivos de funcionalización y de incorporarlos en monómeros y oligómeros se divulgan en las patentes de EE.UU. nº 4.962.029 y 4.914.210.

En algunas realizaciones, el extremo 5' de un oligómeros unido en fase sólida está funcionalizado con un derivado dienilfosforoamidita, seguido de la conjugación del oligómeros desprotegido con, por ejemplo, un aminoácido o péptido mediante una reacción de cicloadición de Diels-Alder.

En varias realizaciones, la incorporación de monómeros que contienen modificaciones de 2'-azúcar, tal como un azúcar sustituido con 2'-carbamato o un azúcar desoxirribosa-2'-(O-pentil-N-ftalimido) en el oligómero facilita la unión covalente de restos conjugados a los azúcares de oligómero. En otras realizaciones se prepara un oligómeros con un ligador que contiene amino en la posición 2' de uno o más monómeros usando un reactivo tal como, por ejemplo, 5'-dimetoxitritil-2'-O-(e-ftalimidilaminopentil)-2'-desoxiadenosina-3'-- N,N-diisopropil-cianoetoxi fosforoamidita. Véase, por ejemplo, Manoharan, y col., Tetrahedron Letters, 1991, 34, 7171.

En otras realizaciones adicionales, los oligómeros de la invención pueden tener restos funcionales que contienen amina sobre el nucleótido, incluido sobre los grupos amino de purina N6, sobre el N2 exocíclico de la guanina o sobre las posiciones N4 o 5 de la citosina. En varias realizaciones, dicha funcionalización se puede conseguir usando un reactivo comercial que ya está funcionalizado en la síntesis del oligómero.

Algunos restos funcionales están disponibles comercialmente, por ejemplo restos de unión heterobifuncional y homobifuncional están disponibles en Pierce Co. (Rockford, Ill.). Otros grupos de unión disponibles comercialmente son los reactivos 5'-amino-modificador C6 y 3'-amino-modificador, ambos disponibles en Glen Research Corporation (Sterling, Va.). El 5'-amino-modificador también está disponible en ABI (Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.) como Aminolink-2, y 3'-Amino-Modificador también está disponible en Clontech Laboratories Inc. (Palo Alto, Calif.).

#### Terapia y composiciones farmacéuticas- formulación y administración

Como se ha explicado inicialmente, los oligonucleótidos de la invención constituirán fármacos adecuados con propiedades mejoradas. El diseño de un fármaco potente y seguro requiere un ajuste fino de varios parámetros tales como afinidad/especificidad, estabilidad en los fluidos biológicos, captación celular, modo de acción, propiedades farmacocinéticas y tonicidad.

De acuerdo con lo anterior, en un aspecto adicional el oligómero se puede usar en una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido de acuerdo con la invención y un diluyente, vehículo, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, dicho vehículo es solución salina o solución salina tamponada.

En otro aspecto adicional, la presente invención se refiere un oligonucleótido de acuerdo con la presente invención para su uso como medicamento.

Como se entenderá, la dosificación depende de la gravedad y la capacidad de respuesta del estado de enfermedad que se va a tratar y el curso de tratamiento que dura de varios días a varios meses o hasta que se efectúa una cura y se consigue una disminución del estado de la enfermedad. Pautas de dosificación óptimas se pueden calcular a partir de mediciones de la acumulación del fármaco en el cuerpo del paciente. Las dosificaciones óptimas pueden variar en función de la potencia relativa de los oligonucleótidos individuales. En general, se puede estimar sobre la base de las CE<sub>50</sub> que se ha encontrado que son eficaces en modelos animales *in vitro* e *in vivo*. En general, la dosificación es de 0,01 µg a 1 g por kg de peso corporal y se puede administrar una o más veces al día, a la semana, al mes o al año, o incluso una vez cada de 2 a 10 años o mediante infusión continua durante de horas a varios meses. Las tasas de repetición para la administración de la dosis se pueden estimar sobre la base de los tiempos de residencia medidos y las concentraciones del fármaco en los fluidos o tejidos corporales. Tras un tratamiento con éxito, puede ser deseable someter al paciente a terapia de mantenimiento para prevenir la recurrencia del estado de la enfermedad.

Como se ha indicado anteriormente, la invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos un oligonucleótido de la invención como principio activo. Debe entenderse que la composición

farmacéutica de acuerdo con la invención comprende, opcionalmente, un vehículo farmacéutico, y que la composición farmacéutica comprende, opcionalmente, otros compuestos tales como compuestos quimioterapéuticos, compuestos antiinflamatorios, compuestos antivirales y/o compuestos inmunomoduladores.

- 5 Los oligonucleótidos de la invención se pueden emplear "como tales" o en forma de una variedad de sales farmacéuticamente aceptables. Como se usa en la presente memoria, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que conservan la actividad biológica deseada de los oligonucleótidos identificados en el presente documento y que exhiben efectos toxicológicos indeseados mínimos. Ejemplos no limitantes de estas sales se pueden formar con aminoácido orgánico y sales de adición de base formadas con cationes metálicos tales como cinc, calcio, bismuto, bario, magnesio, aluminio, cobre, cobalto, níquel, cadmio, sodio, potasio y similares, o con un catión formado de amoniaco, N,N-dimenciletilen-diamina, D-glucosamina, tetraetilamonio o etilendiamina.

- 15 En una realización de la invención, el oligonucleótido puede estar en forma de un profármaco. Los oligonucleótidos son en virtud iones cargados negativamente. Debido a la naturaleza lipofílica de las membranas celulares, la captación celular de oligonucleótidos se reduce en comparación con los equivalentes neutros o lipófilos. Esta "hidrancia" de polaridad se puede evitar usando el enfoque del profármaco (véase, por ejemplo, Crooke, R. M. (1998) in Crooke, S. T., Antisense Research and Application Springer-Verlag, Berlin, Alemania, vol. 131, pág. 103-140).

- 20 Los agentes de unión y adyuvantes farmacéuticamente aceptables pueden formar parte del fármaco formulado.

- Ejemplos de procedimientos de liberación para liberar los agentes terapéuticos descritos en el presente documento, así como detalles de las formulaciones farmacéuticas, sales, pueden estar bien descritos en otros lugares, por ejemplo en las solicitudes provisionales de EE.UU. 60/838710 y 60/788995, y en las solicitudes danesas PA 2006 00615.

- 30 Las composiciones farmacéuticas incluyen, entre otras, soluciones, emulsiones y formulaciones que contienen liposomas. Estas composiciones pueden generarse a partir de una variedad de componentes que incluyen, entre otros, líquidos preformados, sólidos autoemulsionantes y semisólidos autoemulsionantes. La liberación del fármaco al tejido tumoral puede potenciarse mediante liberación mediada por transportador incluidos, entre otros, liposomas cariónicos, ciclodextrinas, derivados de porfirina, dendrímeros de cadena ramificada, polímeros de polietilenimina, nanopartículas y microesferas (Dass CR. J Pharm Pharmacol 2002; 54(1):3-27). Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, que se pueden presentar de forma conveniente en forma de monodosis, se pueden preparar de acuerdo con técnicas convencionales bien conocidas en la industria farmacéutica. Dichas técnicas incluyen la etapa de poner en contacto los ingredientes activos con el(los) transportador(es) farmacéutico(s) o excipiente(s). En general, las formulaciones se preparan poniendo en contacto de forma uniforme y estrecha los ingredientes activos con vehículos de líquidos o transportadores sólidos finamente divididos o con ambos y, después, en caso necesario, dando forma al producto. Las composiciones de la presente invención pueden formularse en cualquiera de muchas formas de dosificación posibles, tales como, entre otros, comprimidos, cápsulas, cápsulas de gel, jarabes líquidos, geles blandos y supositorios. Las composiciones también se pueden formular en forma de suspensiones en medio acuoso, no acuoso o mixto. Las suspensiones acuosas pueden contener además sustancias que incrementan la viscosidad de la suspensión, incluidas, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, sorbitol y/o dextrano. La suspensión también puede contener estabilizantes. Los compuestos de la invención también pueden estar conjugados con sustancias farmacológicas activas, por ejemplo aspirina, ibuprofeno, un fármaco sulfa, un antidiabético, un antibacteriano o un antibiótico.

- 50 En otra realización, las composiciones pueden contener uno o más compuestos oligonucleotídicos dirigidos a un primer microARN y uno o más compuestos oligonucleotídicos adicionales dirigidos a un segundo microARN diana. Dos o más compuestos combinados se pueden usar juntos o de forma secuencial.

- Los compuestos divulgados en el presente documento son útiles para una serie de aplicaciones terapéuticas, como se ha indicado anteriormente. En general, los procedimientos terapéuticos incluyen la administración a un mamífero, en particular a un ser humano, de una cantidad terapéuticamente eficaz de un oligonucleótido. En una determinada realización, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen (a) uno o más compuestos de la invención y (b) uno o más agentes quimioterapéuticos. Cuando se usan con los compuestos de la invención, dichos agentes quimioterapéuticos se pueden usar individualmente, secuencialmente o en combinación con uno o más de estos otros agentes quimioterapéuticos o en combinación con radioterapia. Todos los compuestos quimioterapéuticos conocidos para un experto en la técnica se incorporan en el presente documento como tratamientos de combinación con un compuesto de acuerdo con la invención. Otros agentes activos, tales como fármacos antiinflamatorios, incluidos, entre otros, fármacos antiinflamatorios no esteroideos y corticosteroides, fármacos antivirales y fármacos inmunomoduladores, también se pueden combinar en composiciones de la invención. Dos o más compuestos combinados se pueden usar juntos o de forma secuencial.

- Ejemplos de indicaciones terapéuticas que se pueden tratar con las composiciones farmacéuticas de la invención:

65

microRNA	Posibles indicaciones médicas
miR-1	Arritmia cardíaca
miR-21	Glioblastoma, cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, cáncer colorrectal, sensibilización de gliomas a fármacos citotóxicos, hipertrofia cardíaca
miR-21, miR-200b y miR-141	Respuesta a quimioterapia y regulación del crecimiento del colangiocarcinoma
miR-122	Hipercolesterolemia, infección por hepatitis C, hemocromatosis
miR-19b	Linfoma y otros tipos de tumores
miR-26a	Diferenciación en osteoblastos de las células madre humanas
miR-155	Linfoma, desarrollo de tumor pancreático, cáncer de mama y de pulmón
miR-203	Psoriasis
miR-375	Diabetes, trastornos metabólicos, secreción de insulina inducida por glucosa desde las células endocrinas pancreáticas
miR-181	Diferenciación de mioblastos, trastornos autoinmunitarios
miR-10b	Invasión y metástasis de células de cáncer de mama
miR-125b-1	Cáncer de mama, pulmón, ovarios y cervical
miR-221 y 222	Carcinoma de próstata, cáncer papilar tiroideo humano, carcinoma hepatocelular humano
miR-372 y -373m	Tumores de células germinales testiculares
miR-142	Leucemia de linfocitos B
Clúster de miR-17 - 19b	Linfomas de linfocitos B, cáncer de pulmón, carcinoma hepatocelular

El ARNm del gen supresor tumora de la tropomiosina 1 (TPM1) se ha indicado como diana de miR-21. El ARNm de la miotrofina (mtpn) se ha indicado como diana de miR 375.

- 5 En todavía un aspecto adicional, el oligonucleótido de acuerdo con la invención se puede usar para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: aterosclerosis, hipercolesterolemia e hiperlipidemias, cáncer, glioblastoma, cáncer de mama, linfoma, cáncer de pulmón, diabetes, trastornos metabólicos, diferenciación de mioblastos, trastornos inmunitarios.
- 10 Los oligonucleótidos de acuerdo con la invención pueden ser para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: aterosclerosis, hipercolesterolemia e hiperlipidemias, cáncer, glioblastoma, cáncer de mama, linfoma, cáncer de pulmón, diabetes, trastornos metabólicos, diferenciación de mioblastos, trastornos inmunitarios.
- 15 Los oligómeros de la invención se pueden usar en un procedimiento de tratamiento de un sujeto que sufre una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en: aterosclerosis, hipercolesterolemia e hiperlipidemias, cáncer, glioblastoma, cáncer de mama, linfoma, cáncer de pulmón, diabetes, trastornos metabólicos, diferenciación de mioblastos, trastornos inmunitarios, comprendiendo el procedimiento la etapa de administrar al sujeto que lo necesite un oligonucleótido o composición farmacéutica de la invención.
- 20 Los oligómeros se pueden usar en un kit que comprende una composición farmacéutica de acuerdo con la invención y un segundo principio activo independiente que es un inhibidor de la vía de ensamblaje de las VLDL, tal como un inhibidor de la ApoB o un inhibidor de las MTP.
- 25 Cáncer
- El oligonucleotido de acuerdo con la invención se puede usar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer. En otro aspecto, los oligómeros de la invención se pueden usar en un procedimiento para el tratamiento, o la profilaxis, del cáncer, comprendiendo dicho procedimiento la administración a un paciente que lo necesite un oligonucleótido de la invención o una composición farmacéutica de la invención.
- 30 Dichos cánceres pueden incluir neoplasia linfocítica, leucemia linfoblástica, tumores cerebrales, tumores gástricos, plasmocitomas, mieloma múltiple, leucemia, tumores del tejido conjuntivo, linfomas y tumores sólidos.
- 35 En el uso de un compuesto de la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer,

dicho cáncer puede estar, idóneamente, en forma de un tumor sólido. De un modo análogo, en el procedimiento para el tratamiento del cáncer divulgado en el presente documento, dicho cáncer puede estar, idóneamente, en forma de un tumor sólido.

5 Además, dicho cáncer es, también idóneamente, un carcinoma. Normalmente, el carcinoma se selecciona del grupo que consiste en melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma ovárico, carcinoma de mama, cáncer pulmonar macrocítico, carcinoma de células renales, carcinoma de vejiga urinara, cáncer de cejiga urinaria superficial recurrente, carcinoma de estómago, carcinoma de próstata, carcinoma pancreático, carcinoma pulmonar, carcinoma cervical, displasia cervical, papilomatosis laríngea, carcinoma de colon, carcinoma colorrectal y tumores  
10 carcinoides. Más típicamente, dicho carcinoma se selecciona del grupo que consiste en melanoma maligno, cáncer de pulmón macrocítico, carcinoma de mama, carcinoma de colon y carcinoma de células renales. Normalmente, el melanoma maligno se selecciona del grupo que consiste en melanoma de diseminación superficial, melanoma nodular, melanoma léntigo maligno, melanoma acral, melanoma amelanótico y melanoma desmoplástico.

15 Como alternativa, el cáncer puede ser, idóneamente, un sarcoma. Normalmente, el sarcoma está en la forma seleccionada del grupo que consiste en osteosarcoma, sarcoma de Ewing, condrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, fibrosarcoma y sarcoma de Kaposi.

20 Como alternativa, el cáncer puede ser, idóneamente, un glioma.

Una realización adicional está dirigida al uso de un oligonucleótido de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en el que dicho medicamento comprende además un agente quimioterapéutico seleccionado del grupo constituido por adrenocorticosteroides, tales como prednisona, desametasona o decadrón:altermamina (hexaleno, hexametilmelamina (HMM)); amifostina (etioli); aminoglutetimida  
25 (cytadren); amsacrina (M-AMSA); anastrozol (arimidex); andrógenos, tales como testosterona; asparaginasa (elspar); bacilo de calmette-guerin; bicalutamida (casodex); bleomicina (blenoxano); busulfán (myleran); carboplatino (paraplatino); carmustina (BCNU, BiCNU); clorambucilo (leukeran); clorodesoxiadenosina (2-CDA, cladribina, leustatina); cisplatino (platinol); citosina arabinósido (citarabina); dacarbazina (DTIC); dactinomicina (actinomicina-D, cosmegen); daunorubicina (cerubidina); docetaxel (taxotere); doxorubicina (adriomicina); epirubicina; estramustina (emcyt); estrógenos, tales como dietilestilbestrol (DES); etópsido (VP-16, VePesid, etopofos); fludarabina (fludara); flutamida (eulexina); 5-FUDR (floxuridina); 5-fluorouracilo (5-FU); gemcitabina (gemzar); goderelina (zodalex); herceptina (trastuzumab); hidroxurea (hidrea); idarubicina (idamicina); ifosfamida; IL-2 (proleucina, aldesleuquina); interferón alfa (intrón A, roferón A); irinotecán (camptosar); leuprólido (luprón); levamisol (ergamisol); lomustina (CCNU); mecloratamina (mustargen, mostaza de nitrógeno); melfalán (alqueran); mercaptopurina (purinetol, 6-MP);  
30 metotrexato (mexato); mitomicina-C (mutamucina); mitoxantrona (novantrona); octreótida (sandostatina); pentostatina (2-desoxicoformicina, nipent); plicamicina (mitracina); prorocarbazina (matulano); estrptozocona; tamoxifeno (nolvadex); taxol (paclitaxel); tenipósido (vurmon, VM-26); tiotepa; topotecán (hicamtin); tretinoína (vesanoide, ácido retinoico todo trans); vinblastina (valbán); vincristina (oncovin) y vinorelbina (navelbina). Idóneamente, el agente quimioterapéutico adicional se selecciona de taxanos tales como Taxol, Paclitaxel o Docetaxel.  
40

De un modo similar, la invención también está dirigida al uso de un oligonucleótido de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en el que dicho tratamiento comprende además la administración de un agente quimioterapéutico adicional seleccionado del grupo constituido por  
45 adrenocorticosteroides, tales como prednisona, desametasona o decadrón:altermamina (hexaleno, hexametilmelamina (HMM)); amifostina (etioli); aminoglutetimida (cytadren); amsacrina (M-AMSA); anastrozol (arimidex); andrógenos, tales como testosterona; asparaginasa (elspar); bacilo de calmette-guerin; bicalutamida (casodex); bleomicina (blenoxano); busulfán (myleran); carboplatino (paraplatino); carmustina (BCNU, BiCNU); clorambucilo (leukeran); clorodesoxiadenosina (2-CDA, cladribina, leustatina); cisplatino (platinol); citosina arabinósido (citarabina); dacarbazina (DTIC); dactinomicina (actinomicina-D, cosmegen); daunorubicina (cerubidina); docetaxel (taxotere); doxorubicina (adriomicina); epirubicina; estramustina (emcyt); estrógenos, tales como dietilestilbestrol (DES); etópsido (VP-16, VePesid, etopofos); fludarabina (fludara); flutamida (eulexina); 5-FUDR (floxuridina); 5-fluorouracilo (5-FU); gemcitabina (gemzar); goderelina (zodalex); herceptina (trastuzumab); hidroxurea (hidrea); idarubicina (idamicina); ifosfamida; IL-2 (proleucina, aldesleuquina); interferón alfa (intrón A, roferón A); irinotecán (camptosar); leuprólido (luprón); levamisol (ergamisol); lomustina (CCNU); mecloratamina (mustargen, mostaza de nitrógeno); melfalán (alqueran); mercaptopurina (purinetol, 6-MP); metotrexato (mexato); mitomicina-C (mutamucina); mitoxantrona (novantrona); octreótida (sandostatina); pentostatina (2-desoxicoformicina, nipent); plicamicina (mitracina); prorocarbazina (matulano); estrptozocona; tamoxifeno (nolvadex); taxol (paclitaxel); tenipósido (vurmon, VM-26); tiotepa; topotecán (hicamtin); tretinoína (vesanoide, ácido retinoico todo trans); vinblastina (valbán); vincristina (oncovin) y vinorelbina (navelbina). Idóneamente, dicho tratamiento comprende además la administración de un agente quimioterapéutico adicional seleccionado de taxanos tales como Taxol, Paclitaxel o Docetaxel.  
60

Los oligómeros de la invención se pueden usar en un procedimiento para el tratamiento del cáncer, comprendiendo  
65 dicho procedimiento la administración a un paciente que lo necesite un oligonucleótido de la invención o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención y que además comprende la administración de un agente

quimioterapéutico adicional. Dicha administración adicional puede ser tal que el agente quimioterapéutico adicional está conjugado al compuesto de la invención, está presente en la composición farmacéutica o se administra en una formulación separada.

#### 5 Enfermedades infecciosas

Se contempla que los compuestos de la invención pueden ser ampliamente aplicables a un amplio abanico de enfermedades infecciosas, tales como difteria, tétanos, pertussis, polio, hepatitis B, hepatitis C, hemophilus influenza, sarampión, paperas y rubéola.

10 Hsa-miR122 está indicado en la infección de hepatitis C y como tal, los oligonucleótidos de acuerdo con la invención dirigidos a miR-122 se pueden usar para tratar la infección de hepatitis C.

15 De acuerdo con lo anterior, el oligonucleótido de acuerdo con la invención se puede usar para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad infecciosa, además de un procedimiento para tratar una enfermedad infecciosa, en el que dicho procedimiento comprende administrar a un paciente que lo necesite un oligonucleótido de acuerdo con la invención o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

20 En una realización preferida, el oligómero de la invención se puede usar en un tratamiento de combinación que proporciona un oligómero anti miR-12 en combinación con un inhibidor del ensamblaje de las VLDL, tal como un inhibidor de la apoB, o de las MTP.

#### Enfermedades inflamatorias

25 La respuesta inflamatoria es un mecanismo esencial de defensa del organismo contra el ataque de agentes infecciosos y también está implicada en la patogenia de muchas enfermedades agudas y crónicas, incluidos trastornos autoinmunitarios. A pesar de ser necesaria para combatir a los patógenos, los efectos de una descarga inflamatoria pueden ser devastadores. Por tanto, a menudo es necesario restringir la sintomatología de la inflamación con el uso de fármacos antiinflamatorios. La inflamación es un proceso complejo que normalmente es desencadenado por lesiones tisulares que incluye la activación de una gran serie de enzimas, el incremento de la permeabilidad vascular y la extravasación de fluidos de la sangre, migración celular y liberación de mediadores químicos, todos dirigidos tanto a la destrucción como a la reparación del tejido dañado.

35 En otro aspecto más, el oligonucleotido de acuerdo con la invención se puede usar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria.

40 En una realización preferida de la invención, la enfermedad inflamatoria es una enfermedad reumática y/o enfermedades del tejido conjuntivo, tales como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico (LES) o lupus, esclerodermia, polimiositis, enfermedad intestinal inflamatoria, dermatomiositis, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, vasculitis, artritis psoriásica, dermatitis psoriásica exfoliativa, pénfigo vulgar y síndrome de Sjorgren, en concreto enfermedad intestinal inflamatoria y enfermedad de Crohn.

45 Como alternativa, la enfermedad inflamatoria puede ser una inflamación no reumática, como bursitis, sinovitis, capsulitis, tendinitis y/u otras lesiones inflamatorias de origen traumático y/o deportivo.

#### Enfermedades metabólicas

50 Una enfermedad metabólica es un trastorno causado por la acumulación de sustancias químicas producidas de forma natural en el cuerpo. Normalmente estas enfermedades son graves, algunas incluso potencialmente mortales. Otras pueden ralentizar el desarrollo físico o producir retraso mental. La mayoría de los lactantes con estos trastornos no muestran signos obvios de enfermedad al principio. Un cribado adecuado en el momento del nacimiento a menudo puede descubrir estos problemas. Con un diagnóstico y tratamiento tempranos, las enfermedades metabólicas a menudo se pueden tratar con eficacia.

55 En otro aspecto más, el oligonucleotido de acuerdo con la invención o un conjugado del mismo se puede usar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad metabólica.

60 En una realización preferida de la invención, la enfermedad metabólica se selecciona del grupo que consiste en amiloidosis, biotinidasa, OMIM (herencia mendeliana online en varones), síndrome de Crigler Najjar, Diabetes, Grupo de información y soporte sobre Fabry, trastornos de la oxidación de los ácidos grasos, galactosemia, deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), aciduria glutárica, Organización Internacional de la Academia glutárica, acidemia glutárica de tipo I, Acidemia glutárica de tipo II, Acidemia glutárica de tipo I, Acidemia glutárica de tipo II, F-HYPDRR - hipofosfatemia familiar, raquitismo resistente a vitamina D, enfermedad de Krabbe, deficiencia de la 3 hidroxiaxil CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHAD), Grupo de Manosidosis, enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, trastornos mitocondriales, síndromes de mucopolisacaridosis: Niemann Pick, academias orgánicas, PKU, enfermedad de Pompe, porfiria, síndrome metabólico, hiperlipidemias y trastornos lipídicos hereditarios,

trimetilaminuria: el síndrome del olor a pescado y trastornos del ciclo de la urea.

Trastornos hepáticos

5 En otro aspecto más, el oligonucleótido de acuerdo con la invención o un conjugado del mismo se puede usar en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno hepático.

En una realización preferida de la invención, el trastorno hepático se selecciona del grupo que consiste en atresia biliar, síndrome de Argille, alfa-1-antitripsina, tirosinemia, hepatitis del neonato y enfermedad de Wilson.

10

Otros usos

Los oligonucleótidos de la presente invención se pueden utilizar como reactivos de investigación para diagnóstico, terapéutica y profilaxis. En investigación, el oligonucleótido se puede usar para inhibir específicamente la síntesis de los genes diana en células y animales experimentales, de modo que se facilita el análisis funcional de la diana o una evaluación de su utilidad como diana para la intervención terapéutica. En diagnóstico, los oligonucleótidos se pueden usar para detectar y cuantificar la expresión de la diana en células y tejidos mediante transferencia de tipo Northern, hibridación *in situ* o técnicas similares. Para las terapéuticas, un animal o un ser humano (en particular un ser humano) del que se sospecha que presenta una enfermedad o trastorno, que se puede tratar mediante modulación de la expresión de la diana es tratado mediante la administración de compuestos oligonucleotídicos de acuerdo con la presente invención. También se proporcionan procedimientos de tratamiento de un animal, en concreto un ratón y una rata, y de tratamiento de un ser humano, del que se sospecha que presenta o es propenso a sufrir una enfermedad o afección asociada con la expresión de la diana, mediante la administración de una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de una o más de los compuestos oligonucleotídicos o composiciones de la invención.

15

20

25

Uso terapéutico de oligonucleótidos dirigidos a miR-122a

Los inventores han demostrado que un LNA-antimiR, dirigido a miR-122a, reduce los niveles de colesterol en plasma. Por tanto, los oligonucleótidos descritos anteriormente dirigidos a miR-122a se pueden usar como medicamento.

30

En otro aspecto más, los oligonucleótidos descritos anteriormente dirigidos a miR-122a se pueden usar para la preparación de un medicamento para el tratamiento de niveles incrementados de colesterol en plasma (o hipercolesterolemia y trastornos seleccionados). El experto apreciará que niveles incrementados de colesterol en plasma son indeseables, ya que aumenta el riesgo de varias afecciones, por ejemplo aterosclerosis.

35

En otro aspecto más, los oligonucleótidos descritos anteriormente dirigidos a miR-122a se pueden usar para regular por aumento de los niveles del ARNm de Nrdg3, Aldo A, Bckdk o CD320.

40

**Realizaciones**

Las siguientes realizaciones se pueden usar en combinación con las otras realizaciones descritas en el presente documento.

45

1. Una composición farmacéutica que comprende uno del oligómero de la invención de una longitud de entre 7 y 10 nucleótidos, en el que dicho oligómero comprende una secuencia de nucleótidos contigua de un total de 7, 8, 9 o 10 unidades nucleotídicas, en el que al menos el 70 % de las unidades de bases nucleotídicas del oligómero son unidades de análogos nucleotídicos de LNA de alta afinidad y un diluyente, vehículo, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

50

2. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 1, en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a una región correspondiente de una secuencia de microARN (miARN) de mamífero, humano o viral.

55

3. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 2, en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a una región correspondiente de una secuencia de miARN seleccionada del grupo de miARN enumerados en una cualquiera de las tablas 3, 4 o 5.

60

4. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 2 o 3, en la que la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia que es complementaria a la secuencia semilla de dicho microARN.

65

5. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 2 a 4, en la que la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia seleccionada de una cualquiera de las secuencias enumeradas en la tabla 3 o 4.

6. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 4 o 5, en la que la base nucleotídica en 3' del seedmero forma la base nucleotídica más en 3' de la secuencia de nucleótidos contigua, en la que la secuencia de nucleótidos contigua puede comprender, opcionalmente, una o dos bases nucleotídicas adicionales en 5'.
- 5 7. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-6, en la que dicha secuencia de nucleótidos contigua no comprende un nucleótido que corresponde al primer nucleótido presente en la secuencia de microARN contando desde el extremo 5'.
- 10 8. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-7, en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a una secuencia de nucleótidos contigua presente en un miARN seleccionado de las mostradas en las tablas 3 o 4 o 5.
- 15 9. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 8, en la que dicho miARN se selecciona grupo que consiste en miR-1, miR-10b, miR-17-3p, miR-18, miR-19a, miR-19b, miR-20, miR-21, miR-34a, miR-93, miR-106a, miR-106b, miR-122, miR-133, miR-134, miR-138, miR-155, miR-192, miR-194, miR-221, miR-222 y miR-375.
- 20 10. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-9, en la que al menos el 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o todas las unidades de bases nucleotídicas de la secuencia de nucleótidos contigua son unidades de análogos nucleotídicos.
- 25 11. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 10, en la que además de al menos un 70 % de las unidades nucleotídicas de LNA, las unidades de análogos nucleotídicos se seleccionan del grupo que consiste en unidad 2'-O-alkil-ARN, unidad 2'-OMe-ARN, unidad 2'-amino-ADN, unidad 2'-fluoro-ADN, unidad PNA, unidad HNA, unidad INA y una unidad 2'MOE ARN.
- 30 12. La composición farmacéutica de acuerdo con las realizaciones 10 u 11, en la que al menos el 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o todas las unidades de bases nucleotídicas de la secuencia de nucleótidos contigua son unidades de bases nucleotídicas de ácido nucleico bloqueado (LNA).
- 35 13. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 12, en la que todas las unidades de bases nucleotídicas de la secuencia de nucleótidos contigua son unidades de bases nucleotídicas de LNA.
- 40 14. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-13, en la que la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 7, 8, 9 o 10 unidades de bases nucleotídicas de LNA, preferentemente contiguas.
- 45 15. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-14, en la que el oligómero consiste en 7, 8, 9 o 10 unidades de bases nucleotídicas contiguas y en la que al menos 7 unidades de bases nucleotídicas son unidades de análogos nucleotídicos.
- 50 16. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 15, en la que las unidades de análogos nucleotídicos son unidades de bases nucleotídicas de ácido nucleico bloqueado (LNA).
- 55 18. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-16, en la que al menos el 75 %, tal como el 80 % o 85 % o 90 % o 95 % o todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de bases nucleotídicas de la secuencia de nucleótidos contigua son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
- 60 19. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-18, en la que dicho oligómero está conjugado con uno o más compuestos que no son bases nucleotídicas.
- 65 20. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-19, en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a la correspondiente secuencia de al menos dos secuencias de miARN, tales como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 secuencias de miARN.
21. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-20, en la que la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia que es complementaria a la secuencia de al menos dos secuencias de la región semilla de miARN, tales como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 secuencias de la región semilla de miARN.
22. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 20 o 21, en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a la correspondiente región de miR-221 y miR-222.
23. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 22, en la que la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia que es complementaria a 5'GCUACAU3'.
24. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-23, en la que el oligómero

está constituido como un profármaco.

25. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1 - 24, en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria a una correspondiente región de has-miR-122.

5 26. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 25, para uso en el tratamiento de un trastorno médico o enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: infección por el virus de la hepatitis C e hipercolesterolemia y trastornos relacionados.

10 27. La composición farmacéutica de acuerdo con la realización 25 o 26, en la que la composición comprende además un segundo principio activo independiente que es un inhibidor de la vía de ensamblaje de las VLDL, tal como un inhibidor de la ApoB o un inhibidor de las MTP.

15 28. Un kit que comprende una composición farmacéutica de acuerdo con la realización 25 o 26 y un segundo principio activo independiente que es un inhibidor de la vía de ensamblaje de las VLDL, tal como un inhibidor de la ApoB o un inhibidor de las MTP.

30. Un oligómero, como se ha definido de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones 1-25.

20 31. Un conjugado que comprende el oligómero de acuerdo con la realización 30 y al menos un compuesto que no es una base nucleotídica.

25 32. El uso de un oligómero o un conjugado como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 30-31 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión del microARN.

30 33. Un procedimiento *in Vitro* para reducir la cantidad, o la cantidad eficaz, de un miARN en una célula, que comprende administrar un oligómero, un conjugado o una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones precedentes a la célula que expresa dicho miARN de modo que reduzca la cantidad, o la cantidad eficaz del miARN en la célula.

35 34. Un procedimiento *in vitro* para la des-represión de un ARNm cuya expresión está reprimida por un miARN en una célula, que comprende administrar un oligómero, un conjugado o una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones precedentes a la célula que expresa tanto dicho ARNm como dicho miARN con el fin de des-reprimir la expresión del ARNm. Referencias: En los documentos de prioridad se proporcionan detalles de las referencias.

### Ejemplos

40 La síntesis de monómeros y oligonucleótidos de LNA se realizó usando la metodología a la que se hace referencia en los ejemplos 1 y 2 del documento WO 2007/11275. La estabilidad de los oligonucleótidos de LNA en plasma humano o de rata se realiza usando la metodología a la que se hace referencia en el ejemplo 4 del documento WO 2007/112754. El tratamiento de las células *in vitro* con oligonucleótido antisentido anti-miR de LNA (dirigido a miR-122) se realiza usando la metodología a la que se hace referencia en el ejemplo 6 del documento WO 2007/11275. El análisis de la inhibición por oligonucleótidos de la expresión de miR mediante PCR cuantitativa específica de microARN en un modelo tanto *in vitro* como *in vivo* se realiza usando la metodología a la que se hace referencia en el ejemplo 7 del documento WO 2007/11275. La evaluación de la especificidad de deficiencia LNA-antimiR usando el perfil de expresión en micromatriz de miARN se realiza usando la metodología a la que se hace referencia en el ejemplo 8 del documento WO 2007/112754. La detección de microARN mediante hibridación *in situ* se realiza usando la metodología a la que se hace referencia en el ejemplo 9 del documento WO 2007/112754. El aislamiento y análisis de la expresión del ARNm (aislamiento del ARN total y síntesis de ADNc para análisis del ARNm) en un modelo tanto *in vitro* como *in vivo* se realiza usando la metodología a la que se hace referencia en el ejemplo 10 del documento WO 2007/112754. Los experimentos *in vivo* usando oligómeros de la invención dirigidos a microARN-122 y el posterior análisis se realizan usando los procedimientos divulgados en los ejemplos 11-27 del documento WO 2007/112754.

### Ejemplo 1: Diseño de los oligonucleótidos LNA-antimiR y temperaturas de fusión

60 Tabla 2. Oligómeros usados en los ejemplos y figuras. El n° de SEC es un identificador usado en los ejemplos y figuras, también se proporciona la SEC ID N° que se usa en el listado de secuencias.

N° de SEC del ejemplo/figura	SEC ID N°	Secuencia del compuesto	Comentarios
N° 3204	1	TcAGtCTGaTaAgCT	
N° 3205	2	GATAAGCT	

ES 2 406 686 T3

Nº 3206	3	<b>TcAcAATtaGCAtTA</b>	
Nº 3207	4	<b>TAGCATT A</b>	
Nº 4	5	<b>CcAttGTcaCaCtCC</b>	
Nº 3208	6	<b>CACACTCC</b>	
Nº 3209	7	<b>TAAGCT</b>	
Nº 3210	8	<b>ATAAGCT</b>	
Nº 3211	9	<b>TGATAAGCT</b>	
Nº 3212	10	<b>CTGATAAGCT</b>	
Nº 3213	11	<b>GTCTGATAAGCT</b>	
Nº 2114	12	<b>CAGTCTGATAAGCT</b>	
Nº 3215	13	<b>TCTGATAA</b>	
Nº 3216	14	<b>ATCAGTCT</b>	
Nº 3217	15	<b>TCAACATC</b>	
Nº 3218/Nº 3230	16	<b>GGTAAACT</b>	Subrayado= coincidencia errónea
Nº 3219	17	<b>CGTAATGA</b>	Subrayado= coincidencia errónea
Nº 3220	18	<b>TCAgctcgataaGCTa</b>	Marcador fluorescente en 5' (FAM)
Nº 3221	19	<b>AGCACTTT</b>	
Nº 3222	20	<b>ATTTGCAC</b>	
Nº 3223	21	<b>AgCagACaaTgTaGC</b>	Marcador fluorescente en 5' (FAM)
Nº 3224	22	<b>GtAgcCAgaTgTaGC</b>	Marcador fluorescente en 5' (FAM)
Nº 3225	23	<b>ATGTAGC</b>	
Nº 3226	24	<b>ACaAcCTacTaCcTC</b>	
Nº 3227	25	<b>ACTACCTC</b>	
Nº 3228	26	<b>CaCtgTCagCaCtTT</b>	
Nº 3229	27	<b>TgCatAGatTtGcAC</b>	
Nº 3231	28	<b>GTAGACT</b>	
Nº 3232	29	<b>TACCTC</b>	
Nº 3233	30	<b>CTACCTC</b>	
Nº 3234	31	<b>TNCTACCTC</b>	N = base universal.
Nº 3235	32	<b>TNCTACCTC</b>	N = base universal.
Nº 3236	33	<b>GCaAcCTacTaCcTC</b>	
Nº 3237	34	<b>ACaAcCTccTaCcTC</b>	
Nº 3238	35	<b>ACaAaCTacTaCcTC</b>	
Nº 3239	36	<b>CTACCTC</b>	
Nº 3240	37	<b>CTAACTC</b>	
Nº 3241	38	<b>TTAGCATT A</b>	
Nº 3242	39	<b>CGATTAGCATT A</b>	
Nº 3243	977	<b>CACGATTAGCATT A</b>	
Nº 3244	978	<b>GCATT A</b>	
Nº 3245	979	<b>AGCATT A</b>	

Nº 3246	980	ATTAGCATTA	
---------	-----	------------	--

Las letras mayúsculas y minúsculas indican -NA y ADN, respectivamente.  
 Las citosinas de LNA son, preferentemente, metil-citosina/5'-metil-citosina\*  
 Todos los enlaces internucleosídicos son, preferentemente, fosforotioato\*  
 Todos los LNA pueden ser, por ejemplo, beta-D-oxi LNA\*

5 \*Usado en los ejemplos específicos.

**Ejemplo 2: Modelo in vitro: Cultivo celular**

10 El efecto de los oligonucleótidos de LNA sobre la expresión del ácido nucleico diana (cantidad) se puede analizar en cualquiera de una variedad de tipos celulares, con la condición de que el ácido nucleico diana esté presente a niveles mensurables. La diana se puede expresar de forma endógena o mediante transfección transitoria o estable de un ácido nucleico que codifica dicho ácido nucleico.

15 El nivel de expresión del ácido nucleico diana se puede determinar de forma rutinaria usando, por ejemplo, análisis de transferencia de tipo Northern (incluido Northern de microARN), PCR cuantitativa (incluida la PCRc de microARN), ensayos de protección de ribonucleasa. Los siguientes tipos celulares se proporcionan con fines ilustrativos, pero se pueden utilizar otros tipos celulares de forma rutinaria, siempre que la diana se exprese en el tipo celular escogido.

20 Las células se cultivaron en el medio adecuado tal como se describe a continuación y se mantuvieron a 37°C a una humedad del 95-98 % y 5 % de CO<sub>2</sub>. Las células se pasaron de forma rutinaria 2-3 veces a la semana.

25 15PC3: La línea celular de cáncer de próstata humano 15PC3 fue donada amablemente por el Dr. F. Baas, Neurozintuigen Laboratory, AMC, Países Bajos y se cultivó en DMEM (Sigma) + 10% de suero bovino fetal (FBS) + Glutamax I + Gentamicina.

PC3: La línea celular de cáncer de próstata humano PC3 se adquirió de la ATCC y se cultivó en medio de Coon con glutamina (Gibco) + 10% FBS + gentamicina.

30 518A2: La línea celular de cáncer de melanoma humano 518A2 fue donada amablemente por el Dr. B. Jansen, Section of experimental Oncology, Molecular Pharmacology, Department of Clinical Pharmacology, University of Vienna y se cultivó en DMEM (Sigma) + 10% de suero bovino fetal (FBS) + Glutamax I + gentamicina.

35 HeLa: La línea celular de carcinoma cervical HeLa se cultivó en MEM (Sigma) que contiene 10 % de suero bovino fetal, gentamicina a 37 °C, 95 % de humedad y 5 % de CO<sub>2</sub>.

MPC-11: La línea celular de mieloma múltiple murino MPC-11 se adquirió de la ATCC y se mantuvo n DMEM con Glutamax 4mM + 10% de suero de caballo.

40 DU -145: La línea celular de cáncer de próstata humano DU-145 se adquirió de la ATCC y se mantuvo en RPMI con Glutamax + 10% de FBS.

45 RCC-4 +/- VHL: La línea celular de cáncer renal humano RCC4 se transfectó de forma estable con el plásmido que expresa VHL o el plásmido vacío se adquirió de ECACC y se mantuvo de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes.

786-0: La línea celular de cáncer renal humano 786-0 se adquirió en la ATCC y se mantuvo de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes.

50 HUVEC: La línea de células endoteliales de la vena umbilical humana HUVEC se adquirió de Camcrex y se mantuvo en medio EGM-2.

55 K562: La línea celular de leucemia mielógena crónica humana K562 se adquirió de la ECACC y se mantuvo en RPMI con Glutamax + 10% de FBS. U87MG: La línea celular glioblastoma humano U87MG se adquirió en la ATCC y se mantuvo de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes.

B16: La línea celular de melanoma murino B16 se adquirió en la ATCC y se mantuvo de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes.

60 LNCap: La línea celular de cáncer de próstata humano LNCap se adquirió de la ATCC y se mantuvo en RPMI con Glutamax + 10% de FBS.

Huh-7: Hígado humano, epitelial, cultivado en medio MEM de Eagle con 10 % de FBS, Glutamax I 2Mm, 1 x aminoácidos no esenciales, gentamicina µg/ml

L428: (Deutsche Sammlung für Mikroorganismen (DSM, Braunschweig, Alemania)): Linfoma de células B humano mantenido en RPMI 1640 suplementado con 10 % de FCS, L-glutamina y antibióticos.

- 5 L1236: (Deutsche Sammlung für Mikroorganismen (DSM, Braunschweig, Alemania)): Linfoma de células B humano mantenido en RPMI 1640 suplementado con 10 % de FCS, L-glutamina y antibióticos.

**Ejemplo 3: Diseño de una biblioteca antimir LNA para todas las secuencias de microARN humano en la base de datos de miRBase microARN.**

10 La versión de miRBase usada fue la versión 12. como se indica en Griffiths-Jones, S., Grocock, R.J., van Dongen, S., Bateman, A., Enright, A.J. 2006. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. Nucleic Acids Res. 34: D140-4, y disponible en <http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/index.shtml>.

15 La tabla 1 muestra secuencias de nucleótidos de 7, 8 y 9 unidades que comprenden la secuencia de seedmero de microARN de acuerdo con la base de datos miRBase microARN. La secuencia del seedmero comprende la complementaria inversa de la región semilla del microARN. En algunas realizaciones, el oligómero de la invención tiene una secuencia de nucleótidos contigua seleccionada de las secuencias de 7, 8 o 9 unidades. Con respecto a las secuencias de 7, 8 o 9 unidades, en algunas realizaciones, todos los enlaces internucleosídicos son fosforotioato. Las secuencias de nucleótidos de 7, 8 o 9 unidades pueden consistir en la secuencia de análogos nucleotídicos como se describe en el presente documento, tal como análogos nucleotídicos de LNA. Las citosinas de LNA pueden ser metil-citosina (5'-metil-citosina). En algunas realizaciones, el LNA es beta-D-oxi-LNA.

25 La tabla 3 proporciona una lista de microARN agrupados en aquéllos a los que se pueden dirigir los mismos oligómeros de seedmero, tal como los de 7, 8 o 9 unidades proporcionados en el presente documento (véase la tabla 1).

Tabla 3

hsa-let-7a*, hsa-let-7f-1*
hsa-let-7a, hsa-let-7b, hsa-let-7c, hsa-let-7d, hsa-let-7f, hsa-miR-98, hsa-let-7g, hsa-let-7i
hsa-miR-1, hsa-miR-206
hsa-miR-103, hsa-miR-107
hsa-miR-10a, hsa-miR-10b
hsa-miR-125b, hsa-miR-125a-5p
hsa-miR-129*, hsa-miR-129-3p
hsa-miR-130a, hsa-miR-301a, hsa-miR-130b, hsa-miR-454, hsa-miR-301b
hsa-miR-133a, hsa-miR-133b
hsa-miR-135a, hsa-miR-135b
hsa-miR-141, hsa-miR-200a
hsa-miR-146a, hsa-miR-146b-5p
hsa-miR-152, hsa-miR-148b
hsa-miR-154*, hsa-miR-487a
hsa-miR-15a, hsa-miR-16, hsa-miR-15b, hsa-miR-195, hsa-miR-497
hsa-miR-17, hsa-miR-20a, hsa-miR-93, hsa-miR-106a, hsa-miR-106b, hsa-miR-20b, hsa-miR-526b*
hsa-miR-181a, hsa-miR-181c
hsa-miR-181b, hsa-miR-181d
hsa-miR-18a, hsa-miR-18b
hsa-miR-190, hsa-miR-190b
hsa-miR-192, hsa-miR-215
hsa-miR-196a, hsa-miR-196b
hsa-miR-199a-3p, hsa-miR-199b-3p

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-5p
hsa-miR-19a* hsa-miR-19b-1*, hsa-miR-19b-2*
hsa-miR-19a, hsa-miR-19b
hsa-miR-200b, hsa-miR-200c
hsa-miR-204, hsa-miR-211
hsa-miR-208a, hsa-miR-208b
hsa-miR-212, hsa-miR-132
hsa-miR-23a*, hsa-miR-23b*
hsa-miR-23a, hsa-miR-23b, hsa-miR-130a*
hsa-miR-24-1* hsa-miR-24-2*
hsa-miR-25, hsa-miR-92a, hsa-miR-367, hsa-miR-92b
hsa-miR-26a, hsa-miR-26b
hsa-miR-26a-1*, hsa-miR-26a-2*
hsa-miR-27a, hsa-miR-27b
hsa-miR-29a, hsa-miR-29b, hsa-miR-29c
hsa-miR-302a, hsa-miR-302b, hsa-miR-302c, hsa-miR-302d, hsa-miR-373, hsa-miR-520e, hsa-miR-520a-3p, hsa-miR-520b, hsa-miR-520c-3p, hsa-miR-520d-3p
hsa-miR-302b*, hsa-miR-302d*
hsa-miR-30a*, hsa-miR-30d*, hsa-miR-30e*
hsa-miR-30a, hsa-miR-30c, hsa-miR-30d, hsa-miR-30b, hsa-miR-30e
hsa-miR-330-5p, hsa-miR-326
hsa-miR-34a, hsa-miR-34c-5p, hsa-miR-449a, hsa-miR-449b
hsa-miR-362-3p, hsa-miR-329
hsa-miR-374a, hsa-miR-374b
hsa-miR-376a, hsa-miR-376b
hsa-miR-378, hsa-miR-422a
hsa-miR-379*, hsa-miR-411*
hsa-miR-381, hsa-miR-300
hsa-miR-509-5p, hsa-miR-509-3-5p
hsa-miR-515-5p, hsa-miR-519e*
hsa-miR-516b*, hsa-miR-516a-3p
hsa-miR-517a, hsa-miR-517c
hsa-miR-518a-5p, hsa-miR-527
hsa-miR-518f, hsa-miR-518b, hsa-miR-518c, hsa-miR-518a-3p, hsa-miR-518d-3p
hsa-miR-519c-3p, hsa-miR-519b-3p, hsa-miR-519a
hsa-miR-519c-5p, hsa-miR-519b-5p, hsa-miR-523*, hsa-miR-518f*, hsa-miR-526a, hsa-miR-520c-5p, hsa-miR-518e*, hsa-miR-518d-5p, hsa-miR-522*, hsa-miR-519a*
hsa-miR-519e, hsa-miR-33b*
hsa-miR-520a-5p, hsa-miR-525-5p
hsa-miR-520g, hsa-miR-520h
hsa-miR-524-5p, hsa-miR-520d-5p

hsa-miR-525-3p, hsa-miR-524-3p
hsa-miR-548b-5p, hsa-miR-548a-5p, hsa-miR-548c-5p, hsa-miR-548d-5p
hsa-miR-7-1*, hsa-miR-7-2*
hsa-miR-99a, hsa-miR-100, hsa-miR-99b

Los inventores han construido un LNA-antimiR de 8 unidades contra miR-21, miR-155 and miR-122 (designado en el presente documento como micromiR) que está completamente modificado con LNA y fosforotiolado (véase la figura 1 y la tabla 6).

5 Los resultados de experimentos repetidos en células MCF-7, HeLa, Raw and Huh-7 usando un plásmido sensor de luciferasa para miR-21, miR-155 y miR-122 demuestran que los LNA-antimiR cortos modificados completamente con LNA son muy potentes antagonizando los microARN.

10 Tabla 4. LNA\_antimiR y secuencias de MicromiR y T<sub>m</sub> previstas.

SEC ID N°	microARN	Secuencia	T <sub>m</sub> (°C)
3204	miR-21	T c A G t C T G a T a A g C T	73
3205		G A T A A G C T	33
3206	miR-155	T c A c A A T t a G C A t T A	63
3207		T A G C A T T A	45
4	miR-122	C c A t t G T c a C a C t C C	73
3208		C A C A C T C C	62

Las letras en mayúscula son unidades de LNA, tal como beta-D-oxi LNA. Las letras en minúscula son unidades de ADN. Los enlaces internucleosídicos son, preferentemente, fosforotioato. Las citosinas de LNA son, preferentemente, metil-citosina/5-metil-citosina.

15 Las temperaturas de fusión se pueden evaluar hacia la secuencia de microARN madura usando un oligonucleótido de microARN sintético (que normalmente consiste en nucleótidos de ARN con una estructura fosfodiéster). Las T<sub>m</sub> medidas normalmente son mayores que las T<sub>m</sub> previstas cuando se usan oligómeros de LNA contra el ARN diana.

20 **Ejemplo 4: Evaluación del antagonismo de miR-21 mediante LNA-antimiR de SEC ID N° 3205 en células MCF-7 usando un ensayo sensor de luciferasa.**

Con el fin de evaluar la eficiencia de un oligonucleótido LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA (SEC ID N° 3205) a la hora de apuntar y antagonizar miR-21 se realizaron constructos sensores de luciferasa que contenían un sitio diana de coincidencia perfecta para el miR-21 maduro como control, un sitio diana con dos mutaciones en la semilla (figura 6). Con el fin de monitorizar la inhibición de microRNA-21, la línea celular de carcinoma de mama MCF-7 se transfectó con los diferentes constructos de luciferasa junto con el antagonista de miR-21 de SEC ID N° 3205 a varias concentraciones en comparación con el LNA-antimiR de 15 unidades de SEC ID N° 3204 contra miR-21. Tras 24 horas se midió la actividad de la luciferasa.

30 Resultados: Como se ve en la figura 22, el nuevo LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA (SEC ID N° 3205) muestra dos veces más potencia en comparación con la SEC ID N° 3204, como se muestra mediante la des-represión de la actividad de la luciferasa. Por el contrario, el constructor sensor de miR-21 CONTROL CON DOS coincidencias erróneas en la semilla miR-21 no mostró ninguna des-represión de la actividad luciferasa de luciérnaga, de modo que se demuestra la especificidad del sensor miR-21 de coincidencia perfecta en la monitorización de la actividad de miR-21 en las células. La des-represión de la actividad luciferasa por el LNA-antimiR de 8 unidades depende claramente de la dosis, que no se ve con la SEC ID N° 3204. Además, el nuevo de 8 unidades también es mucho más potente a dosis menores que la SEC ID N° 3204.

40 *Para concluir*, el LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3205) muestra una potencia significativamente mejorada en la inhibición de miR-21 *in vitro* en comparación con el LNA-antimviR de 15 unidades de SEC ID N° 3204 dirigido a miR-21.

45 Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de mama MCF-7 se adquirió de la ATCC (#HTB-22™). Las células MCF-7 se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal,

Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

**Transfección:** Se sembraron 400.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células MCF-7 se transfectoraron con 0,8 ug de miR-21 coincidencia perfecta/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío (SDS Promega) junto con 1 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

**Ensayo de la luciferasa:** Las células se lavaron con PBS y se recogieron con raspador celular, tras lo cual se centrifugaron las células durante 5 minutos a 10.000 rpm. Se descartó el sobrenadante y al sedimento celular se añadieron 50 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las células se introdujeron en hielo durante 30 minutos. Las células lisadas se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual 20 µl se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

#### **Ejemplo 5: Evaluación del antagonismo de miR-21 mediante LNA-antimiR de SEC ID N° 3205 en células HeLa usando un ensayo sensor de luciferasa.**

Para evaluar adicionalmente la eficiencia del LNA-antimiR de 8 unidades modificado completamente con LNA de SEC ID N° 3205 dirigido a miR-21, la línea celular de carcinoma de cerviz HeLa también se transfectoró con los constructos sensores de luciferasa de miR-21 descritos anteriormente junto con la SEC ID N° 3205 a varias concentraciones como se ha descrito en la sección anterior (figura 3).

Resultados: La SEC ID N° 3205 muestra la des-represión completa del constructo sensor de luciferasa miR-21 en células HeLa ya a 5 nM en comparación con la SEC ID N° 3204, que no mostró des-represión completa hasta la dosis más alta (50 nM). Además, el antagonismo de miR-21 por el LNA-antimiR de 8 unidades de SEC ID N° 3205 depende de la dosis. Para demostrar la especificidad del ensayo sensor de luciferasa miR-21, un sitio diana de miR-21 de coincidencia errónea (2 coincidencias erróneas en la semilla) también se transfectoró en células HeLa, pero no mostró ninguna des-represión de la actividad luciferasa de luciérnaga.

*Para concluir*, la SEC ID N° 3205 modificada completamente con LNA muestra una potencia significativamente mejorada en la inhibición de miR-21 *in vitro* tanto en células MCF-7 como HeLa en comparación con el LNA-antimiR de 15 unidades de SEC ID N° 3204.

#### **Materiales y procedimientos:**

**Línea celular:** La línea celular de carcinoma de cerviz humano HeLa se adquirió de la ECACC (#93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

**Transfección:** Se sembraron 60.000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectoraron con 0,2 ug de miR-21 coincidencia perfecta/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 0,7 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa. **Ensayo de la luciferasa:** Las células se lavaron con PBS y a cada pocillo se añadieron 100 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las placas de 24 pocillos se introdujeron en un agitador orbital durante 30 minutos. Se recogieron las células y se transfirieron a un tubo eppendorf y se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual 10 µl se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

#### **Ejemplo 6: Evaluación del antagonismo de miR-155 mediante LNA-antimiR de SEC ID N° 3207 en células RAW usando un ensayo sensor de luciferasa.**

Para ver si un LNA-antimiR de 8 unidades modificado completamente con LNA puede antagonizar con eficacia miR-155, se clonó un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-155 en el mismo vector de luciferasa (psiCHECK2) y se transfectoró en la línea de células RAW de macrófagos monocitos leucémicos de ratón. Dado que los niveles endógenos de miR-155 son bajos en la línea celular RAW, las células fueron tratadas LPS 100 ng/ml durante 24 horas con el fin de inducir la acumulación de miR-155.

Resultados: Las mediciones de la luciferasa mostraron que el LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA de SEC ID N° 3207 DIRIGIDO A miR-155 fue similarmente eficaz en cuanto a antagonizar miR-155 en comparación con el LNA-antimiR de 15 unidades de SEC ID N° 3206 (figura 4). Ambos LNA-antimirs mostraron una des-represión > 50 % del sensor de luciferasa de miR-155 a una concentración de 0,25 nM e inhibió el miR-155 de un modo dependiente de la dosis.

Conclusión: Estos datos avalan también los resultados del antagonismo de miR-21, como se muestra en los ejemplos 1 y 2, lo que demuestra que un LNA-antimiR de 8 unidades completamente tiolado es muy potente al usar los microARN como objetivo.

5

#### Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea de monocitos macrófagos leucémicos de ratón RAW 264.7 se adquirió en la ARCC (TIB-71). Las células RAW se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 4 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

10

Transfección: Se sembraron 500.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 50% al día siguiente. El día de la transfección, las células MCF-7 se transfectaron con 0,3 ug de miR-155 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 10 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Con el fin de inducir la acumulación de miR-155, a las células RAW se añadió LPS (100 ng/ml) después de la incubación durante 4 horas con los complejos de transfección. Tras otras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

15

Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se recogieron con raspador celular, tras lo cual se centrifugaron las células durante 5 minutos a 2.500 rpm. Se descartó el sobrenadante y al sedimento celular se añadieron 50 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las células se introdujeron en hielo durante 30 minutos. Las células lisadas se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual 20 µl se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

25

#### **Ejemplo 7: Evaluación del antagonismo de miR-122 mediante LNA-antimiR de SEC ID N° 3208 en células HuH-7 usando un ensayo sensor de luciferasa.**

La potencia del LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado de SEC ID N° 3208 contra miR-122 se evaluó en la línea celular de hepatoma humano HuH-7. Las células HuH-7 se transfectaron con el constructor sensor de luciferasa que contiene un sitio diana de miR-122 de coincidencia perfecta. Tras 24 horas se realizaron mediciones de la actividad de luciferasa (figura 5).

30

Resultados: El LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA de SEC ID N° 3208 es más potente que el LNA-antimiR de 15 unidades de SEC ID N° 4 a concentración baja, como se muestra mediante la des-represión del sensor de luciferasa de miR-122. Ambos LNA-antimiR inhiben miR-122 de un modo dependiente de la dosis (figura 5).

35

Conclusión: El LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA de SEC ID N° 3208 dirigido a miR-122 muestra una potencia mejorada en la inhibición de miR-122 *in vitro*.

40

#### Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de hepatoma humano HuH-7 fue un amable regalo de R. Bartenschlager, Heidelberg. Las células Huh-7 se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

45

Transfección: Se sembraron 8.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HuH-7 se transfectaron con 57 ug de miR-122 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 1 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen). Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

50

Ensayo de la luciferasa: A cada pocillo se añadieron 50 µl 1 x de tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual la placa de 96 pocillos se introdujo en un agitador orbital durante 30 minutos. A cada pocillo se añadió el sistema dual de ensayo indicador de luciferasa (Promega) y se realizaron las mediciones de la actividad de luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

55

#### **Ejemplo 8. Evaluación del antagonismo de miR-21 mediante comparación de LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3205) frente a LNA-antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3204) en células de carcinoma de próstata humano (PC3).**

60

Previamente, los inventores han mostrado (en el presente documento) que el LNA-antimiR de 8 unidades que está completamente modificado con LNA y fosfortiolado puede des-reprimir completamente los niveles indicadores de luciferasa miR-21 en la línea celular de carcinoma de mama humano MCF-7. Después, los inventores extendieron este enfoque de selección a la línea celular de cáncer de próstata humano PC3. Para evaluar la eficiencia de los

65

diferentes oligonucleótidos LNA-antimiR contra miR-21 se generaron constructos indicadores de luciferasa en los que un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-21 maduro y un sitio diana con dos coincidencias erróneas en la semilla se clonaron en la región 3'UTR del gen de la luciferasa de renilla (figura 7). Con el fin de monitorizar la inhibición de miR-21, las células PC3 se transfectaron con los diferentes constructos de luciferasa junto con el antagonista de miR-21 de SEC ID N° 3205 (8 unidades) y para una comparación con el LNA-antimiR de 15 unidades con coincidencia perfecta de SEC ID N° 3204 a varias concentraciones. Tras 24 horas, se midió la actividad de luciferasa.

Resultados: Los experimentos indicadores de luciferasa mostraron una des-represión dependiente de la dosis de la actividad indicadora de luciferasa de miR-21 con el LNA-antimiR de 15 unidades contra miR-21 (SEC ID N° 3204). No obstante, la des-represión completa del indicador de luciferasa no se obtuvo ni siquiera a las concentraciones más altas (figura 7). En contraste, las células que se transfectaron con el LNA-antimiR de 8 unidades completamente sustituido con LNA mostró des-represión completa ya a 1 nM, lo que indica una potencia significativamente mejorada en comparación con el LNA-antimiR de 15 unidades. El indicador control de la luciferasa que aloja un sitio diana de coincidencia errónea para miR-21 no se vio afectado por ningún LNA-antimiR, lo que demuestra una elevada especificidad de ambos LNA-antimiR.

Conclusión: El micromir es mucho más potente que el LNA-antimiR de 15 unidades a la hora de dirigirse a miR-21 y hasta ahora ha mostrado que es más potente en células de carcinoma de próstata.

#### Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de próstata humano PC3 se adquirió de la ECACC (#90112714). Las células PC3 se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

Transfección: Se sembraron 100.000 células por pocillo en una placa de 12 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50% al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con 0,3 ug de miR-21 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 1,2 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a los pocillos se añadieron 250 µl de 1x tampón de lisis pasiva (Promega). Las placas se introdujeron en un agitador durante 30 minutos, tras lo cual los lisados celulares se transfirieron a tubos de eppendorf. El lisado celular se centrifugó durante 10 minutos y 2.500 rpm, tras lo cual se transfirieron 20 µl a una placa de 96 pocillos y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

#### **Ejemplo 9. Evaluación de la especificidad del antagonismo de miR-21 mediante un LNA-antimiR de 8 unidades**

Para investigar la especificidad del LNA-antimiR corto dirigido a miR-21, los inventores diseñaron un LNA-antimiR control de coincidencia errónea de 8 unidades (SEC ID N° 3218) que contiene 2 coincidencias erróneas en la secuencia de reconocimiento de semilla (véase la figura 8). Los constructos indicadores de luciferasa descritos en el ejemplo 1 se transfectaron en la línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa junto con el oligo control de coincidencia errónea de LNA de SEC ID N° 3218 y su eficacia se comparó con el LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3205) miR-21. Tras 24 horas se midió la actividad de la luciferasa.

Resultados: Como se muestra en la figura 8, la transfección del LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA en células HeLa tuvo como resultado una des-represión completa del indicador miR-21 de luciferasa ya a 5 nM. En contraste, cuando las células se transfectaron con el oligo control de coincidencia errónea de LNA de 8 unidades, combinado con los resultados obtenidos con el indicador de luciferasa de miR-21 control que tiene dos coincidencias erróneas en la semilla miR-21, estos datos demuestran una especificidad elevada del LNA-antimiR de 8 unidades completamente sustituido con LNA en términos de dirigirse a miR-21 en células HeLa.

El análisis de la base de datos de secuencias de miRBase microRNA mostró que la secuencia de reconocimiento de miR-21 del LNA-antimiR de SEC ID N° 3205 ES ÚNICA PARA microRNA-21. No obstante, cuando se disminuye la longitud del micromer a 7 nucleótidos, no es específica de únicamente miR-21, ya que también se han dirigido a ath-miR-844, mmu-miR-590-3p y has-miR-590-3p.

Conclusión: El intercambio de dos posiciones de nucleótidos dentro del LNA-antimiR de 8 unidades con dos nucleótidos de coincidencia errónea abolió completamente la actividad de antagonismo del LNA-antimiR para miR-21.

#### Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cerviz humano HeLa se adquirió de la ECACC (#93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

5 Transfección: Se sembraron 60.000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectoron con 0,2 ug de miR-21 coincidencia perfecta/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 0,7 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Tras 24 horas, se recogieron las  
10 células para medir la actividad de luciferasa.

Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a cada pocillo se añadieron 100 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las placas de 24 pocillos se introdujeron en un agitador orbital durante 30 minutos. Se recogieron las células y se transfirieron a un tubo eppendorf y se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual 10 µl se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).  
15

#### **Ejemplo 10. Evaluación de la longitud más corta posible de un LNA-antimiR completamente modificado con LNA que participa en el antagonismo eficaz de miR-21.**

20 Para investigar más los requisitos de longitud de LNA-antimiR, los inventores diseñaron un LNA-antimiR de 7 unidades y de 6 unidades dirigido a miR-21, ambos oligonucleótidos completamente modificados con LNA y fosforotiolados. Los constructos indicadores de luciferasa de miR-21 se transfectoron en células HeLa junto con los LNA-antimiR a varias concentraciones. Se realizaron mediciones de la actividad de luciferasa tras 24 horas.

25 Resultados: Como se ve en la figura 9, el LNA-antimiR de 7 unidades media la des-represión del plásmido indicador de luciferasa de miR-21, pero a menor potencia en comparación con el LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3205). No obstante, todavía se puede observar una tendencia dependiente de la dosis. En contraste, el LNA-antimiR de 6 unidades no mostró ninguna actividad inhibidora.

30 Conclusión: Para concluir, la longitud más corta posible de un LNA-antimiR que es capaz de participar en la inhibición de miR-21 es 7 nucleótidos. No obstante, el LNA-antimiR de 7 unidades es menos potente en comparación con el LNA-antimiR de 8 unidades para miR-21.

#### **Materiales y procedimientos:**

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa se adquirió de la ECACC (#93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.  
40

Transfección: Se sembraron 60.000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectoron con 0,2 ug de miR-21 coincidencia perfecta/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 0,7 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Tras 24 horas, se recogieron las  
45 células para medir la actividad de luciferasa.

Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a cada pocillo se añadieron 100 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las placas de 24 pocillos se introdujeron en un agitador orbital durante 30 minutos. Se recogieron las células y se transfirieron a un tubo eppendorf y se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual 10 µl se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).  
50

#### **Ejemplo 11. Evaluación de la longitud de LNA-antimiR completamente sustituidos con LNA que antagonizan miR-21**

55 Después, los inventores investigaron el efecto de incrementar la longitud de un LNA-antimiR completamente sustituidos con LNA de 9 unidades a 14 unidades sobre el antagonismo de miR-21 en células HeLa. Los LNA-antimiR resultantes se transfectoron en células HeLa junto con los constructos indicadores de luciferasa de miR-21. Se realizaron mediciones de la actividad de luciferasa tras 24 horas.  
60

Resultados: El LNA-antimiR de 9 unidades de SEC ID N° 3211 (9 unidades) mostró des-represión dependiente de la dosis del indicador de luciferasa de miR-21, que no alcanzó una des-represión completa, como se ha demostrado para el LNA-antimiR de 7 unidades (SEC ID N° 3210). El incremento de la longitud de 10 unidades a 14 unidades (SEC ID N° 3212, SEC ID N° 3213 y SEC ID N° 3214) disminuyó la potencia como se muestra mediante la des-  
65

represión menos eficiente del indicador de miR-21.

Conclusión: Como se muestra en la figura 19, el LNA-antimiR más largo completamente modificado por LNA y fosforotiolado que todavía es capaz de participar en la inhibición de miR-21 es un LNA-antimiR de 9 unidades de SEC ID N° 3211. No obstante, es claramente menos eficiente que los LNA-antimiR de 8 unidades y de 7 unidades.

#### Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa se adquirió de la ECACC (#93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

Transfección: Se sembraron 60.000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de obtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 0,2 ug de miR-21 coincidencia perfecta/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 0,7 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a cada pocillo se añadieron 100 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las placas de 24 pocillos se introdujeron en un agitador orbital durante 30 minutos. Se recogieron las células y se transfirieron a un tubo eppendorf y se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual 10 µl se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

#### **Ejemplo 12. Determinación de la posición más óptima para un LNA-antimiR de 8 unidades dentro de la secuencia de reconocimiento de la diana de miR.**

Los experimentos de los inventores han mostrado que el LNA-antimiR completamente modificado con LNA fosforotiolado más potente tiene una longitud de 8 nucleótidos. Para evaluar la posición más óptima para un LNA-antimiR de 8 unidades dentro de la secuencia de reconocimiento diana de miR, los inventores diseñaron cuatro LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificados con LNA a través de la secuencia madura de miR-21 como se muestra en la figura 11. Los diferentes LNA-antimiR se co-transfectaron junto con los constructos indicadores de luciferasa de miR-21 en células HeLa. Se realizaron mediciones de la actividad de luciferasa tras 24 horas.

Resultados: El único LNA-antimiR que participó en la silenciamiento eficiente de miR-21 medido mediante el indicador de luciferasa fue la SEC ID N° 3205, que está dirigido a la región semilla de miR-21. Ni la SEC ID N° 3215 que se ha diseñado para cubrir el extremo 3' de la semilla (50 % de semilla objetivo) no mostró ningún efecto ni tampoco los otros dos LNA-antimiR de SEC ID N° 3216 o SEC ID N° 3217, que estaban colocados para apuntar a la región central y el extremo 3' del miR-21 maduro, respectivamente.

Conclusión: El único LNA-antimiR de 8 unidades que participa en la potente silenciamiento de miR-21 es el que está dirigido a la semilla de miR-21.

#### Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa se adquirió de la ECACC (#93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

Transfección: Se sembraron 60.000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de obtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 0,2 ug de miR-21 coincidencia perfecta/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 0,7 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a cada pocillo se añadieron 100 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las placas de 24 pocillos se introdujeron en un agitador orbital durante 30 minutos. Se recogieron las células y se transfirieron a un tubo eppendorf y se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual 10 µl se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

#### **Ejemplo 13. Validación de la interacción del sitio diana de miR-21 en la Pcdcd4-3'-UTR y miR-21 usando el LNA-antimiR de 8 unidades de SEC ID N° 3205.**

La proteína supresora tumoral Pdc4 inhibe la transformación neoplásica inducida por TPA, la estimulación tumoral y la progresión. También se ha mostrado que Pdc4 está regulada por aumento en la apoptosis en respuesta a diferentes inductores. Además, la regulación por disminución de Pdc4 en el cáncer de pulmón y colorrectal también se ha asociado con un mal pronóstico para el paciente. Recientemente, Asangani *y col.*, y Frankel *y col.*, mostraron que la Pdc4-3'-UTR contiene un sitio diana conservado para miR-21 y transfectar las células con un antimiR-21 tuvo como resultado un incremento de la proteína Pdc4. Por tanto, los inventores construyeron un plásmido indicador de luciferasa que aloja 313 nt de la región 3'UTR de Pdc4, que abarca el sitio diana de miR-21 mencionado anteriormente, que se co-transfectó junto con diferentes LNA-antimiR en células HeLa. Los diferentes LNA-antimiR fueron de SEC ID N° 3205 (8 unidades, coincidencia perfecta) o de SEC ID N° 3218 (8 unidades, coincidencia errónea). Se realizaron mediciones de la actividad de luciferasa tras 24 horas.

Resultados: Como se muestra en la figura 12, en células transfectadas con el indicador de la luciferasa de Pdc4 3'UTR y la SEC ID N° 3205 se observó un incremento de la actividad de luciferasa, lo que indica una interacción entre Pdc4 3'UTR and miR-21. No obstante, transfectar las células con el compuesto con coincidencia errónea, SEC ID N1 3218, no se observaron cambios en la actividad de luciferasa, lo que estaba previsto ya que el compuesto no antagoniza miR-21. Cuando se comparó el LNA-antimiR de 8 unidades contra dos LNA-antimiR diseñados más largos, el LNA-antimiR corto completamente modificado con LNA y fosforotiolado fue significativamente más potente, lo que confirma los datos previos del ensayo de luciferasa.

Conclusión: Estos datos concluyen que la SEC ID N° 3205, que antagoniza miR-21, puede regular la interacción entre Pdc4 3'UTR y miR-21.

#### Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa se adquirió de la ECACC (#93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

Transfección: Se sembraron 60.000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 0,2 ug de Pdc4-3'UTR/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 0,7 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de oligonucleótidos de LNA-antimiR. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a cada pocillo se añadieron 100 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las placas de 24 pocillos se introdujeron en un agitador orbital durante 30 minutos. Se recogieron las células y se transfirieron a u tubo eppendorf y se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual 10 µl se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

#### **Ejemplo 14. Comparación de un LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3207) con un LNA-antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3206) en el antagonismo de miR-155 en células RAW de ratón.**

Para saber si el enfoque de usar LNA-antimiR cortos se podía adaptar a apuntar a otros miARN, los inventores diseñaron un LNA-antimiR de 9 unidades completamente modificado con LNA contra microARN-155. Un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-155 se clonó en la 3'UTR del gen de la luciferasa en el plásmido indicador psiCHECK2 y se transfectó en la línea celular de macrófagos RAW de ratón junto con un LNA-antimiR de 9 o de 15 unidades. Dado que los niveles endógenos de miR-155 son bajos en la línea celular RAW, las células fueron tratadas LPS 100 ng/ml durante 24 horas con el fin de inducir la acumulación de miR-155. Tras 24 horas, se realizó un análisis de la luciferasa.

Resultados: Las mediciones de la luciferasa mostraron que el LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA de SEC ID N° 3207 DIRIGIDO A miR-155 fue similarmente eficaz en cuanto a antagonizar miR-155 en comparación con el LNA-antimiR de 15 unidades de SEC ID N° 3206 (figura 13). Ambos LNA-antimiR mostraron una des-represión > 50 % del sensor de luciferasa de miR-155 a una concentración de 0,25 nM e inhibió el miR-155 de un modo dependiente de la dosis.

El análisis de la base de datos de secuencias de miRBase microRNA mostró que la secuencia de reconocimiento de miR-155 del LNA-antimiR de SEC ID N° 3207 ES ÚNICA PARA microRNA-155. No obstante, cuando se disminuye la longitud del micromer a 7 nucleótidos, no es específica de únicamente miR-155, mdv1-miR-M4 y kshv-miR-K12-11.

Conclusión: Un LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA y fosforotiolado es igualmente potente en comparación con un LNA-antimiR de 15 unidades de un diseño mixto LNA/ADN a la hora de antagonizar

miR-155.

Por tanto, el enfoque de los inventores de usar LNA-antimiR cortos se puede adaptar fácilmente a dirigirlos a otros miARN.

5

Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de macrófagos de ratón RAW 264.7 se adquirió en la ATCC (TIB-71). Las células RAW se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 4 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

10

Transfección: Se sembraron 500.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 50% al día siguiente. El día de la transfección, las células RAW 264.7 se transfectaron con 0,3 ug de miR-155 coincidencia perfecta/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 10 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

15

La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Con el fin de inducir la acumulación de miR-155, a las células RAW se añadió LPS (100 ng/ml) después de la incubación durante 4 horas con los complejos de transfección. Tras otras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

20

Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se recogieron con raspador celular, tras lo cual se centrifugaron las células durante 5 minutos a 2.500 rpm. Se descartó el sobrenadante y al sedimento celular se añadieron 50 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las células se introdujeron en hielo durante 30 minutos. Las células lisadas se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual 20 µl se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

25

**Ejemplo 15. Evaluación de los niveles de la proteína c/EBPβ como lectura funcional del antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR corto (SEC ID N° 3207).**

30

Como lectura funcional del antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR corto (SEC ID N° 3207), los inventores determinaron los niveles de proteína de una nueva diana de miR-155, c/EBPβ. La línea celular de macrófagos de ratón RAW se transfectó junto con un LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3207) o de 15 unidades (SEC ID N° 3206) en ausencia o presencia de pre-miR 155. Como controles de coincidencia errónea para el de 15 unidades se usó la SEC ID N° 4, que está dirigida a miR-122 y para el de 8 unidades se usó la SEC ID N° 3205, que está dirigida a miR-21. Estos dos miARN control no regulan los niveles de expresión de c/EBPβ. Se usó LPS para inducir acumulación de miR-155 y las células se recogieron tras 16 horas con LPS. c/EBPβ tiene tres isoformas, LIP, LAP y LAP\*, que se detectaron mediante análisis de transferencia de tipo western y las mismas membranas se volvieron a sonda con beta-tubulina como control de carga.

40

Resultados: Se calcularon las proporciones para c/EBPβ LIP y beta-tubulina como se indica en la figura 14. Las células RAW se transfectaron con el LNA-antimiR de 15 unidades y ningún pre-miR-155 mostró proporciones c/EBPβ LIP/beta-tubulina iguales, debido a que la inhibición de miR-155 aumenta los niveles de c/EBPβ LIP (figura 14, panel de la izquierda). Por comparación, la transfección de pre-miR-155 en las células RAW tuvo como resultado una disminución de los niveles de c/EBPβ LIP según lo previsto, si c/EBPβ era una diana de miR-155, como se muestra en los controles con extractos proteicos de las células RAW tratadas sin LNA o una coincidencia errónea. No obstante, los extractos proteicos de las células RAW transfectadas con LNA-antimiR contra miR-155 mostraron un incremento de los niveles de c/EBPβ LIP. Los mismos experimentos también se llevaron a cabo con el LNA-antimiR-155 de 8 unidades (SEC ID N° 3207) y, como se muestra en la figura 14 (panel de la derecha) se obtuvieron resultados comparables a los del LNA-antimiR de 15 unidades SEC ID N° 3206.

50

Conclusión: El antagonismo de miR-155 usando un LNA-antimiR de 8 unidades o de 15 unidades conduce a la des-represión de la c/EBPβ.

55

Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de macrófagos de ratón RAW 264.7 se adquirió en la ATCC (TIB-71). Las células RAW se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 4 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

60

Transfección: Se sembraron 500.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 50% al día siguiente. El día de la transfección, las células RAW 264.7 se transfectaron con 5 nmol de pre-miR-155 (Ambion) y/o LNA-antimiR 5 nM junto con 10 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Con el fin de inducir la acumulación de miR-155, a las células RAW se añadió LPS (100 ng/ml) después de la incubación durante 4 horas con los complejos de transfección. Tras 16 horas, se

65

recogieron las células para la extracción de proteínas y el análisis de transferencia de tipo western.

Análisis de transferencia de tipo Western: Las células se lavaron con PBS, se digirieron con tripsina, se transfirieron a tubos de eppendorf y se añadieron 250 µl de tampón de lisis (1xRIPA). El lisado celular se colocó en hielo durante 20 minutos y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos, La concentración de proteínas se midió con Coomassie Plus de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se cargaron 80 ug sobre un gel de 4-12 % de BIS-TRIS.

La membrana se incubó durante la noche a 4 °C con el anticuerpo primario monoclonal de ratón C/EBP β (Santa Cruz) con una concentración de 1:100. Se visualizaron bandas inmunorreactivas con ECL Plus (Amersham).

#### **Ejemplo 16. Antagonismo de miR-106b por un LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA (SEC ID N° 3221)**

Para confirmar que el enfoque de los inventores de usar LNA-antimiR cortos se podía adaptar a apuntar otros miARN, los inventores diseñaron un LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA contra microARN-106B. Un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-106b se clonó en la 3'UTR del gen de la luciferasa en el vector (psiCHECK2) y se transfectó en la línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa junto con un LNA-antimiR corto (SEC ID N° 3221) o con un LNA-antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3228) a concentraciones variables. Se realizaron mediciones de la actividad de luciferasa tras 24 horas.

Resultados: La transfección del LNA-antimiR de 8 unidades, SEC ID N° 3221, contra miR-1 06b tuvo como resultado una inhibición dependiente de la dosis de miR-106b, como muestra la des-represión del indicador de luciferasa, que se des-reprimió completamente a una concentración del LNA-antimiR de 1 nM. Se obtuvieron resultados comparables usando el LNA-antimiR de 15 unidades, SEC ID N° 3228, lo que demuestra que un LNA-antimiR de 8 unidades tiene una potencia similar al de 15 unidades.

Conclusión: El uso de miR-1 06b como objetivo en las células HeLa muestra que un LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA y fosforotiolado tiene la misma potencia que el LNA-antimiR mixto de LNA/ADN de 15 unidades.

#### Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa se adquirió de la ECACC (#93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

Transfección: Se sembraron 5.200 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 57 ng de miR-21 coincidencia perfecta/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 0,14 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a cada pocillo se añadieron 30 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las placas de 24 pocillos se introdujeron en un agitador orbital durante 30 minutos. Se recogieron las células y se transfirieron a u tubo eppendorf y se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

#### **Ejemplo 17. Antagonismo de miR-19a por un LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA (SEC ID N° 3222)**

Para confirmar además que el enfoque de los inventores de usar LNA-antimiR cortos se podía adaptar a apuntar otros miARN, los inventores diseñaron un LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA contra microARN-19a. Un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-19a se clonó en la 3'UTR del gen de la luciferasa en el vector psiCHECK2. El plásmido indicador se transfectó en la línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa junto con un LNA-antimiR corto (SEC ID N° 3222) o con un LNA-antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3229) dirigidos a miR-19a a concentraciones variables. Se realizaron mediciones de la actividad de luciferasa tras 24 horas.

Resultados: Como se muestra en la figura 16, la transfección del LNA-antimiR de 15 unidades SEC ID N° 3229 en HeLa antagoniza de forma eficiente miR-19a, como demuestra la des-represión completa a una concentración de LNA-antimiR de 1 nM. Por comparación, la transfección del LNA-antimiR de 8 unidades, SEC ID N° 3222, tuvo como resultado un antagonismo eficaz de miR-19a ya a una concentración de 0,5 nM, lo que indica que este LNA-antimiR de 8 unidades tiene al menos la misma potencia que un LNA-antimiR de 15 unidades en las células HeLa.

Conclusión: El uso de miR-19a como objetivo en las células HeLa muestra que un LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA y fosforotiolado tiene al menos la misma potencia que el LNA-antimiR mixto de LNA/ADN de 15 unidades.

## 5 Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa se adquirió de la ECACC (#93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

10 Transfección: Se sembraron 5.200 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 57 ng de miR-21 coincidencia perfecta/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 0,14 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

15 Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a cada pocillo se añadieron 30 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las placas de 24 pocillos se introdujeron en un agitador orbital durante 30 minutos. Se recogieron las células y se transfirieron a u tubo eppendorf y se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

## 25 **Ejemplo 18. Objetivo la familia de microARN usando LNA-antimiR cortos completamente sustituidos con LNA.**

Después, los inventores investigaron si era posible apuntar a la familia de microARN usando un solo LNA-antimiR corto de 7 unidades complementario a la secuencia semilla que es común a todos los miembros de la familia (véase la figura 17). En este experimento, los inventores se centraron en miR-221 y miR-222 que se sobreexpresan en tumores sólidos del colon, páncreas, próstata y estómago. También se ha demostrado que miR-221 y miR-222 son los microARN regulados por aumento de forma más significativa en el glioblastoma multiforme. Además, la sobreexpresión de miR-221 y miR-222 puede contribuir al crecimiento y la progresión del carcinoma de próstata, al menos en parte, bloqueando la proteína supresora tumoral p27. Un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-221 y miR-222, respectivamente, se clonó en la 3'UTR del gen de la luciferasa y dio como resultado dos constructos indicadores. Después, estos constructos se transfectaron por separado o combinados en la línea celular de carcinoma de próstata PC3. Además, al de 7 unidades, dirigido a miR-221 y miR-222, los inventores también co-transfectaron un LNA-antimiR (15mer) de 15 unidades dirigido a miR-221 (SEC ID N° 3223) o A miR-222 (SEC ID N° 3224), cada uno transfectado por separado o juntos (véase la figura 18, izquierda).

40 Resultados: Como se muestra en la figura 18, la transfección de las células PCR con el LNA-antimiR de SEC ID N° 3223 contra miR-221 tuvo como resultado una inhibición eficiente de miR-221 a una concentración de LNA-antimiR de 1 nM. También se observa un efecto inhibitor cuando se usa el plásmido indicador de luciferasa para miR-222, así como cuando se co-transfecta los indicadores de luciferasa para miR-221 y miR-222 de forma simultánea en las células PC3. Este efecto inhibitor es muy probable que se deba a la secuencia semilla compartida entre miR-221 y miR-222. De un modo similar, la transfección de las células PC3 con el LNA-antimiR, SEC ID N° 3224, contra miR-222, tuvo como resultado una inhibición eficiente de miR-222 a una concentración de LNA-antimiR de 1 nM como muestra la des-represión completa del indicador de luciferasa para miR-222. También se observa un efecto inhibitor cuando se usa el plásmido indicador de luciferasa para miR-222 así como cuando se co-transfectan ambos indicadores de luciferasa para miR-221 y miR-222 de forma simultánea en las células PC3. La co-transfección de ambos compuestos LNA-antimiR, SEC ID N° 3223 y SEC ID N° 3224, contra miR-221 and miR-222 respectivamente (véase la figura 18, izquierda), tuvo como resultado una inhibición eficaz de ambos miARN como muestra la des-represión completa de los plásmidos indicadores cuando se transfectan por separado y cuando se co-transfectan en las células PC3. Es interesante el hecho de que la transfección de un solo LNA-antimiR de 7 unidades completamente modificado con LNA (SEC ID N° 3225) dirigido a la secuencia semilla de miR-221 y miR-222 en células PC3 tuvo como resultado un antagonismo eficaz dependiente de la dosis de miR-221 y miR-222 de forma simultánea, como muestra la des-represión completa de los plásmidos indicadores cuando se transfectan por separado y cuando se co-transfectan en las células PC3. Esto demuestra que un único LNA-antimiR corto sustituido con LNA puede dirigirse de forma eficaz a secuencias semilla, de modo que antagoniza todas las familias de microARN de forma simultánea. El análisis de la base de datos de secuencias de miRBase microRNA mostró que la secuencia de reconocimiento semilla miR-221/222 del LNA-antimiR de SEC ID N° 3225 es única para ambos miARN.

65 Conclusión: Los resultados de los inventores demuestran que el LNA permite el diseño y la síntesis de oligonucleótidos LNA-antimiR cortos sustituidos completamente con LNA que puedan dirigirse de forma eficaz a secuencias semilla de microARN, de modo que antagonizan todas las familias de microARN de forma simultánea.

Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de próstata humano PC3 se adquirió en la ECACC (#90112714). Las células PC3 cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

Transfección: Se sembraron 100.000 células por pocillo en una placa de 12 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50% al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con 0,3 ug del plásmido indicador de luciferasa para miR-221 o miR-222 o con el vector psiCHECK2 vacío sin el sitio diana de miARN como control junto con 1,2 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a los pocillos se añadieron 250 µl de 1x tampón de lisis pasiva (Promega). Las placas se introdujeron en un agitador durante 30 minutos, tras lo cual los lisados celulares se transfirieron a tubos de eppendorf. El lisado celular se centrifugó durante 10 minutos y 2.500 rpm, tras lo cual se transfirieron 20 µl a una placa de 96 pocillos y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

**Ejemplo 19. Evaluación de los niveles de la proteína p27 como lectura funcional del antagonismo de la familia miR-221/222 por el LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225.**

Los trabajos previos han mostrado (le Sage et al. 2007, Galardi et al. 2007) que miR-221 y miR-222 regulan postranscripcionalmente la expresión del gen supresor tumoral p27, que está implicado en la regulación del ciclo celular. En estos estudios, se demostró que la regulación por disminución de miR-221 y miR-222 aumentaba los niveles de expresión de p27. Por tanto, como lectura funcional del antagonismo de la familia de the miR-221/222 por el LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225, los inventores determinaron que los niveles de proteínas de p27 tras la transfección del LNA-antimiR de SEC ID N° 3225 en células PC3 en comparación con un control de coincidencia errónea de LNA de 8 unidades. Tras 24 horas, se recogieron las células para el análisis de transferencia de tipo western (figura 19).

Resultados: Como se muestra en la figura 19, la transfección con el LNA-antimiR de 7 unidades SEC ID N° 3225 dirigido a la secuencia semilla en miR-221 y miR-222 tuvo como resultado un incremento dependiente de la dosis de los niveles de la proteína p27 en comparación con las células PCR no transfectadas o transfectadas con el control de coincidencia errónea de LNA. Estos resultados demuestran claramente que el LNA-antimiR de 7 unidades puede antagonizar de forma eficaz la familia miR-221/222, lo que conduce a la des-represión de la p27 diana directa a nivel proteico.

Conclusión: Un LNA-antimiR de 7 unidades completamente modificado con LNA dirigido a la secuencia semilla en la familia miR-221/222 antagonizó de forma eficaz ambos miARN, lo que conduce a la des-represión de la p27 diana directa a nivel proteico.

Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de próstata humano PC3 se adquirió en la ECACC (#90112714). Las células PC3 cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

Transfección: Se sembraron 250.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50% al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con LNA-antimiR a varias concentraciones con lipofectamina2000. Tras 24 horas, se recogieron las células para la extracción de proteínas y el análisis de transferencia de tipo western.

Análisis de transferencia de tipo Western: Las células se lavaron con PBS, se digirieron con tripsina, se transfirieron a tubos de eppendorf y se añadieron 250 µl de tampón de lisis (1xRIPA). El lisado celular se colocó en hielo durante 20 minutos y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos, La concentración de proteínas se midió con Coomassie Plus de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se cargaron 100 ug sobre un gel de 4-12 % de BIS-TRIS. La membrana se incubó durante la noche a 4 °C con el anticuerpo primario monoclonal de ratón p27 (BD Biosciences) a una dilución de 1:1000. Se visualizaron bandas inmunorreactivas con ECL Plus (Amersham).

**Ejemplo 20. Temperaturas de fusión del dúplex (T<sub>m</sub>) de los LNA-antimiR.**

Como se muestra en la tabla 5, los valores de T<sub>m</sub> aumentan cuando aumenta la longitud de los LNA-antimiR cortos completamente modificados (véanse los valores de T<sub>m</sub> para las SEC ID N° 3205, SEC ID N° 3209-3214 en la tabla 7). El efecto inhibitor más óptimo se alcanzó con el LNA-antimiR de 8 unidades de SEC ID N° 3205 contra miR-21, mientras que la T<sub>m</sub> muy baja de la SEC ID N° 3209 de 6 unidades es muy probable que no sea suficiente para participar en el antagonismo del miR-21 diana. Por otro lado, aumentar la longitud a más de 10 unidades (SEC ID N°

32112) aumenta significativamente la  $T_m$ , al tiempo que disminuye simultáneamente la actividad inhibidora medida usando el indicador miR-21 de la luciferasa, que es muy probable que se deba a la elevada propensión de los LNA-antimiR completamente modificados de 12 y 14 unidades a formar homodímeros. Los experimentos que usan una ventana deslizante de LNA-antimiR completamente modificados de 8 unidades a través de la secuencia de reconocimiento de miR-21 demuestran claramente que además del valor de la  $T_m$  adecuado el LNA-antimiR, la región semilla es la más crítica para la función de los miARN y, por tanto, la región más óptima a la que dirigir un LNA-antimiR.

Tabla 5. Valores de  $T_m$  para LNA-antimiR de miR-21 medidos contra un oligonucleótido de ARN complementario.

SEC ID N°	microARN	Longitud (pb)	Secuencia	$T_m$ medida (ARN) °C
3205	miR-21	8	5'- GATAAGCT -3'	64,0
3209	miR-21	6	5'- TAAGCT -3'	32,0
3210	miR-21	7	5'- ATAAGCT -3'	45,0
3211	miR-21	9	5'- TGATAAGCT -3'	65,0
3212	miR-21	10	5'- CTGATAAGCT -3'	63,0
3213	miR-21	12	5'- GTCTGATAAGCT -3'	86,8
3214	miR-21	14	5'- CAGTCTGATAAGCT -3'	89,9
3215	miR-21	8	5'- TCTGATAA - 3'	56,0
3216	miR-21	8	5'- ATCAGTCT - 3	72,0
3217	miR-21	8	5'- TCAACATC - 3	48,0

Conclusión: Los valores de  $T_m$  junto con datos experimentales obtenidos con indicadores de la luciferasa muestran que el potente antagonismo mediante LNA-antimiR no solo depende de la  $T_m$  sino que también depende de la posición del LNA-antimiR dentro de la secuencia de reconocimiento de microARN.

#### 15 Materiales y procedimientos:

Mediciones de la  $T_m$ : Los dúplex de ARN oligonucleótido:miR-21 se diluyeron a 3  $\mu$ M en 500  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O sin RNasa free y se mezclaron con 500  $\mu$ l de tampón 2x  $T_m$ - (200 mM NaCl, 0,2 mM EDTA, 20 mM Na-fosfato, pH 7,0). La solución se calentó hasta 95 °C durante 3 minutos y después se dejó hibridar a TA durante 3 minutos. Las temperaturas de fusión ( $T_m$ ) del dúplex se midieron en un espectrofotómetro Lambda 40 UV/VIS equipado con un programador de temperatura Peltier PTP6 usando el software PE Templab (Perkin Elmer). La temperatura se subió desde 20 °C a 5 °C y después se bajó a 25 °C, registrando la absorción a 260 nm. El primer derivado y los máximos locales de la fusión y la hibridación se usaron para evaluar las temperaturas de fusión del dúplex.

#### 25 **Ejemplo 21. Evaluación del antagonismo de miR-21 mediante comparación de LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3205) frente a LNA-antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3204) en la línea celular hepatocítica humana HepG2.**

Anteriormente los inventores han mostrado en esta solicitud que un LNA-antimiR de 8 unidades que está completamente modificado con LNA y fosforotiolado antagoniza con eficacia el miR-21 en la línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa, la línea celular de carcinoma de mama humano MCF-7 y la línea celular de cáncer de próstata humano PC3. Los inventores han ampliado este enfoque de cribado a la línea celular de carcinoma hepatocelular humano HepG2. Para evaluar la eficiencia del oligonucleótido LNA-antimiR de 8 unidades contra miR-21 se generaron constructos indicadores de luciferasa en los que se clonó un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-21 maduro en la región 3'UTR del gen de la luciferasa de renilla. Con el fin de monitorizar la inhibición de miR-21, las células HepG2 se transfectaron con los diferentes constructos de luciferasa junto con el antagonista de miR-21 de SEC ID N° 3205 (8 unidades) y para una comparación de la especificidad con el LNA-antimiR de 8 unidades con coincidencia errónea (SEC ID N° 3218) y para comparar la potencia junto con el de 15 unidades (SEC ID N° 3204) a varias concentraciones. Tras 24 horas, se midió la actividad de luciferasa.

Resultados: Los experimentos indicadores de luciferasa mostraron una des-represión dependiente de la dosis de la actividad indicadora de luciferasa de miR-21 con el LNA-antimiR de 15 unidades contra miR-21 (SEC ID N° 3204). No obstante, la des-represión completa del indicador de luciferasa no se obtuvo ni siquiera a las concentraciones más altas (figura 20). En contraste, las células que se transfectaron con el LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA (SEC ID N° 3205) mostró des-represión completa ya a 5 nM, lo que indica una potencia significativamente mejorada en comparación con el LNA-antimiR de 15 unidades.

Al comparar la especificidad de la coincidencia perfecta de 8 unidades y de la coincidencia errónea de 8 unidades, el

LNA-antimiR de coincidencia errónea (SEC ID N° 3218) no mostró ninguna des-represión en absoluto, lo que demuestra una especificidad elevada del compuesto LNA-antimiR contra miR-21.

5 Conclusión: El de 8 unidades (SEC ID N° 3205) es más potente que el LNA-antimiR de 15 unidades en cuanto a estar dirigido a miR-21 y el antagonismo de miR-21 por el n° 3205 es específico.

Materiales y procedimientos:

10 Línea celular: La línea celular HepG2 hepatocítica humana se adquirió de la ECACC (#85011430). Las células HepG2 se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

15 Transfección: Se sembraron 650.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos y se realizó transfección inversa. Las células HepG2 se transfectaron con 0,6 ug de miR-21 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 2,55 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

20 Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a los pocillos se añadieron 300 µl de 1x tampón de lisis pasiva (Promega). Las placas se introdujeron en un agitador durante 30 minutos, tras lo cual los lisados celulares se transfirieron a tubos de eppendorf. El lisado celular se centrifugó durante 10 minutos y 2.500 rpm, tras lo cual se transfirieron 50 µl a una placa de 96 pocillos y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

25 **Ejemplo 22. Validación de la interacción del sitio diana de miR-21 en la Pdc43'-UTR y miR-21 usando el LNA-antimiR de 8 unidades de SEC ID N° 3205 en la línea celular hepatocelular humana Huh-7.**

30 La proteína supresora tumoral Pdc4 inhibe la estimulación y la progresión tumoral. Además, la regulación por disminución de Pdc4 en el cáncer de pulmón y colorrectal también se ha asociado con un mal pronóstico para el paciente. Recientemente, Asangani y col. (Oncogene 2007) y Frankel y col., (J Biol Chem 2008) mostraron que la Pdc43'-UTR contiene un sitio diana conservado para miR-21 y transfectar las células con un antimiR-21 tuvo como resultado un incremento de la proteína Pdc4. Por tanto, los inventores construyeron un plásmido indicador de luciferasa que aloja 313 nt de la región 3'UTR de Pdc4, que abarca el sitio diana de miR-21 mencionado anteriormente, que se co-transfectó junto con diferentes LNA-antimiR y pre-miR-21 (10 nM) en células Huh-7. Los diferentes LNA-antimiR fueron de SEC ID N° 3205 (8 unidades, coincidencia perfecta), de SEC ID N° 3218 (8 unidades, coincidencia errónea) y de SEC ID N° 3204 (15 unidades, mixto ADN/LNA). Se realizaron mediciones de la actividad de luciferasa tras 24 horas.

40 Resultados: Como se muestra en la figura 21, en células transfectadas con el indicador de la luciferasa de Pdc4 3'UTR y la SEC ID N° 3205 se observó un incremento de la actividad de luciferasa, lo que indica una interacción entre Pdc4 3'UTR and miR-21. No obstante, transfectar las células con el compuesto con coincidencia errónea, SEC ID N1 3218, no se observaron cambios en la actividad de luciferasa, lo que estaba previsto ya que el compuesto no antagoniza miR-21. Cuando se comparó el LNA-antimiR de 8 unidades contra el LNA-antimiR de 15 unidades (SEC ID N° 3204), el LNA-antimiR corto completamente modificado con LNA y fosforotiolado fue significativamente más potente, lo que confirma los datos previos.

Materiales y procedimientos:

50 Línea celular: La línea celular de hepatoma humano Huh-7 fue un amable regalo de R. Bartenschlager, Dept Mol Virology, University of Heidelberg). Las células Huh-7 se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

55 Transfección: Se sembraron 11.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células Huh-7 se transfectaron con 20 ug de Pdc43'UTR/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con pre-miR-21 10 nM (Ambion) y 0,14 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de oligonucleótidos de LNA-antimiR. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

60 Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron y a cada pocillo se añadieron 30 µl 1 x de tampón de lisis pasivo (Promega), tras lo cual las placas de 96 pocillos se introdujeron en un agitador orbital. Tras 30 minutos, 50 µl del sustrato de luciferasa disueltos en el tampón de ensayo de luciferasa II (Dual-Luciferase Reporter Assay System from Promega, n° de cat. E1910) se añadieron a los pocillos con las células lisadas y se realizaron mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

65

**Ejemplo 23. Evaluación de los niveles de la proteína Pdc4 como lectura funcional del antagonismo de miR-21 por LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3205).**

5 Además, los inventores también transfectaron células HeLa con la SEC ID N° 3205 (coincidencia perfecta), SEC ID N° 3218 (coincidencia errónea), SEC ID N° 3219 (mixto) y se analizaron los niveles de la proteína Pdc4 tras 24 horas con transferencia de tipo western (figura 22). Como se ha mostrado, en los extractos proteicos de las células en las que se ha añadido la SEC ID N° 3205, los niveles de la proteína Pdc4 aumentan, debido al antagonismo de mir-2 por la SEC ID N° 3205 en contraste con los dos oligonucleótidos de LNA control.

10 Conclusión: El antagonismo de miR-21 usando uno de 8 unidades (SEC ID N° 3205) conduce a la des-represión del antagonismo de Pdc4 diana directo de miR-21.

Materiales y procedimientos:

15 Línea celular: La línea celular de carcinoma de cérvix humano HeLa se adquirió de la ECACC (#93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

20 Transfección: Se sembraron 200.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con oligonucleótidos de LNA 5 nM y 2,5 pg/ml de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Tras 24 horas, se recogieron las células para el análisis de transferencia de tipo western.

25 Análisis de transferencia de tipo Western: Las células se lavaron con PBS, se digirieron con tripsina, se transfirieron a tubos de eppendorf y se añadieron 50 µl de tampón de lisis (1xRIPA). El lisado celular se colocó en hielo durante 20 minutos y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos, Se cargaron cantidades iguales (15 µl del lisado celular) en un gel de 4-12% BIS-TRIS. Las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa usando iBlot (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. La membrana se incubó durante la noche a 4 °C con el anticuerpo primario de suero de conejo purificado por afinidad de Pdc4 (Rockland) con una concentración de 1:2000. Como control se usaron anticuerpos anti-beta-tubulina (Thermo Scientific) a una dilución de 1:5000. Se visualizaron bandas inmunorreactivas con ECL Plus (Amersham).

**Ejemplo 24. Evaluación de la potencial hepatotoxicidad del LNA-antimiR de coincidencia perfecta de 8 unidades SEC ID N° 3205 y el control de coincidencia errónea de LNA SEC ID N° 3218.**

35 Cada compuesto se inyectó en ratones NMRI hembra a dosis de 25 mg/kg, 5 mg/kg y 1 mg/kg, en días alternos durante 2 semanas. Se sacrificó a los animales y se recogió el suero de la sangre entera para realizar análisis de ALT y AST. Como se ve en la figura 23, los niveles de ALT y AST no estaban elevados para la SEC ID N° 3205 en comparación con la solución salina o con la SEC ID N° 3218 (control de coincidencia errónea). No obstante, un ratón mostró niveles elevados (en rojo), ya que las muestras de suero estaban contaminadas con glóbulos rojos, que contienen niveles de ALT y AST 6-8 veces mayores en comparación con el plasma. Los ratones que recibieron 5 mg/kg y 1 mg/kg también se analizaron para determinar los niveles de ALT y AST y no mostraron cambios en comparación con los animales control tratados con solución salina (datos no mostrados).

Materiales y procedimientos:Diseño experimental:

50

N° de gr.	N° de Id del animal	N° de ratones	Nivel de dosis de compuesto al día	Conc. a vol. de dosis de 10 ml/kg	Vía de administración	Posología
1	1-10	10	NaCl 0,9%	-	i.v	0, 2, 4, 7, 9
2	11-15	5	SEC ID N° 3205 25 mg/kg	2,5 mg/ml	i.v	0, 2, 4, 7, 9
3	16-20	5	SEC ID N° 3205 5 mg/kg	0,5 mg/ml	i.v	0, 2, 4, 7, 9
4	21-25	5	SEC ID N° 3205 1 mg/kg	0,1 mg/ml	i.v	0, 2, 4, 7, 9
5	26-30	5	SEC ID N° 3230 25 mg/kg	2,5 mg/ml	i.v	0, 2, 4, 7, 9
6	31-35	5	SEC ID N° 3230 5 mg/kg	0,5 mg/ml	i.v	0, 2, 4, 7, 9

Sacrificio: Se sacrificó a los animales mediante dislocación cervical.

**Obtención de muestras de suero para análisis de ALT/AST:** Se anestesió a los animales con 70 % de CO<sub>2</sub>-30% O<sub>2</sub> antes de recoger la sangre del seno retroorbital. La sangre se recogió en viales con suero-gel S-monovette. De cada ratón individual se recogieron las muestras de suero y se almacenaron. Las muestras de sangre se almacenaron a temperatura ambiente durante dos horas y, después, se centrifugaron 10 minutos a 3.000 rpm a temperatura ambiente. Las fracciones de suero se recolectaron en tubos Eppendorf en hielo húmedo. Determinaciones de los niveles de ALT y AST: Las determinaciones de los niveles de ALT y AST se realizaron en placas de 96 pocillos usando reactivos para ALT y AST de ABX Pentra (A11A01627 - ALT, A11A01629 - AST) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En resumen, las muestras de suero se diluyeron por 2,5 con H<sub>2</sub>O y cada muestra se analizó por duplicado. Tras la adición de 50 µl de la muestra diluida o estándar (multical from ABX Pentra - A11A01652) a cada pocillo, a cada pocillo se añadieron 200 µl de la mezcla de reactivos para AST o ALT a 37 °C. Se realizaron determinaciones cinéticas durante 5 minutos con un intervalo de 30 s a 340 nm y 37 °C.

**Ejemplo 25. Evaluación de los niveles de la proteína PU.1 como lectura funcional del antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR corto (SEC ID N° 3207).**

Los inventores han mostrado previamente que el miR-155 de 8 unidades antagonizante (SEC ID N° 3207) conduce a la des-represión de la diana de miR-155 c/EBPbeta en células macrófagos de ratón RAW. Para verificar adicionalmente la potencia de la SEC ID N° 3207, los inventores determinaron los niveles de proteína de otra diana de miR-155, U.1 As como lectura funcional para el antagonismo de miR-155 por el LNA-antimiR corto (SEC ID N° 3207) mediante análisis de transferencia de tipo western. El antagonismo se verificó en la línea celular monocítica humana THP-1 que se transfectó junto con un LNA de 8 unidades de coincidencia perfecta (SEC ID N° 3207) o control de 8 unidades en ausencia o presencia de pre-miR-155. Se usó LPS para inducir la acumulación de miR-155 y las células se recogieron tras 24 horas.

Resultados: Las células THP-1 que se transfectaron con pre-miR-155 muestra una disminución de los niveles de PU.1 (figura 24). Transfectar las células con la SEC ID N° 3207 completamente modificada con LNA y fosforiolada antagoniza con eficacia miR-155, lo que conduce a niveles no alterados de la proteína PU.1. Por comparación, la transfección de las células con un LNA control de 8 unidades disminuyó los niveles de PU.1, lo que indica que el antagonismo de miR-155 por el LNA-antimiR de SEC ID 3207 es específico.

Conclusión: El antagonismo de miR-155 usando uno de 8 unidades conduce a la des-represión de la PU.1 diana directa en células THP-1 humanas.

**Materiales y procedimientos:**

**Línea celular:** La línea celular de monocitos humanos THP-1 se adquirió de la ECACC (#88081201). Las células THP-1 se cultivaron en medio RPMI 1640 con L-glutamina suplementado con 10% de suero bovino fetal.

**Transfección:** Se sembraron 200.000 células por pocillo en una placa de 12 pocillos el día antes. El día de la transfección, las células THP-1 se transfectaron con 5 nmol de pre-miR-155 (Ambion) y/o LNA-antimiR 5 nM junto con Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se añadió LPS (100 ng/ml) a las células después de la incubación durante 4 horas con los complejos de transfección. Tras 24 horas, se recogieron las células para la extracción de proteínas y el análisis de transferencia de tipo western.

**Análisis de transferencia de tipo Western:** Las células se lavaron con PBS, se digirieron con tripsina, se transfirieron a tubos de eppendorf y se añadieron 50 µl de tampón de lisis (1xRIPA). El lisado celular se colocó en hielo durante 20 minutos y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos, Se cargaron cantidades iguales (15 µl del lisado celular) en un gel de 4-12% BIS-TRIS. Las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa usando iBlot (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La membrana se incubó durante la noche a 4 °C con el anticuerpo monoclonal de conejo PU.1 (Cell Signaling) con una concentración de 1:2.000. Como carga equivalente se usó tubulina (Thermo Scientific) a una dilución de 1:5.000. Se visualizaron bandas inmunorreactivas con ECL Plus (Amersham).

**Ejemplo 26. Evaluación de los niveles de la proteína p27 como lectura funcional del antagonismo de la familia miR-221/222 por el LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225.**

Los trabajos previos han mostrado (le Sage et al. 2007, Galardi et al. 2007) que miR-221 y miR-222 regulan postranscripcionalmente la expresión del gen supresor tumoral p27, que está implicado en la regulación del ciclo celular. En estos estudios, se demostró que la regulación por disminución de miR-221 y miR-222 aumentaba los niveles de expresión de p27. Por tanto, como lectura funcional del antagonismo de la familia de the miR-221/222 por el LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225, los inventores determinaron que los niveles de proteínas de p27 tras la transfección del LNA-antimiR de SEC ID N° 3225 en células PC3.

Resultados: Como se muestra en la figura 25, la transfección con el LNA-antimiR de 7 unidades SEC ID N° 3225 dirigido a la secuencia semilla en miR-221 y miR-222 tuvo como resultado un incremento dependiente de la dosis de los niveles de la proteína p27 en comparación con las células PC3 no transfectadas o transfectadas con el control

mixto de LNA. Estos resultados demuestran claramente que el LNA-antimiR de 7 unidades puede antagonizar de forma eficaz la familia miR-221/222, lo que conduce a la des-represión de la p27 diana directa a nivel proteico a concentraciones tan bajas como de 5 nM.

- 5 Conclusión: Un LNA-antimiR de 7 unidades completamente modificado con LNA dirigido a la secuencia semilla en la familia miR-221/222 a 5 nM antagonizó de forma eficaz ambos miARN, lo que conduce a la des-represión de la p27 diana directa a nivel proteico.

10 Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de próstata humano PC3 se adquirió de la ECACC (#90112714). Las células PC3 se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

- 15 Transfección: Se sembraron 250.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50% al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con oligonucleótidos de LNA a varias concentraciones (véase la figura 25) con lipofectamina2000. Tras 24 horas, se recogieron las células para la extracción de proteínas y el análisis de transferencia de tipo western.

- 20 Análisis de transferencia de tipo Western: Las células se lavaron con PBS, se digirieron con tripsina, se transfirieron a tubos de eppendorf y se añadieron 50 µl de tampón de lisis (1xRIPA). El lisado celular se colocó en hielo durante 20 minutos y se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos. Se cargaron cantidades iguales (15 µl del lisado celular) en un gel de 4-12% BIS-TRIS. Las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa usando iBlot (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. La membrana se incubó durante la noche a 4 °C con el anticuerpo primario monoclonal de ratón p27 (BD Biosciences) a una dilución de 1:1000. Como carga control se usó tubulina (Thermo Scientific) a una dilución de 1:5.000. Se visualizaron bandas inmunorreactivas con ECL Plus (Amersham).

30 **Ejemplo 27. La eliminación de miR-221/222 por el LNA-antimiR de 7 unidades de SEC ID N° 3225 reduce la formación de colonias en células PC3.**

Una característica principal de la transformación celular es la capacidad de las células tumorales para crecer de un modo independiente de un ancla en medio semisólido. Por tanto, los inventores realizaron un ensayo en agar blando que es un ensayo fenotípico que es relevante para el cáncer, dado que mide la disminución de las células tumorales. Los inventores transfectaron la SEC ID N° 3225 (coincidencia perfecta) y la SEC ID N° 3231 (mixto) en las células PC3 y tras 24 horas se sembraron en agar blando. Tras 12 días se contaron las colonias. En la figura 26, los inventores muestran que la inhibición de miR-221 y miR-222 por la SEC ID N° 3225 puede reducir la cantidad de colonias que crecen en agar blando, en comparación con el LNA-antimiR control mixto, lo que indica disminución de las células tumorales.

- 40 Conclusión: El de 7 unidades (SEC ID N° 3225) dirigido a la familia miR-221/222 reduce el número de colonias en agar blando, lo que indica una detención de la proliferación en las células PC3.

45 Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de próstata humano PC3 se adquirió de la ECACC (#90112714). Las células PC3 se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

- 50 Transfección: Se sembraron 250.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50% al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con 25 nM de diferentes oligonucleótidos de LNA con lipofectamina2000.

- 55 Crecimiento clonogénico en agar blando: 2,5 x 10<sup>3</sup> células PC3 se sembraron en 0,35% de agar encima de una capa base que contiene 0,5 % de agar. Las células se sembraron en placas 24 horas después de la transfección. Las placas se incubaron a 37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub> en un incubador humidificado durante 12 días y se tiñeron con 0,005 % de cristal violeta durante 1 hora, tras lo cual las células se contaron. El ensayo se realizó por triplicado.

60 **Ejemplo 28: Evaluación del antagonismo de let-7 mediante LNA-antimiR de 6-9 unidades en células HuH-7 transfectadas con el miARN precursor de let-7a y ensayo sensor de luciferasa.**

Con el fin de evaluar la eficiencia de los oligonucleótidos de 6-9 unidades completamente modificados con LNA en apuntar y antagonizar la familia let-7 de miARN se realizó un constructor sensor de luciferasa que contiene aproximadamente 800 pb de la HMGA2 3'UTR. La secuencia clonada en el vector contiene cuatro de siete sitios de unión a let-7 funcionales (sitios 2-5), como previamente han demostrado Mayr y col., (Science, 2007) y Lee y Dutta (Genes Dev, 2007). Con el fin de monitorizar la inhibición de let-7, la línea celular de carcinoma hepatocelular Huh-7

65

(con niveles bajos o inexistentes de let-7 endógena) se transfectó con el constructo sensor de luciferasa, con miARN precursor de let-7a y con los antagonistas de 6-9 unidades de let-7 de SEC ID N° 3232, -3233, -3227, -3234, -3235; véase la figura 27) a concentraciones crecientes. Los LNA-antimiR de 6-9 unidades se compararon con la SEC ID N° 3226, uno de 15 unidades contra let-7a como control positivo. Tras 24 horas, se midió la actividad de luciferasa.

5 Resultados: Como se ve en la figura 28, los LNA-antimiR de 8 y 9 unidades modificados completamente con LNA (SEC ID N 3227, SEC ID N° 3234 y SEC ID N° 3235) muestran potencias similares en la des-represión de las dianas de let-7 en el ensayo sensor de luciferasa, como control positivo de la SEC ID N° 3226 de 15 unidades. La des-represión diana completa para estos compuestos altamente potentes ya se consigue a 1-5 nM, mientras que la SEC ID N° 3233 de 7 unidades tiene que estar presente a concentraciones ligeramente mayores (10 nM) para generar el mismo efecto. No obstante, la SEC ID N° 3232 de 6 unidades no muestra ningún efecto incluso concentraciones altas como 50 nM. La des-represión de la actividad luciferasa por los LNA-antimiR de 7-9 y de 15 unidades depende de la dosis, que está particularmente claro en el caso del a SEC ID 3233 ligeramente menos potente.

15 Conclusión: Para concluir, los LNA-antimiR de 8-9 unidades (SEC ID N° 3227, SEC ID N° 3234 y SEC ID N° 3235) muestran potencias antagonistas iguales en la inhibición de let-7a in vitro en comparación con el LNA-antimivir de 15 unidades de SEC ID N° 3226 dirigido a let-7a. También se observa un potente efecto, aunque a concentraciones ligeramente mayores, de la SEC ID N° 3233 de 7 unidades, mientras que la de 6 unidades no tiene efecto a las concentraciones analizadas.

20 Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma hepatocelular humano Huh-7 fue un amable regalo de R. Bartinschlager (Dept Mol Virology, University of Heidelberg). Las células Huh-7 se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

Transfección: Se sembraron 8.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 60-80% al día siguiente. El día de la transfección, las células Huh-7 de cada pocillo se co-transfectaron con 20 ng de HMGA2 3'UTR/plásmido psiCHECK2, el miARN precursor de let-7a (Dharmacon; concentración final 10 nM), LNA-antimiR de SEC ID N° 3232, 3233, 3227, 3224, 3235, 3226, (0-50 nM, concentraciones finales) junto con 0,17 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

Ensayo de la luciferasa: Se descartó el medio de crecimiento y a cada pocillo se añadieron 30 µl de 1x tampón de lisis pasiva (Promega). Tras 15-30 minutos de incubación en un agitador orbital se realizaron mediciones de la luciferasa de renilla y de luciérnaga de acuerdo las instrucciones del fabricante.

**Ejemplo 29: Evaluación del antagonismo de toda la familia let-7 por los LNA-antimiR de 8 y 15 unidades en células HuH-7 transfectadas con un ensayo sensor de luciferasa.**

40 Con el fin de evaluar la eficiencia de un oligonucleótido de 8 unidades completamente modificado con LNA en antagonizar la familia let-7 de miARN se usó el mismo constructo sensor de luciferasa que se ha descrito en el ejemplo anterior. De nuevo, las células Huh-7 (con niveles bajos o inexistentes de let-7 endógeno) se transfectaron con el constructo sensor, con uno de los precursores representativos de la familia let-7a, let-7d, let-7e, o let-7i y con el antagonista de SEC ID N° 3227 a concentraciones crecientes. Los LNA-antimiR de 8 unidades se comparó con la SEC ID N° 3226, uno de 15 unidades contra let-7a como control positivo y potente. Tras 24 horas, se midió la actividad de luciferasa.

50 Resultados: Como se ve en la figura 29, los LNA-antimiR de 8 y 9 unidades modificados completamente con LNA (SEC ID N 3227, SEC ID N° 3234 y SEC ID N° 8) muestran potencias similares en la des-represión de las diversas dianas de let-7 en el ensayo sensor de luciferasa, como control positivo de la SEC ID N° 3226 de 15 unidades. Casi toda la des-represión de la diana para el compuesto de 8 unidades ya se consigue a 0,5-1 nM, excepto en el caso con let-7e premiR (figura 29C), del que solo hibridan con la diana 7 de 8 nucleótidos de la SEC ID N° 3227. No obstante, a pesar de la coincidencia errónea terminal en este caso, la SEC ID N° 3227 genera una des-represión completa de la diana a 5 nM. El control positivo de 15 unidades muestra un potente antagonismo de todos los precursores y da una des-represión casi completa a 0,5 nM. La des-represión de la actividad luciferasa por los LNA-antimiR de 8 y de 15 unidades depende claramente de la dosis, como se ve en los cuatro paneles (figura 29A-D).

60 Conclusión: Para concluir, el LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3227) es un potente antagonista de cuatro miembros representativos de la familia let-7 in vitro y, por tanto, probablemente de toda la familia. En comparación con un antagonista control positivo de 15 unidades, la SEC ID N° 3226, el de 8 unidades tiene la misma potencia para tres de cuatro dianas y es ligeramente menos potente para la cuarta diana, let-7e, que se explica por una coincidencia errónea terminal en este caso.

65 Materiales y procedimientos:

**Línea celular:** La línea celular de carcinoma hepatocelular Huh-7 fue un amable regalo de R. Bartenschlager, Dept Mol Virology, University of Heidelberg). Las células Huh-7 se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

5 **Transfección:** Se sembraron 8.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 60-80% al día siguiente. El día de la transfección, las células Huh-7 de cada pocillo se co-transfectaron con 20 ng de HMGA2 3'UTR/plásmido psiCHECK2, con el miARN precursor de let-7a, -7d, -7e, o -7i (Dharmacon; concentración final 10 nM) y con LNA-antimiR de SEC ID N° 3227 y SEC ID N° 3226; 0-50 nM, concentraciones finales, junto con 0,17 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

10 **Ensayo de la luciferasa:** Se descartó el medio de crecimiento y a cada pocillo se añadieron 30 µl de 1x tampón de lisis pasiva (Promega). Tras 15-30 minutos de incubación en un agitador orbital se realizaron mediciones de la luciferasa de renilla y de luciérnaga de acuerdo las instrucciones del fabricante.

15 **Ejemplo 30. Evaluación del antagonismo de let-7 endógeno mediante anti-miR de LNA de 8 unidades de SEC ID N° 3227 en células HeLa transfectadas con un ensayo sensor de luciferasa.**

20 Con el fin de determinar la eficiencia de un oligonucleótido de 8 unidades completamente modificado con LNA para apuntar y antagonizar el let-7 endógeno, el mismo constructor sensor de la luciferasa que se ha descrito en los dos ejemplos anteriores se co-transfectó con la SEC ID N° 3227 en la línea celular de cáncer cervical HeLa (que expresa niveles de moderados a altos de let-7 como determina la Q-PCR, datos no mostrados). Como control negativo se incluyó el vector psiCHECK-2 vacío.

25 **Resultados:** Como se ve en la figura 30, el LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA (SEC ID N° 3227) muestra un potente antagonismo del let-7 endógeno y proporciona una des-represión completa de la diana a las concentraciones de 5-10 nM. La des-represión de la actividad luciferasa depende de la dosis, comenzando alrededor de 1 nM y alcanzando un equilibrio a aproximadamente 10 nM.

30 **Conclusión:** Para concluir, el LNA-antimiR de 8 unidades (SEC ID N° 3227) es un potente antagonista del let-7 endógeno *in vitro* y, por tanto, proporciona una evidencia definitiva de que todas las familias de miARN pueden ser objetivos satisfactorios de antagonistas completamente modificados con LNA y cortos.

35 **Materiales y procedimientos:**

**Línea celular:** La línea celular de cáncer cervical HeLa se adquirió de la ATCC (#CCL-2™). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM de Eagle suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM, 1x NEAA y Gentamicina 25 ug/ml.

40 **Transfección:** Se sembraron 8.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 50-70% al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa de cada pocillo se co-transfectaron con 20 ng de HMGA2 3'UTR/plásmido psiCHECK2 o psiCHECK2 (vector vacío) y con LNA-antimiR de SEC ID N° 3227 (0-50 nM, concentraciones finales) junto con 0,17 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

45 **Ensayo de la luciferasa:** Se descartó el medio de crecimiento y a cada pocillo se añadieron 30 µl de 1x tampón de lisis pasiva (Promega). Tras 15-30 minutos de incubación en un agitador orbital se realizaron mediciones de la luciferasa de renilla y de luciérnaga de acuerdo las instrucciones del fabricante.

50 **Ejemplo 31. Evaluación del antagonismo de miR-21 mediante LNA-antimiR-21 de 8 unidades (n° 3205) frente a LNA control mixto de 8 unidades (n° 3219) en la línea celular de carcinoma de colon humano HCT116.**

55 Anteriormente los inventores han mostrado en esta solicitud que un LNA-antimiR de 8 unidades que está completamente modificado con LNA y fosforotiolado antagoniza con eficacia el miR-21 en la línea celular de carcinoma de cerviz humano HeLa, la línea celular de carcinoma de mama humano MCF-7, la línea celular de cáncer de próstata humano PC3 y la línea celular de carcinoma hepatocelular humano HepG2. Los inventores han ampliado este enfoque de cribado a la línea celular de carcinoma de colon HCT116. Para evaluar la eficiencia del oligonucleótido LNA-antimiR de 8 unidades contra miR-21 se generaron constructos indicadores de luciferasa en los que se clonó un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-21 maduro en la región 3'UTR del gen de la luciferasa de renilla. Con el fin de monitorizar la inhibición de miR-21, las células HCT116 se transfectaron con los constructos de luciferasa junto con el antagonista de miR-21 n° 3205 (8 unidades) y para una comparación de la especificidad con el LNA-control mixto de 8 unidades (n° 3219). Tras 24 horas, se midió la actividad de luciferasa.

65 **Resultados:** Los experimentos indicadores de luciferasa mostraron una des-represión dependiente de la dosis de la actividad indicadora de luciferasa de miR-21 con el LNA-antimiR de 8 unidades contra miR-21 (n° 3205) y se obtuvo

una des-represión completa a 5 nM (figura 31). Al comparar la especificidad de la coincidencia perfecta de 8 unidades y del control mixto de 8 unidades, el LNA-antimiR control mixto (nº 3219) no mostró ninguna des-represión en absoluto, lo que demuestra una especificidad elevada del compuesto LNA-antimiR contra miR-21.

- 5 Conclusión: El de 8 unidades (nº 3205) es potente frente a miR-21 y el antagonismo de miR-21 por el nº 3205 es específico.

Materiales y procedimientos:

- 10 Línea celular: La línea celular de carcinoma de colon humano HCT116 se adquirió de la ATCC (CCL-247). Las células HCT116 se cultivaron en medio RPMI suplementado con 10% de suero bovino fetal y Gentamicina 25 ug/ml.

- 15 Transfección: Se sembraron 110.000 células por pocillo en una placa de 12 pocillos y se realizó transfección. Las células HCT116 se transfectaron con 0,3 ug del plásmido sensor de luciferasa miR-21 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 1,2 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. También se transfectaron LNA-antimiR y oligonucleótidos control como concentraciones variables. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

- 20 Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y a los pocillos se añadieron 250 µl de 1x tampón de lisis pasiva (Promega). Las placas se introdujeron en un agitador durante 30 minutos, tras lo cual los lisados celulares se transfirieron a tubos de eppendorf. El lisado celular se centrifugó durante 10 minutos y 2.500 rpm, tras lo cual se transfirieron 50 µl a una placa de 96 pocillos y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

- 25 **Ejemplo 32. La eliminación de miR-21 por el LNA-antimiR de 8 unidades nº 3205 reduce la formación de colonias en células PC3.**

- Una característica principal de la transformación celular es la capacidad de las células tumorales para crecer de un modo independiente de un ancla en medio semisólido. Por tanto, los inventores realizaron un ensayo en agar blando que es un ensayo fenotípico que es relevante para el cáncer, dado que mide la disminución de las células tumorales. Los inventores transfectaron el nº 3205 (LNA-antimiR-21 de coincidencia perfecta) y el nº 3219 (control mixto de LNA) en las células PC3 y tras 24 horas se sembraron en agar blando. Tras 12 días se contaron las colonias. En la figura 32, los inventores muestran que la inhibición de miR-21 por el nº 3205 puede reducir la cantidad de colonias que crecen en agar blando, en comparación con el control tratado o no tratado con LNA control mixto (transfectado, pero sin LNA), lo que demuestra la disminución de las células tumorales.

Conclusión: El de 8 unidades (nº 3205) dirigido a la familia miR-21 reduce el número de colonias en agar blando, lo que demuestra una detención de la proliferación en las células PC3.

- 40 Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de próstata humano PC3 se adquirió de la ECACC (#90112714). Las células PC3 se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

- 45 Transfección: Se sembraron 250.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50% al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con 25 nM de diferentes oligonucleótidos de LNA con lipofectamina2000.

- 50 Crecimiento clonogénico en agar blando:  $2,5 \times 10^3$  células PC3 se sembraron en 0,35% de agar encima de una capa base que contiene 0,5 % de agar. Las células se sembraron en placas 24 horas después de la transfección. Las placas se incubaron a 37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub> en un incubador humidificado durante 12 días y se tiñeron con 0,005 % de cristal violeta durante 1 hora, tras lo cual las células se contaron. El ensayo se realizó por triplicado.

- 55 **Ejemplo 33. La silencianción de miR-21 por el LNA-antimiR de 8 unidades nº 3205 reduce la formación de colonias de las células HepG2.**

- Se sobreexpresa miR-21 en la línea celular de carcinoma hepatocelular humano HepG2 y los inventores han mostrado anteriormente que eran capaces de regular la actividad de la luciferasa de un plásmido sensor de miR-21 con el nº 3205 en estas células. Las células HepG2 se transfectaron con el nº 3205 y el nº 3219 (mixto 8 unidades) y tras 24 horas se sembraron en agar blando. Las colonias se contaron tras 17 días con un microscopio.

- Resultados: En la figura 33, los inventores muestran que la inhibición de miR-21 por el nº 3205 puede reducir la cantidad de colonias que crecen en agar blando, lo que demuestra que se ha producido la detención de la proliferación. Además, el control mixto de 8 unidades, nº 3219, no tenía ningún efecto significativo sobre el número de colonias.

Conclusión: El de 8 unidades (nº 3205) dirigido a miR-21 reduce el número de colonias en agar blando, lo que indica una detención de la proliferación en las células HepG2.

5 Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular HepG2 hepatocítica humana se adquirió de la ECACC (#85011430). Las células HepG2 se cultivaron en medio EMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

10 Transfección: Se sembraron 650.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos y se realizó transfección inversa. Las células HepG2 se transfectaron con 0,6 ug del plásmido sensor de luciferasa miR-21 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 2,55 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. También se transfectaron LNA-antimiR y oligonucleótidos control como concentraciones variables. Tras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

15 Crecimiento clonogénico en agar blando:  $2,0 \times 10^3$  células HepG2 se sembraron en 0,35% de agar encima de una capa base que contiene 0,5 % de agar. Las células se sembraron en placas 24 horas después de la transfección. Las placas se incubaron a 37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub> en un incubador humidificado durante 17 días y se tiñeron con 0,005 % de cristal violeta durante 1 hora, tras lo cual las células se contaron. El ensayo se realizó por triplicado.

**Ejemplo 34. La silenciamiento de miR-21 por el LNA-antimiR de 8 unidades nº 3205 inhibe la migración celular en células PC3.**

25 La migración celular se puede monitorizar realizando un ensayo de cicatrización de heridas (= ensayo de raspado), en el que se realiza un "raspado" en una monocapa celular y se capturan imágenes al principio y a intervalos regulares durante la migración celular. Comparando las imágenes se puede determinar la cuantificación de la tasa de migración de las células. Esto se realizó en la línea de cáncer de próstata humano PC3,. Se sembraron las células y el día 3 las células se transfectaron y, al día siguiente, cuando se alcanzó un 100 % de confluencia, se realizó un raspado (= herida). Cuando se realizó el raspado se tomaron imágenes con el fin de documentar la herida inicial. Después se mide el área de cierre de la herida a diferentes puntos de tiempo con el programa de software libre Image J. Como se muestra en la figura 34A, las células PC3 se habían tratado con nº 3205 25 nM (coincidencia perfecta, miR-21), el control nº 3219 o se dejaron sin transfectar. Se tomaron fotos tras 24 horas y se calculó el área para el cierre de la herida a cada punto de tiempo. El cierre de la herida para las células transfectadas y para el control nº 3219 fue más rápido en comparación con el LNA-antimiR contra miR-21, nº 3205, lo que indica que nº 3205 inhibe miR-21 y evita la migración de las células (figura 34B).

40 Conclusión: El de 8 unidades (nº 3205) dirigido a miR-21 inhibe la migración celular de las células PC3 en comparación con las células no transfectadas y las transfectadas control.

40 Materiales y procedimientos:

45 Línea celular: La línea celular de carcinoma de próstata humano PC3 se adquirió de la ECACC (#90112714). Las células PC3 se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 2 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

50 Ensayo de raspado: Se sembraron 150.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos tres días antes de la transfección, con el fin de reobtener una confluencia de 100% al día siguiente. A las 24 horas de la transfección se realizó un raspado en la monocapa celular con una punta de 200 µl. Las imágenes se tomaron a 0 h y a las 24 horas usando una cámara digital acoplada a un microscopio. Se usó el programa de software Image J para determinar el cierre de la herida.

**Ejemplo 35. Evaluación de la longitud de LNA-antimiR completamente sustituidos con LNA que antagonizan miR-155.**

55 Anteriormente los inventores han mostrado una evaluación de la longitud para miR-21 sobre LNA-antimiR completamente sustituidos con LNA y se mostró que los LNA-antimiR más potentes tenían una longitud de 7, 8 o 9 nucleótidos. Se repitió el mismo experimento con miR-155. Un sitio diana de coincidencia perfecta para miR-155 se clonó en la 3'UTR del gen de la luciferasa en el plásmido indicador psiCHECK2 y se transfectó en la línea celular de macrófagos RAW de ratón junto con LNA-antimiR completamente sustituidos con LNA de diferentes longitudes. Dado que los niveles endógenos de miR-155 son bajos en la línea celular RAW, las células fueron tratadas LPS 100 ng/ml durante 24 horas con el fin de inducir la acumulación de miR-155. Tras 24 horas, se realizó un análisis de la luciferasa.

65 Resultados: Como se muestra en la figura 35, los LNA-antimiR más potentes son nº 3207 (8 nucleótidos) y el nº 3241 (9 nucleótidos), que alcanzan una des-represión de casi el 80 % a una concentración de LNA de únicamente

0,25 nM. El de 6 unidades (nº 3244) no muestra una des-represión significativa. El incremento de la longitud de 12 unidades a 14 unidades (nº 3242 y nº 3243) disminuyó la potencia como se muestra mediante la des-represión menos eficiente del indicador de miR-155.

- 5 Conclusión: Los LNA-antimiR sustituidos completamente con LNA más potentes dirigidos a miR.155 fueron los de 8 y 9 unidades (nº 3207 y nº 3241).

Materiales y procedimientos:

- 10 Línea celular: La línea celular de macrófagos de ratón RAW 264.7 se adquirió en la ATCC (TIB-71). Las células RAW se cultivaron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal, Glutamax 4 mM y Gentamicina 25 ug/ml.

- 15 Transfección: Se sembraron 500.000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección, con el fin reobtener una confluencia de 50% al día siguiente. El día de la transfección, las células RAW 264.7 se transfectaron con 0,3 ug de miR-155 coincidencia perfecta/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío junto con 10 µl de Lipofectamina2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La transfección también se realizó a varias concentraciones de LNA-antimiR. Con el fin de inducir la acumulación de miR-155, a las células RAW se añadió LPS (100 ng/ml) después de la incubación durante 4 horas con los complejos de transfección. Tras  
20 otras 24 horas, se recogieron las células para medir la actividad de luciferasa.

- 25 Ensayo de la luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se recogieron con raspador celular, tras lo cual se centrifugaron las células durante 5 minutos a 2.500 rpm. Se descartó el sobrenadante y al sedimento celular se añadieron 50 µl 1x tampón de lisis pasiva (Promega), tras lo cual las células se introdujeron en hielo durante 30 minutos. Las células lisadas se centrifugaron a 10.000 rpm durante 30 minutos, tras lo cual 20 µl se transfirieron a una placa de 96 pocillos y se realizaron las mediciones de la actividad luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

- 30 **Ejemplo 36. Unión de las proteínas plasmáticas para el nº 3205 de 8 unidades completamente sustituido con LNA dirigido a miR-21 (LNA-antimiR-21).**

- Las proteínas plasmáticas no están saturadas con nº 3205 a las concentraciones plasmáticas en el experimento que se muestra en la figura 36A. En un amplio abanico de concentraciones del nº 3205 en el plasma, la unión de las proteínas es de aproximadamente el 95 % del LNA-antimiR-21 nº 3205 en la figura 36B. A las concentraciones del nº  
35 3205 de 50,1 µM (174 µg/ml), la capacidad de unión de las proteínas plasmáticas por nº 3205 marcado con FAM no se ha saturado.

Materiales y procedimientos:

- 40 El plasma de ratón plasma (100 µL) se contaminó con nº 3205 marcado con FAM hasta una concentración de 0,167, 1,67, 5,01, 10,02, 16,7, 25,05 y 50,1 µM Las soluciones se incubaron a 37°C durante 30 minutos. Las soluciones se transfirieron a un filtro Microcon Ultracel YM-30 (celulosa regenerada 30.000 MWCO). Los filtros se agitaron durante 20 minutos a 2.000 g y a temperatura ambiente en una microcentrífuga. El filtrado se diluyó 5, 10 y 20 veces y muestras de 100 µl se transfirieron a una placa de microtitulación (de poliestireno, negras, NUNC-237108). La  
45 fluorescencia se detectó usando un lector de elisa FLUOstar Optima con excitación a 458 nm y emisión a 520 nm. La cantidad de nº 3205 marcado con FAM no unida se calculó a partir de una curva estándar derivada del plasma filtrado contaminado con nº 3205 marcado con FAM a 12 concentraciones diferentes (0,45-1.000 nM). Los números se corrigieron con el número de recuperación establecido en los experimentos de filtración con las concentraciones del nº 3205 0,167, 1,67, 5,01, 10,02, 16,7, 25,05 y 50,1 µM en plasma filtrado. La recuperación de nº 3205 marcado  
50 con FAM fue del 86%.

**Ejemplo 37. Estudio autorradiográfico cuantitativo de todo el cuerpo en ratones hembra pigmentaas tras una única administración intravenosa de NA-antimiR-21 nº 3205 marcado con <sup>35</sup>S.**

- 55 Con el fin de determinar la biodistribución de un LNA-antimiR corto completamente modificado con LNA (nº 3205, 8 unidades) se realizó en los ratones una distribución tisular de cuerpo entero del compuesto marcado radioactivamente. Se administró a los ratones el nº 3205 marcado con <sup>35</sup>S mediante una única administración intravenosa y se sacrificó a los ratones a diferentes puntos de tiempo variables desde 5 minutos a 21 días.
- 60 Tabla 6(i). Concentraciones tisulares individuales (µg del nº 3205/g de tejido) tras una única administración intravenosa del nº 3205 marcado con <sup>35</sup>S en ratones hembra pigmentadas. Las cifras son valores medios de tres mediciones para cada tejido y proporción. El coeficiente de variación (CV) normalmente es de aproximadamente 10%.

ES 2 406 686 T3

Tejido	Conc. máx. del oligo µg nº 3205/g tejido	Tiempo de conc. máx. horas	T½ horas
Glándula suprarrenal	13,6	0,083	374
Bilis	4	1	
Médula ósea	7,2	0,083	411
Cerebro	0,4	0,083	
Grasa parda	8,8	0,083	
Mucosa gástrica	10,1	0,083	
Sangre de corazón	26,2	0,083	10,3
Corteza renal	58,7	24	104
Hígado	11,8	0,083	588
	10,7	24	
Pulmón	13,2	0,083	289
Ganglios linfáticos	5	0,083	262
	2,4	48	
Linfa	18,8	4	
	20,8	168	
Miocardio	8,1	0,083	662
Ovarios	13	0,083	198
Páncreas	5	0,083	
Hipófisis	6,7	0,083	
Glándula salival	8,6	0,083	405
	5,5	168	
Músculo esquelético	4,8	0,083	
Pig. de la piel	5,4	0,25	
Bazo	9,8	0,083	564
Timo	3,8	0,083	185
Glándula tiroides	10,9	0,083	592
Orina	328,9	0,083	
Útero	9,6	0,25	177
Úvea del ojo	13,6	0,083	
LOQ	0,045	0,083	
	0,033	24	
	0,03	168	

Tabla 6(ii). Proporciones tejido/hígado tras una única administración intravenosa del nº 3205 marcado con <sup>35</sup>S en ratones hembra pigmentadas.

<sup>35</sup> S-Nº 3205									
Nº de animal	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Tiempo de superv. (h)	0,083	0,25	1 h.	4 h	24 h	48 h	96 h	168	504
Órgano									

ES 2 406 686 T3

Gl. suprarrenal	Hígado								
Bilis	1,15	1,08	0,52	0,27	0,24	0,26	0,23	0,18	0,17
Médula ósea	0,03	0,11	0,55	0,10	0,03	0,07	0,04	0,03	0,04
Cerebro	0,61	0,81	0,55	0,45	0,40	0,48	0,43	0,42	0,34
Grasa parda	0,03	0,03	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mucosa gástrica	0,75	0,57	0,29	0,12	0,07	0,12	0,08	0,10	0,07
Sangre de corazón	0,86	0,71	0,31	0,22	0,10	0,21	0,15	0,16	0,12
Corteza renal	2,23	1,91	0,74	0,11	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
Hígado	2,87	3,94	6,45	6,95	5,51	6,68	3,92	2,24	0,40
Pulmón	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Ganglios linfáticos	1,12	0,97	0,63	0,09	0,04	0,04	0,03	0,02	0,02
Linfa	0,43	0,30	0,25	0,19	0,11	0,32	0,20	0,17	0,12
Miocardio	0,82	1,09	1,78	2,78	1,03	2,05	1,62	3,17	1,89
Ovarios	0,69	0,63	0,30	0,13	0,10	0,15	0,09	0,11	0,12
Páncreas	1,10	1,40	0,61	0,31	0,27	0,28	0,21	0,21	0,08
Hipófisis	0,42	0,37	0,22	0,18	0,12	0,17	0,12	0,15	0,11
Glándula salival	0,57	0,54	0,28	0,11	0,15	0,16	0,12	0,10	0,08
Músculo esquelético	0,73	0,81	0,38	0,25	0,25	0,42	0,23	0,85	0,24
Pig. de la piel	0,40	0,28	0,14	0,04	0,02	0,04	0,03	0,03	0,03
Bazo	0,34	0,69	0,65	0,36	0,20	0,26	0,20	0,19	0,13
Timo	0,83	0,86	0,44	0,32	0,24	0,34	0,35	0,29	0,31
Glándula tiroides	0,32	0,31	0,14	0,07	0,09	0,08	0,05	0,04	0,02
Orina	0,9	1,2	0,43	0,28	0,25	0,34	0,19	0,26	0,25
Útero	27,96	39,48	9,90	5,44	0,24	0,39	0,12	0,15	0,03
Úvea del ojo	0,56	1,23	0,65	0,30	0,30	0,07	0,27	0,16	0,08

Conclusiones: El n° 3205 muestra aclaramiento sanguíneo de la radioactividad con semividas de eliminación de 8-10 horas. Se registraron niveles elevados de radioactividad en la corteza renal, la linfa, el hígado, la médula ósea, el bazo, los ovarios y el útero. El mayor nivel de radioactividad se registró en la corteza renal, que mostró cinco veces más que el hígado para el n° 3205. Se observó una fuerte retención de la radioactividad en la corteza renal, la linfa, el hígado, la médula ósea y el bazo para el LNA-antimiR-21 n° 3205.

Materiales y procedimientos:

- 10 Administración de la dosis: Se pesó a todos los ratones antes de la administración. A nueve ratones hembra se les administraron 10 mg/kg de <sup>35</sup>S- N° 3205 por vía intravenosa en una vena de la cola. El volumen administrado a cada animal fue de 10 mL/kg de la formulación de ensayo. La actividad específica 75,7 µCi/mg. Se sacrificó a cada ratón 5 min, 15 min, 1 hora, 4 horas, 24 horas, 2 días, 4 días, 7 días y 21 días después de la administración del n° 3205.
- 15 Autorradiografía de cuerpo entero: Se anestesió a los ratones con sevoflurano y, después, se les sumergió inmediatamente en heptano, se enfrió con hielo seco hasta -80 °C. ABR-SOP-0130. Los cadáveres congelados se incluyeron en un gel de carboximetilcelulosa (CMC) acuosa, se congelaron en etanol, se enfriaron con hielo seco (-80 °C) y se seccionaron sagitalmente para una autorradiografía de cuerpo entero según el procedimiento estándar, ABR-SOP-0131. De cada animal se cortaron secciones de 20 µm a diferentes niveles con un criomiotomo (Leica CM 3600) a una temperatura de aproximadamente -20 °C. Las secciones obtenidas se taparon con celo (Minnesota Mining and Manufacturing Co., No. 810) y se numeraron de forma consecutiva con tinta radioactiva. Después de liofilizar a -20 °C durante aproximadamente 24 horas, determinadas secciones se cubrieron con una capa fina de aluminio de mylar y se colocaron en placas para obtención de imágenes (Fuji, Japón). La exposición tuvo lugar en casetes herméticos a la luz en una caja con protección de plomo a -20°C para proteger las placas de imagen de la radiación ambiental. Tras la exposición se realizó un escáner de las placas de imagen con un tamaño de píxel de 50
- 25 µm y se analizaron mediante radioluminografía usando un sistema de análisis de bioimagen (Bas 2500, Fuji, Japan)

y se describieron en ABR-SOP-0214. Una solución de ensayo estándar hidrosoluble de radiactividad  $^{35}\text{S}$  se mezcló con sangre entera y se usó para la producción de una escala de calibración, ABR-SOP-0251. No obstante, los diferentes patrones sanguíneos se disolvieron en 500  $\mu\text{l}$  de Solueno-35. Después, a las muestras disueltas se añadieron 4,5 ml de Ultima Gold. Dado que  $^{35}\text{S}$  y  $^{14}\text{C}$  tienen espectros de energía muy similares se usó un programa de  $^{14}\text{C}$  estándar (Packard 2200CA) cuando se estableció la radioactividad para las diferentes muestras de sangre.

**Cálculos farmacocinéticos:** La radioactividad  $^{35}\text{S}$  medida en sangre entera y tejidos se expresó como nCi/g de tejido y se recalculó a nmol equiv/g de tejido para la evaluación farmacocinética. Los parámetros farmacocinéticos  $C_{\text{máx}}$ ,  $t_{1/2}$  and AUC se determinaron para la sangre entera y los ejidos mediante análisis no compartimental usando WinNonlin Professional (Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA). Tras la administración intravenosa, la concentración se extrapoló de nuevo a cero y se expresó como  $(C_0)$ . La constante de la velocidad de eliminación  $\lambda$  se estimó mediante análisis de regresión lineal de la pendiente terminal de la curva logarítmica concentración en plasma-tiempo. La semivida de eliminación  $t_{1/2}$ , se calculó usando la ecuación  $t_{1/2} = \ln 2/\lambda$ . Los últimos tres puntos de tiempo por encima del LOQ se usaron en los cálculos de la semivida de eliminación, si no se indica lo contrario.

### **Ejemplo 38. Evaluación de la inhibición de let-7 *in vivo* por un LNA-antimiR de 8 unidades, determinada mediante cuantificación de la proteína Ras en pulmón y riñón de ratón.**

Con el fin de investigar la posibilidad de antagonizar la familia de let-7 de expresión abundante *in vivo*, se inyectó a los ratones por vía intravenosa (i.v.) un antagonista LNA-antimiR de 8 unidades o solución salina. Para medir el efecto del tratamiento se aislaron las proteínas de pulmones y riñones. Dado anteriormente Johnson y col., (Cell, 2005) han mostrado que la familia Ras de proteínas (N-Ras, K-Ras, and H-Ras), en concreto N-Ras and K-Ras, estaba regulada (reprimida) por la familia let-7, el objetivo era analizar si estas dianas de let-7 podrían des-reprimirse *in vivo*.

Resultados: Como se ve en la figura 37, el LNA-antimiR de 8 unidades des-reprimió de forma potente los niveles de proteína Ras en los riñones de ratones tratados, normalizados frente a controles de solución salina. La regulación por incremento en este órgano fue más de triple, lo que muestra un claro efecto *in vivo*. Sin embargo, en los pulmones solo se observó una des-represión mínima (1,2 veces) de Ras (figura 1 B), lo que sugiere que en este órgano han entrado cantidades insuficientes de LNA-antimiR con el fin de inhibir sus cantidades masivas de let-7, como previamente han descrito Johnson y col., (Cancer Research, 2007).

Conclusión: El LNA-antimiR de 8 unidades muestra un claro efecto en la regulación del miARN de let-7 diana *in vivo*, como se evalúa en base a los niveles de la proteína Ras en ratones tratados frente a control. Mientras que el efecto parece ser menor en los pulmones, los niveles de Ras en el riñón muestran una regulación por aumento sustancial tras el tratamiento con antimiR.

#### Materiales y procedimientos:

**Animales y dosificación:** Ratones C57BL/6 hembra se trataron con 10 mg/kg de LNA-antimiR o solución salina durante tres días consecutivos (0, 1 y 2) y se les sacrificó el día 4. Las muestras de tejido de los pulmones y los riñones se ultracongelaron y almacenaron a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior procesamiento.

**Análisis de transferencia de tipo Western:** Las proteínas de pulmón y de riñón de ratones tratados con solución salina o con LNA-antimiR se separaron NuPAGE Bis Tris 4-12% (Invitrogen) usando 100  $\mu\text{g}$  por muestra. Las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa usando iBlot (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se realizó bloqueo, dilución con anticuerpo y detección según las especificaciones del fabricante. Para la detección de Ras se usó un anticuerpo principal anti-Ras de conejo (SC-3339, Santa Cruz Biotechnology) y un anticuerpo secundario de conejo anti-cerdo conjugado con HRP (P0399, Dako) y para la detección de tubulina se usó un anticuerpo primario frente a alfa-tubulina (MS-581-P1, Neomarkers) y uno secundario de ratón anti-cabra conjugado con HRP (P0447, Dako).

### **Ejemplo 40. Evaluación de la eficacia *in vivo* del LNA-antimiR de 8 unidades (nº 3205) dirigido a miR-21, determinado por la regulación por aumento de la proteína Pcd4 en riñón de ratón.**

Los inventores han mostrado que un LNA-antimiR de 8 unidades que está completamente modificado por LNA antagoniza miR-21 y tiene la capacidad para regular los niveles proteicos de la diana miR-21 Pcd4 *in vitro*. Por tanto, los inventores inyectaron el LNA-antimiR en ratones para determinar los efectos del LNA-antimiR *in vivo*. Los ratones recibieron 25 mg/kg del nº 3205 mediante inyección i.v. en días alternos durante 14 días (un total de 5 dosis). Se sacrificó a los ratones el día 14, se extirpó el riñón y se aisló la proteína. Con el fin de determinar la regulación de la diana se realizó un análisis de transferencia de tipo western.

Resultados: Como se muestra en la figura 37, el tratamiento de los ratones con nº 3205 mostró niveles de la proteína Pcd4 significativamente mayores en comparación con el control de solución salina. Aunque la proporción de Pcd4 frente a Gapdh normalizada fue consistente en ambas muestras de solución salina, la regulación por incremento de la proteína en los dos ratones tratados con LNA-antimiR (nº 32059) se midió de 3,3 a 6,3 veces, respectivamente, lo

que demuestra un efecto farmacológico in vivo del LNA-antimiR de 8 unidades nº 3205.

Conclusión: El LNA-antimiR de 8 unidades completamente modificado con LNA nº 3205 antagoniza miR-21 *in vivo*, como se demuestra mediante su capacidad para des-reprimir (regular por aumento) os niveles en riñón de ratón de Pdc4, una diana validada de miR-21.

Materiales y procedimientos:

Animales y dosificación: En todos los experimentos se usaron ratones C57BL/6 hembra con un peso corporal medio de 20 g en la primera dosis, y recibieron una dieta con pienso regular (Altromin no 1324, Brogaarden, Gentofte, Dinamarca). Las sustancias se formularon en solución salina fisiológica (0,9 % de NaCl). A los animales se administró LNA-antimiR o solución salina o (0,9 % de NaCl) y recibieron una inyección de 25 mg/kg durante 14 días en días alternos, con un total de 5 dosis. Se sacrificaron los animales el día 14.

Análisis de transferencia de tipo Western: 80 µg de tejido renal de ratones tratados con solución salina o con LNA se separaron NuPAGE Bis Tris 4-12% (Invitrogen). Las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa usando iBlot (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. La membrana se incubó con el anticuerpo Pdc4 (Bethyl Laboratories), seguido de anticuerpo de cerdo anti-conejo conjugado con HRP (Dako). Como control de carga igual se usó GAPDH (Abcam), seguido de anticuerpo de cerdo anti-conejo conjugado con HRP. Las membranas se visualizaron mediante quimioluminiscencia (ECL, Amersham).

Tabla 1

microARN	Secuencia de microARN	SEC ID N°	9 unidades	SEC ID N°	8 unidades	SEC ID N°	7 unidades	SEC ID N°
ebv-miR-BART1-3p	UAGCACCGCUAUCCACUAUGUC	40	AGCGGTGCT	977	GCGGTGCT	1914	CGGTGCT	2851
ebv-miR-BART1-5p	UCUUAGUGGAAGUGACGUGCUGUG	41	TCCACTAAG	978	CCACTAAG	1915	CACTAAG	2852
ebv-miR-BART10	UACAUAAACCAUGGAGUUGGCUGU	42	TGGTTATGT	979	GGTTATGT	1916	GTTATGT	2853
ebv-miR-BART10*	GCCACCUCUUUGGUUCUGUACA	43	AAGAGGTGG	980	AGAGGTGG	1917	GAGGTGG	2854
ebv-miR-BART11-3p	ACGCACACCAGGCUGACUGCC	44	TGGTGTGCG	981	GGTGTGCG	1918	GTGTGCG	2855
ebv-miR-BART11-5p	UCAGACAGUUUGGUGCGCUAGUUG	45	AACTGTCTG	982	ACTGTCTG	1919	CTGTCTG	2856
ebv-miR-BART12	UCCUGUGGUGUUUGGUGUGGUU	46	CACCACAGG	983	ACCACAGG	1920	CCACAGG	2857
ebv-miR-BART13	UGUAACUUGCCAGGGACGGCUGA	47	GCAAGTTAC	984	CAAGTTAC	1921	AAGTTAC	2858
ebv-miR-BART13*	AACCGGCUCGUGGCUCGUACAG	48	CGAGCCGGT	985	GAGCCGGT	1922	AGCCGGT	2859
ebv-miR-BART14	UAAAUGCUGCAGUAGUAGGGAU	49	GCAGCATTT	986	CAGCATTT	1923	AGCATTT	2860
ebv-miR-BART14*	UACCCUACGUGCCGAUUUACA	50	GCGTAGGGT	987	CGTAGGGT	1924	GTAGGGT	2861
ebv-miR-BART15	GUCAGUGGUUUUGUUUCCUUGA	51	AACCACTGA	988	ACCACTGA	1925	CCACTGA	2862
ebv-miR-BART16	UUAGAUAGAGUGGGUGUGUCUCU	52	CTCTATCTA	989	TCTATCTA	1926	CTATCTA	2863
ebv-miR-BART17-3p	UGUAUGCCUGGUGUCCCUUAGU	53	CAGGCATAC	990	AGGCATAC	1927	GGCATAC	2864
ebv-miR-BART17-5p	UAAGAGGACGCAGGCAUACAAG	54	CGTCCTCTT	991	GTCCTCTT	1928	TCCTCTT	2865

ES 2 406 686 T3

ebv-miR-BART18-3p	UAUCGGAAGUUUGGGCUUCGUC	55	ACTTCCGAT	992	CTTCCGAT	1929	TTCCGAT	2866
ebv-miR-BART18-5p	UCAAGUUCGCACUCCUAUACA	56	GCGAACTTG	993	CGAACTTG	1930	GAACTTG	2867
ebv-miR-BART19-3p	UUUUGUUUGCUUGGGAAUGCU	57	GCAAACAAA	994	CAAACAAA	1931	AAACAAA	2868
ebv-miR-BART19-5p	ACAUUCCTCCGCAAACAUGACAUG	58	CGGGGAATG	995	GGGGAATG	1932	GGGAATG	2869
ebv-miR-BART2-3p	AAGGAGCGAUUUGGAGAAAAUAAA	59	ATCGCTCCT	996	TCGCTCCT	1933	CGCTCCT	2870
ebv-miR-BART2-5p	UAUUUUCUGCAUUCGCCCUUGC	60	GCAGAAAAT	997	CAGAAAAT	1934	AGAAAAT	2871
ebv-miR-BART20-3p	CAUGAAGGCACAGCCUGUUACC	61	TGCCTTCAT	998	GCCTTCAT	1935	CCTTCAT	2872
ebv-miR-BART20-5p	UAGCAGGCAUGUCUUCAUUC	62	ATGCCTGCT	999	TGCCTGCT	1936	GCCTGCT	2873
ebv-miR-BART3	CGCACCACUAGUCACCAGGUGU	63	TAGTGGTGC	1000	AGTGGTGC	1937	GTGGTGC	2874
ebv-miR-BART3*	ACCUAGUGUUAGUGUUGUGCU	64	AACACTAGG	1001	AACTAGG	1938	CACTAGG	2875
ebv-miR-BART4	GACCUGAUGCUGCUGGUGUGCU	65	GCATCAGGT	1002	CATCAGGT	1939	ATCAGGT	2876
ebv-miR-BART5	CAAGGUGAAUAGCUGCCCAUCG	66	ATTCACCTT	1003	TTCACCTT	1940	TCACCTT	2877
ebv-miR-BART6-3p	CGGGGAUCGGACUAGCCUAGA	67	CCGATCCCC	1004	CGATCCCC	1941	GATCCCC	2878
ebv-miR-BART6-5p	UAAGGUUGGUCCAUCCAUAGG	68	ACCAACCTT	1005	CCAACCTT	1942	CAACCTT	2879
ebv-miR-BART7	CAUCAUAGUCCAGUGUCCAGGG	69	GACTATGAT	1006	ACTATGAT	1943	CTATGAT	2880
ebv-miR-BART7*	CCUGGACCUUGACUAUGAAACA	70	AAGGTCCAG	1007	AGGTCCAG	1944	GGTCCAG	2881
ebv-miR-BART8	UACGGUUUCCUAGAUUGUACAG	71	GGAACCGT	1008	GAAACCGT	1945	AAACCGT	2882
ebv-miR-BART8*	GUCACAAUCUAUGGGGUCGUAGA	72	AGATTGTGA	1009	GATTGTGA	1946	ATTGTGA	2883
ebv-miR-BART9	UAACACUUAUGGGUCCCGUAGU	73	TGAAGTGTT	1010	GAAGTGTT	1947	AAGTGTT	2884
ebv-miR-BART9*	UACUGGACCCUGAAUUGGAAAC	74	GGGTCCAGT	1011	GGTCCAGT	1948	GTCCAGT	2885
ebv-miR-BHRF1-1	UAACCUGAUCAGCCCCGGAGUU	75	GATCAGGTT	1012	ATCAGGTT	1949	TCAGGTT	2886
ebv-miR-BHRF1-2	UAUCUUUUGCGGCAGAAUUGA	76	GCAAAAGAT	1013	CAAAGAT	1950	AAAAGAT	2887
ebv-miR-BHRF1-2*	AAAUCUGUUGCAGCAGAUAGC	77	AACAGAATT	1014	ACAGAATT	1951	CAGAATT	2888
ebv-miR-BHRF1-3	UAACGGGAAGUGUGUAAGCACA	78	CTTCCCGTT	1015	TTCCCGTT	1952	TCCCGTT	2889
hcmv-miR-UL112	AAGUGACGGUGAGAUCAGGCU	79	ACCGTCACT	1016	CCGTCACT	1953	CGTCACT	2890

ES 2 406 686 T3

hcmv-miR-UL148D	UCGUCCUCCCCUUCUACCG	80	GGGAGGACG	1017	GGAGGACG	1954	GAGGACG	2891
hcmv-miR-UL22A	UAACUAGCCUCCCGUGAGA	81	AGGCTAGTT	1018	GGCTAGTT	1955	GCTAGTT	2892
hcmv-miR-UL22A*	UCACCAGAAUGCUAGUUUGUAG	82	ATTCTGGTG	1019	TTCTGGTG	1956	TCTGGTG	2893
hcmv-miR-UL36	UCGUUGAAGACACCUGGAAAGA	83	TCTTCAACG	1020	CTTCAACG	1957	TTCAACG	2894
hcmv-miR-UL36*	UUUCCAGGUGUUUUAACGUGC	84	CACCTGGAA	1021	ACCTGGAA	1958	CCTGGAA	2895
hcmv-miR-UL70-3p	GGGGAUGGGCUGGCGCGCGG	85	GCCCATCCC	1022	CCCATCCC	1959	CCATCCC	2896
hcmv-miR-UL70-5p	UGCGUCUCGGCCUCGUCCAGA	86	CCGAGACGC	1023	CGAGACGC	1960	GAGACGC	2897
hcmv-miR-US25-1	AACCGCUCAGUGGCUCGGACC	87	CTGAGCGGT	1024	TGAGCGGT	1961	GAGCGGT	2898
hcmv-miR-US25-1*	UCCGAACGCUAGGUCGGUUCUC	88	AGCGTTCGG	1025	GCGTTCGG	1962	CGTTCGG	2899
hcmv-miR-US25-2-3p	AUCCACUUGGAGAGCUCCCGCGG	89	CCAAGTGGA	1026	CAAGTGGA	1963	AAGTGGA	2900
hcmv-miR-US25-2-5p	AGCGGUCUGUUCAGGUGGAUGA	90	ACAGACCGC	1027	CAGACCGC	1964	AGACCGC	2901
hcmv-miR-US33-3p	UCACGGUCCGAGCACAUCCA	91	CGGACCGTG	1028	GGACCGTG	1965	GACCGTG	2902
hcmv-miR-US33-5p	GAUUGUGCCCGGACCGUGGGCG	92	GGGCACAAT	1029	GGCACAAT	1966	GCACAAT	2903
hcmv-miR-US4	CGACAUGGACGUGCAGGGGGAU	93	GTCCATGTC	1030	TCCATGTC	1967	CCATGTC	2904
hcmv-miR-US5-1	UGACAAGCCUGACGAGAGCGU	94	AGGCTTGTC	1031	GGCTTGTC	1968	GCTTGTC	2905
hcmv-miR-US5-2	UUAUGAUAGGUGUGACGAUGUC	95	CCTATCATA	1032	CTATCATA	1969	TATCATA	2906
hsa-let-7a	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	96	TACTACCTC	1033	ACTACCTC	1970	CTACCTC	2907
hsa-let-7a*	CUAUACAACUACUGUCUUUC	97	GATTGTATA	1034	ATTGTATA	1971	TTGTATA	2908
hsa-let-7b	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	98	TACTACCTC	1035	ACTACCTC	1972	CTACCTC	2909
hsa-let-7b*	CUAUACAACCUACUGCCUCCCC	99	GGTTGTATA	1036	GTTGTATA	1973	TTGTATA	2910
hsa-let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU	100	TACTACCTC	1037	ACTACCTC	1974	CTACCTC	2911
hsa-let-7c*	UAGAGUUACACCCUGGGAGUUA	101	TGTAACTCT	1038	GTAACTCT	1975	TAACTCT	2912
hsa-let-7d	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	102	TACTACCTC	1039	ACTACCTC	1976	CTACCTC	2913
hsa-let-7d*	CUAUACGACCUGCUGCCUUUCU	103	GGTCGTATA	1040	GTCGTATA	1977	TCGTATA	2914
hsa-let-7e	UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU	104	TCCTACCTC	1041	CCTACCTC	1978	CTACCTC	2915
hsa-let-7e*	CUAUACGGCCUCCUAGCUUUCC	105	GGCCGTATA	1042	GCCGTATA	1979	CCGTATA	2916
hsa-let-7f	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU	106	TACTACCTC	1043	ACTACCTC	1980	CTACCTC	2917
hsa-let-7f-1*	CUAUACAACUUAUUGCCUCCCC	107	GATTGTATA	1044	ATTGTATA	1981	TTGTATA	2918
hsa-let-7f-2*	CUAUACAGUCUACUGUCUUUCC	108	GACTGTATA	1045	ACTGTATA	1982	CTGTATA	2919
hsa-let-7g	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU	109	TACTACCTC	1046	ACTACCTC	1983	CTACCTC	2920
hsa-let-7g*	CUGUACAGGCCACUGCCUUGC	110	GCCTGTACA	1047	CCTGTACA	1984	CTGTACA	2921
hsa-let-7i	UGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUU	111	TACTACCTC	1048	ACTACCTC	1985	CTACCTC	2922
hsa-let-7i*	CUGCGCAAGCUACUGCCUUGC	112	GCTTGCACA	1049	CTTGCACA	1986	TTGCACA	2923

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-1	UGGAAUGUAAAGAAGUAUGUAU	113	TTACATTCC	1050	TACATTCC	1987	ACATTCC	2924
hsa-miR-100	AACCCGUAGAUCCGAACUUGUG	114	TCTACGGGT	1051	CTACGGGT	1988	TACGGGT	2925
hsa-miR-100*	CAAGCUUGUAUCUAUAGGUAUG	115	TACAAGCTT	1052	ACAAGCTT	1989	CAAGCTT	2926
hsa-miR-101	UACAGUACUGUGAUAACUGAA	116	CAGTACTGT	1053	AGTACTGT	1990	GACTGT	2927
hsa-miR-101*	CAGUUAUCACAGUGCUGAUGCU	117	GTGATAACT	1054	TGATAACT	1991	GATAACT	2928
hsa-miR-103	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA	118	CAATGCTGC	1055	AATGCTGC	1992	ATGCTGC	2929
hsa-miR-103-as	UCAUAGCCCUGUACAAUGCUGCU	119	AGGGCTATG	1056	GGGCTATG	1993	GGCTATG	2930
hsa-miR-105	UCAAUGCUCAGACUCCUGUGGU	120	GAGCATTG	1057	AGCATTG	1994	GCATTG	2931
hsa-miR-105*	ACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUA	121	AAACATCCG	1058	AACATCCG	1995	ACATCCG	2932
hsa-miR-106a	AAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	122	AAGCACTTT	1059	AGCACTTT	1996	GCACTTT	2933
hsa-miR-106a*	CUGCAAUGUAAGCACUUCUAC	123	TACATTGCA	1060	ACATTGCA	1997	CATTGCA	2934
hsa-miR-106b	UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU	124	CAGCACTTT	1061	AGCACTTT	1998	GCACTTT	2935
hsa-miR-106b*	CCGCACUGUGGGUACUUGCUGC	125	CACAGTGCG	1062	ACAGTGCG	1999	CAGTGCG	2936
hsa-miR-107	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCA	126	CAATGCTGC	1063	AATGCTGC	2000	ATGCTGC	2937
hsa-miR-10a	UACCCUGUAGAUCGAAUUUGUG	127	CTACAGGGT	1064	TACAGGGT	2001	ACAGGGT	2938
hsa-miR-10a*	CAAAUUCGUUUCUAGGGGAAUA	128	TACGAATTT	1065	ACGAATTT	2002	CGAATTT	2939
hsa-miR-10b	UACCCUGUAGAACGAAUUUGUG	129	CTACAGGGT	1066	TACAGGGT	2003	ACAGGGT	2940
hsa-miR-10b*	ACAGAUUCGAUUCUAGGGGAAU	130	TCGAATCTG	1067	CGAATCTG	2004	GAATCTG	2941
hsa-miR-1178	UUGCUCACUGUUCUCCCUAG	131	CAGTGAGCA	1068	AGTGAGCA	2005	GTGAGCA	2942
hsa-miR-1179	AAGCAUUCUUCUUCUUGGUUGG	132	AAGAATGCT	1069	AGAATGCT	2006	GAATGCT	2943
hsa-miR-1180	UUUCCGGCUCGCGUGGGUGUGU	133	GAGCCGGAA	1070	AGCCGGAA	2007	GCCGGAA	2944
hsa-miR-1181	CCGUCGCCGCCACCCGAGCCG	134	GCGGCGACG	1071	CGGCGACG	2008	GGCGACG	2945
hsa-miR-1182	GAGGGUCUUGGGAGGGAUGUGAC	135	CAAGACCCT	1072	AAGACCCT	2009	AGACCCT	2946
hsa-miR-1183	CACUGUAGGUGAUGGUGAGAGUGGGCA	136	ACCTACAGT	1073	CCTACAGT	2010	CTACAGT	2947
hsa-miR-1184	CCUGCAGCGACUUGAUGGCUUCC	137	TCGCTGCAG	1074	CGCTGCAG	2011	GCTGCAG	2948
hsa-miR-1185	AGAGGAUACCCUUGUAUGUU	138	GGTATCCTC	1075	GTATCCTC	2012	TATCCTC	2949
hsa-miR-1197	UAGGACACAUGGUCUACUUCU	139	ATGTGCCT	1076	TGTGCCT	2013	GTGCCT	2950

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-1200	CUCCUGAGCCAUUCUGAGCCUC	140	GGCTCAGGA	1077	GCTCAGGA	2014	CTCAGGA	2951
hsa-miR-1201	AGCCUGAUUAAACACAUGCUCUGA	141	TAATCAGGC	1078	AATCAGGC	2015	ATCAGGC	2952
hsa-miR-1202	GUGCCAGCUGCAGUGGGGGAG	142	CAGCTGGCA	1079	AGCTGGCA	2016	GCTGGCA	2953
hsa-miR-1203	CCCGGAGCCAGGAUGCAGCUC	143	TGGCTCCGG	1080	GGCTCCGG	2017	GCTCCGG	2954
hsa-miR-1204	UCGUGGCCUGGUCUCCAUAU	144	CAGGCCACG	1081	AGGCCACG	2018	GGCCACG	2955
hsa-miR-1205	UCUGCAGGGUUJGCUUUGAG	145	ACCCTGCAG	1082	CCCTGCAG	2019	CCTGCAG	2956
hsa-miR-1206	UGUUCAUGUAGAUGUUUAAGC	146	TACATGAAC	1083	ACATGAAC	2020	CATGAAC	2957
hsa-miR-1207-3p	UCAGCUGGCCCUCAUUUC	147	GGCCAGCTG	1084	GCCAGCTG	2021	CCAGCTG	2958
hsa-miR-1207-5p	UGGCAGGGAGGCUGGGAGGGG	148	CTCCCTGCC	1085	TCCCTGCC	2022	CCCTGCC	2959
hsa-miR-1208	UCACUGUUCAGACAGGCGGA	149	TGAACAGTG	1086	GAACAGTG	2023	AACAGTG	2960
hsa-miR-122	UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG	150	TCACACTCC	1087	CACACTCC	2024	ACACTCC	2961
hsa-miR-122*	AACGCCAUUAUCACACUAAUA	151	TAATGGCGT	1088	AATGGCGT	2025	ATGGCGT	2962
hsa-miR-1224-3p	CCCCACCUCCUCUCUCCUCAG	152	GGAGGTGGG	1089	GAGGTGGG	2026	AGGTGGG	2963
hsa-miR-1224-5p	GUGAGGACUCGGGAGGUGG	153	GAGTCCTCA	1090	AGTCCTCA	2027	GTCCTCA	2964
hsa-miR-1225-3p	UGAGCCCCUGUGCCGCCCCCAG	154	CAGGGGCTC	1091	AGGGGCTC	2028	GGGGCTC	2965
hsa-miR-1225-5p	GUGGGUACGGCCAGUGGGGGG	155	CCGTACCCA	1092	CGTACCCA	2029	GTACCCA	2966
hsa-miR-1226	UCACCAGCCCUGUGUCCCUAG	156	GGGCTGGTG	1093	GGCTGGTG	2030	GCTGGTG	2967
hsa-miR-1226*	GUGAGGGCAUGCAGGCCUGGAUGGGG	157	ATGCCCTCA	1094	TGCCCTCA	2031	GCCCTCA	2968
hsa-miR-1227	CGUGCCACCCUUUCCCCAG	158	GGGTGGCAC	1095	GGTGGCAC	2032	GTGGCAC	2969
hsa-miR-1228	UCACACCUGCCUCGCCCCC	159	GCAGGTGTG	1096	CAGGTGTG	2033	AGGTGTG	2970
hsa-miR-1228*	GUGGGCGGGGGCAGGUGUGUG	160	CCCCGCCA	1097	CCCGCCA	2034	CCGCCA	2971
hsa-miR-1229	CUCUCACCACUGCCCUCACAG	161	GTGGTGAGA	1098	TGGTGAGA	2035	GGTGAGA	2972
hsa-miR-1231	GUGUCUGGGCGGACAGCUGC	162	GCCCAGACA	1099	CCCAGACA	2036	CCAGACA	2973
hsa-miR-1233	UGAGCCCUGUCCUCCCGCAG	163	ACAGGGCTC	1100	CAGGGCTC	2037	AGGGCTC	2974
hsa-miR-1234	UCGGCCUGACCACCCACCCAC	164	GTCAGGCCG	1101	TCAGGCCG	2038	CAGGCCG	2975
hsa-miR-1236	CCUCUCCCCUUGUCUCUCCAG	165	GGGGAAGAG	1102	GGGAAGAG	2039	GGAAGAG	2976
hsa-miR-1237	UCCUUCUGCUCCGUCCCCCAG	166	AGCAGAAGG	1103	GCAGAAGG	2040	CAGAAGG	2977

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-1238	CUUCCUCGUCUGUCUGCCCC	167	GACGAGGAA	1104	ACGAGGAA	2041	CGAGGAA	2978
hsa-miR-124	UAAGGCACGCGGUGAAUGCC	168	GCGTGCCTT	1105	CGTGCCTT	2042	GTGCCTT	2979
hsa-miR-124*	CGUGUUCACAGCGGACCUUGAU	169	TGTGAACAC	1106	GTGAACAC	2043	TGAACAC	2980
hsa-miR-1243	AACUGGAUCAUUUAGGAGUG	170	TGATCCAGT	1107	GATCCAGT	2044	ATCCAGT	2981
hsa-miR-1244	AAGUAGUUGGUUUGUAUGAGAUGGUU	171	CCAATACT	1108	CAATACT	2045	AACTACT	2982
hsa-miR-1245	AAGUGAUCUAAAGGCCUACAU	172	TAGATCACT	1109	AGATCACT	2046	GATCACT	2983
hsa-miR-1246	AAUGGAUUUUUGGAGCAGG	173	AAAATCCAT	1110	AAATCCAT	2047	AATCCAT	2984
hsa-miR-1247	ACCCGUCCCCGUUCGUCCCCGGA	174	CGGGACGGG	1111	GGGACGGG	2048	GGACGGG	2985
hsa-miR-1248	ACCUUCUUGUAUAAGCACUGUGCJAAA	175	ACAAGAAGG	1112	CAAGAAGG	2049	AAGAAGG	2986
hsa-miR-1249	ACGCCUUCSCCCCCUUCUUCA	176	GGAAGGGCG	1113	GAAGGGCG	2050	AAGGGCG	2987
hsa-miR-1250	ACGGUGCUGGAUGUGGCCUUU	177	CCAGCACCG	1114	CAGCACCG	2051	AGCACCG	2988
hsa-miR-1251	ACUCUAGCUGCCAAAGGCGCU	178	CAGCTAGAG	1115	AGCTAGAG	2052	GCTAGAG	2989
hsa-miR-1252	AGAAGGAAAUUGAAUUAUUUA	179	ATTCCTTC	1116	TTTCCTTC	2053	TTCCTTC	2990
hsa-miR-1253	AGAGAAGAAGAUAGCCUGCA	180	CTTCTTCTC	1117	TTCTTCTC	2054	TCTTCTC	2991
hsa-miR-1254	AGCCUGGAAGCUGGAGCCUGCAGU	181	CTTCCAGGC	1118	TTCCAGGC	2055	TCCAGGC	2992
hsa-miR-1255a	AGGAUGAGCAAAGAAAGUAGAUU	182	TGCTCATCC	1119	GCTCATCC	2056	CTCATCC	2993
hsa-miR-1255b	CGGAUGAGCAAAGAAAGUGGUU	183	TGCTCATCC	1120	GCTCATCC	2057	CTCATCC	2994
hsa-miR-1256	AGGCAUUGACUUCUCACUAGCU	184	GTCAATGCC	1121	TCAATGCC	2058	CAATGCC	2995
hsa-miR-1257	AGUGAAUGAUGGGUUCUGACC	185	ATCATTAC	1122	TCATTAC	2059	CATTAC	2996
hsa-miR-1258	AGUUAGGAUUAGGUCUGGAA	186	AATCCTAAC	1123	ATCCTAAC	2060	TCCTAAC	2997
hsa-miR-1259	AUAUAUGAUGACUUAGCUUUU	187	CATCATATA	1124	ATCATATA	2061	TCATATA	2998
hsa-miR-125a-3p	ACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCC	188	CCTCACCTG	1125	CTCACCTG	2062	TCACCTG	2999
hsa-miR-125a-5p	UCCUGAGACCCUUUAACCUUGUGA	189	GTCTCAGGG	1126	TCTCAGGG	2063	CTCAGGG	3000
hsa-miR-125b	UCCUGAGACCCUAACUUGUGA	190	GTCTCAGGG	1127	TCTCAGGG	2064	CTCAGGG	3001
hsa-miR-125b-1*	ACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCU	191	CCTAACCCG	1128	CTAACCCG	2065	TAACCCG	3002
hsa-miR-125b-2*	UCACAAGUCAGGCUCUUGGGAC	192	TGACTTGTG	1129	GACTTGTG	2066	ACTTGTG	3003
hsa-miR-126	UCGUACCGUGAGUAAUAUGCG	193	CACGGTACG	1130	ACGGTACG	2067	CGGTACG	3004

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-126*	CAUUUUUACUUUUUGGUACGCG	194	AGTAATAAT	1131	GTAATAAT	2068	TAATAAT	3005
hsa-miR-1260	AUCCCACCUCUGCCACCA	195	GAGGTGGGA	1132	AGGTGGGA	2069	GGTGGGA	3006
hsa-miR-1261	AUGGAUAAGGCUUUGGCUU	196	CCTTATCCA	1133	CTTATCCA	2070	TTATCCA	3007
hsa-miR-1262	AUGGGUGAAUUUGUAGAAGGAU	197	ATTCACCCA	1134	TTCACCCA	2071	TCACCCA	3008
hsa-miR-1263	AUGGUACCCUGGCAUACUGAGU	198	AGGGTACCA	1135	GGGTACCA	2072	GGTACCA	3009
hsa-miR-1264	CAAGUCUUAUUUGAGCACCUGUU	199	ATAAGACTT	1136	TAAGACTT	2073	AAGACTT	3010
hsa-miR-1265	CAGGAUGUGGUCAAGUGUUGUU	200	CCACATCCT	1137	CACATCCT	2074	ACATCCT	3011
hsa-miR-1266	CCUCAGGGCUGUAGAACAGGGCU	201	AGCCCTGAG	1138	GCCCTGAG	2075	CCCTGAG	3012
hsa-miR-1267	CCUGUUGAAGUGUAAUCCCA	202	CTTCAACAG	1139	TCAACAG	2076	TCAACAG	3013
hsa-miR-1268	CGGGCGUGGUGGUGGGGG	203	ACCACGCC	1140	CCACGCC	2077	CACGCC	3014
hsa-miR-1269	CUGGACUGAGCCGUGCUACUGG	204	CTCAGTCCA	1141	TCAGTCCA	2078	CAGTCCA	3015
hsa-miR-127-3p	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU	205	ACGGATCCG	1142	CGGATCCG	2079	GGATCCG	3016
hsa-miR-127-5p	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU	206	TGAGCTTCA	1143	GAGCTTCA	2080	AGCTTCA	3017
hsa-miR-1270	CUGGAGAUUUGGAAGAGCUGUGU	207	ATATCTCCA	1144	TATCTCCA	2081	ATCTCCA	3018
hsa-miR-1271	CUUGGCACCUAGCAAGCACUCA	208	AGGTGCCAA	1145	GGTGCCAA	2082	GTGCCAA	3019
hsa-miR-1272	GAUGAUGAUGGCAGCAAAUUCUGAAA	209	CATCATCAT	1146	ATCATCAT	2083	TCATCAT	3020
hsa-miR-1273	GGGCGACAAAGCAAGACUCUUUCUU	210	TTGTGCGCC	1147	TTGTGCGCC	2084	TGTGCGCC	3021
hsa-miR-1274a	GUCCUGUUCAGGCGCCA	211	GAACAGGGA	1148	AACAGGGA	2085	ACAGGGA	3022
hsa-miR-1274b	UCCUGUUCGGGCGCCA	212	CGAACAGGG	1149	GAACAGGG	2086	AACAGGG	3023
hsa-miR-1275	GUGGGGGAGAGGCUGUC	213	TCTCCCCCA	1150	CTCCCCCA	2087	TCCCCCA	3024
hsa-miR-1276	UAAAGAGCCUGUGGAGACA	214	GGGCTCTTT	1151	GGCTCTTT	2088	GCTCTTT	3025
hsa-miR-1277	UACGUAGAUUAUAUGUAUUUU	215	TATCTACGT	1152	ATCTACGT	2089	TCTACGT	3026
hsa-miR-1278	UAGUACUGUGCAUAUCAUCUAU	216	CACAGTACT	1153	ACAGTACT	2090	CAGTACT	3027
hsa-miR-1279	UCAUAUUGCUUCUUUCU	217	AGCAATATG	1154	GCAATATG	2091	CAATATG	3028
hsa-miR-128	UCACAGUGAACCGGUCUCUUU	218	TTCACTGTG	1155	TCACGTGTG	2092	CACTGTG	3029
hsa-miR-1280	UCCCACCGCUGCCACCC	219	AGCGGTGGG	1156	GCGGTGGG	2093	CGGTGGG	3030
hsa-miR-1281	UCGCCUCCUCCUCUCCC	220	GAGGAGGCG	1157	AGGAGGCG	2094	GGAGGCG	3031

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-1282	UCGUUUUGCCUUUUUCUGCUU	221	AGGCAAACG	1158	GGCAAACG	2095	GCAAACG	3032
hsa-miR-1283	UCUACAAAGGAAAGCGCUUUCU	222	CCTTTGTAG	1159	CTTTGTAG	2096	TTTGTAG	3033
hsa-miR-1284	UCUAUACAGACCCUGGCUUUUC	223	TCTGTATAG	1160	CTGTATAG	2097	TGTATAG	3034
hsa-miR-1285	UCUGGGCAACAAAGUGAGACCU	224	GTTGCCCAG	1161	TTGCCCAG	2098	TGCCCAG	3035
hsa-miR-1286	UGCAGGACCAAGAUGAGCCCU	225	TGGTCCTGC	1162	GGTCCTGC	2099	GTCCTGC	3036
hsa-miR-1287	UGCUGGAUCAGUGGUUCGAGUC	226	TGATCCAGC	1163	GATCCAGC	2100	ATCCAGC	3037
hsa-miR-1288	UGGACUGCCCUGAUCUGGAGA	227	GGGCAGTCC	1164	GGCAGTCC	2101	GCAGTCC	3038
hsa-miR-1289	UGGAGUCCAGGAAUCUGCAUUUU	228	CTGGACTCC	1165	TGGACTCC	2102	GGACTION	3039
hsa-miR-129*	AAGCCCUUACCCCAAAAAGUUAU	229	GTAAGGGCT	1166	TAAGGGCT	2103	AAGGGCT	3040
hsa-miR-129-3p	AAGCCCUUACCCCAAAAAGCAU	230	GTAAGGGCT	1167	TAAGGGCT	2104	AAGGGCT	3041
hsa-miR-129-5p	CUUUUUUGCGGUCUGGGCUUGC	231	CCGCAAAAA	1168	CGCAAAAA	2105	GCAAAAA	3042
hsa-miR-1290	UGGAUUUUUGGAUCAGGGA	232	CAAAAATCC	1169	AAAAATCC	2106	AAAATCC	3043
hsa-miR-1291	UGGCCUGACUGAAGACCAGCAGU	233	GTCAGGGCC	1170	TCAGGGCC	2107	CAGGGCC	3044
hsa-miR-1292	UGGGAACGGGUUCCGGCAGACGCUG	234	CCCGTTCCC	1171	CCGTTCCC	2108	CGTTCCC	3045
hsa-miR-1293	UGGGUGGUCUGGAGAUUUGUGC	235	AGACCACCC	1172	GACCACCC	2109	ACCACCC	3046
hsa-miR-1294	UGUGAGGUUGGCAUUGUUGUCU	236	CAACCTCAC	1173	AACCTCAC	2110	ACCTCAC	3047
hsa-miR-1295	UUAGGCCGCGAUCUGGGUGA	237	TGCGGCCTA	1174	GCGGCCTA	2111	CGGCCTA	3048
hsa-miR-1296	UUAGGGCCUGGCUCCAUCUCC	238	AGGGCCCTA	1175	GGGCCCTA	2112	GGCCCTA	3049
hsa-miR-1297	UUCAAGUAAUUCAGGUG	239	ATTACTTGA	1176	TTACTTGA	2113	TACTTGA	3050
hsa-miR-1298	UUCAUUCGGCUGUCCAGAUGUA	240	GCCGAATGA	1177	CCGAATGA	2114	CGAATGA	3051
hsa-miR-1299	UUCUGGAAUUCUGUGAGGGA	241	AATTCCAGA	1178	ATTCCAGA	2115	TTCCAGA	3052
hsa-miR-1300	UUGAGAAGGAGGCUGCUG	242	TCCTTCTCA	1179	CCTTCTCA	2116	CTTCTCA	3053
hsa-miR-1301	UUGCAGCUGCCUGGGAGUGACUUC	243	GCAGCTGCA	1180	CAGCTGCA	2117	AGCTGCA	3054
hsa-miR-1302	UUGGACAUACUUAUGCUIAAA	244	TATGTCCCA	1181	ATGTCCCA	2118	TGTCCCA	3055
hsa-miR-1303	UUUAGAGACGGGGUCUUGCUCU	245	CGTCTCTAA	1182	GTCTCTAA	2119	TCTCTAA	3056
hsa-miR-1304	UUUGAGGCUACAGUGAGAUGUG	246	TAGCCTCAA	1183	AGCCTCAA	2120	GCCTCAA	3057
hsa-miR-1305	UUUUCAACUCUAAUGGGAGAGA	247	GAGTTGAAA	1184	AGTTGAAA	2121	GTTGAAA	3058

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-1306	ACGUUGGCUCUGGUGGUG	248	GAGCCAACG	1185	AGCCAACG	2122	GCCAACG	3059
hsa-miR-1307	ACUCGGCGUGGCUCGGUCGUG	249	CACGCCGAG	1186	ACGCCGAG	2123	CGCCGAG	3060
hsa-miR-1308	GCAUGGGUGGUUCAGUGG	250	CCACCCATG	1187	CACCCATG	2124	ACCCATG	3061
hsa-miR-130a	CAGUGCAAUGUAAAAGGGCAU	251	CATTGCACT	1188	ATTGCACT	2125	TTGCACT	3062
hsa-miR-130a*	UUCACAUUGUGCUACUGUCUGC	252	ACAATGTGA	1189	CAATGTGA	2126	AATGTGA	3063
hsa-miR-130b	CAGUGCAAUGAUGAAAGGGCAU	253	CATTGCACT	1190	ATTGCACT	2127	TTGCACT	3064
hsa-miR-130b*	ACUCUUUCCCUUGUCACUAC	254	GGGAAAGAG	1191	GGAAAGAG	2128	GAAAGAG	3065
hsa-miR-132	UACAGUCUACAGCCAUGGUCG	255	TAGACTGTT	1192	AGACTGTT	2129	GA CTGTT	3066
hsa-miR-132*	ACCGUGGCUUUCGAUUGUUACU	256	AAGCCACGG	1193	AGCCACGG	2130	GCCACGG	3067
hsa-miR-1321	CAGGGAGGUGAAUGUGAU	257	CACCTCCCT	1194	ACCTCCCT	2131	CCTCCCT	3068
hsa-miR-1322	GAUGAUGCUGCUGAUGCUG	258	CAGCATCAT	1195	AGCATCAT	2132	GCATCAT	3069
hsa-miR-1323	UCAAACUGAGGGGCAUUUUCU	259	TCAGTTTTG	1196	CAGTTTTG	2133	AGTTTTG	3070
hsa-miR-1324	CCAGACAGAAUUCUAUGCACUUUC	260	TTCTGTCTG	1197	TCTGTCTG	2134	CTGTCTG	3071
hsa-miR-133a	UUUGGUCCCUUCAACCAGCUG	261	GGGGACCAA	1198	GGGACCAA	2135	GGACCAA	3072
hsa-miR-133b	UUUGGUCCCUUCAACCAGCUA	262	GGGGACCAA	1199	GGGACCAA	2136	GGACCAA	3073
hsa-miR-134	UGUGACUGGUUGACCAGAGGGG	263	ACCAGTCAC	1200	CCAGTCAC	2137	CAGTCAC	3074
hsa-miR-135a	UAUGGCUUUUUAUCCUAUGUGA	264	AAAAGCCAT	1201	AAAGCCAT	2138	AAGCCAT	3075
hsa-miR-135a*	UAUAGGGAUUGGAGCCGUGGCG	265	AATCCCTAT	1202	ATCCCTAT	2139	TCCCTAT	3076
hsa-miR-135b	UAUGGCUUUUCAUCCUAUGUGA	266	AAAAGCCAT	1203	AAAGCCAT	2140	AAGCCAT	3077
hsa-miR-135b*	AUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGG	267	AGCCCTACA	1204	GCCCTACA	2141	CCCTACA	3078
hsa-miR-136	ACUCCAUUUGUUUGAUGAUGGA	268	CAAATGGAG	1205	AAATGGAG	2142	AATGGAG	3079
hsa-miR-136*	CAUCAUCGUCUCAAUUGAGUCU	269	GACGATGAT	1206	ACGATGAT	2143	CGATGAT	3080
hsa-miR-137	UUAUUGCUUAAGAAUACGCGUAG	270	TAAGCAATA	1207	AAGCAATA	2144	AGCAATA	3081
hsa-miR-138	AGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCG	271	AACACCAGC	1208	ACACCAGC	2145	CACCAGC	3082
hsa-miR-138-1*	GCUACUUCACAACACCAGGGCC	272	GTGAAGTAG	1209	TGAAGTAG	2146	GAAGTAG	3083
hsa-miR-138-2*	GCUAUUUCACGACACCAGGGUU	273	GTGAAATAG	1210	TGAAATAG	2147	GAAATAG	3084
hsa-miR-139-3p	GGAGACGCGGCCCUUGGAGU	274	CCGCGTCTC	1211	CGCGTCTC	2148	GCGTCTC	3085

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-139-5p	UCUACAGUGCACGUGUCUCCAG	275	GCACTGTAG	1212	CACTGTAG	2149	ACTGTAG	3086
hsa-miR-140-3p	UACCACAGGGUAGAACCACGG	276	CCCTGTGGT	1213	CCTGTGGT	2150	CTGTGGT	3087
hsa-miR-140-5p	CAGUGGUUUUACCCUAUGGUAG	277	AAAACCACT	1214	AAACCACT	2151	AACCACT	3088
hsa-miR-141	UAACACUGUCUGGUAAAAGAUGG	278	GACAGTGTT	1215	ACAGTGTT	2152	CAGTGTT	3089
hsa-miR-141*	CAUCUUCAGUACAGUGUUGGA	279	CTGGAAGAT	1216	TGGAAGAT	2153	GGAAGAT	3090
hsa-miR-142-3p	UGUAGUGUUUCCUACUUUAUGGA	280	AAACACTAC	1217	AACACTAC	2154	ACACTAC	3091
hsa-miR-142-5p	CAUAAAGUAGAAAGCACUACU	281	CTACTTTAT	1218	TACTTTAT	2155	ACTTTAT	3092
hsa-miR-143	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	282	CTTCATCTC	1219	TTCATCTC	2156	TCATCTC	3093
hsa-miR-143*	GGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGU	283	GCACTGCAC	1220	CACTGCAC	2157	ACTGCAC	3094
hsa-miR-144	UACAGUAUAGAUGAUGUACU	284	CTATACTGT	1221	TATACTGT	2158	ATACTGT	3095
hsa-miR-144*	GGUAUACAUCAUAUACUGUAAG	285	GATGATATC	1222	ATGATATC	2159	TGATATC	3096
hsa-miR-145	GUCCAGUUUCCCAGGAAUCCCU	286	AAAACCTGGA	1223	AAACTGGA	2160	AACTGGA	3097
hsa-miR-145*	GGAUUCCUGGAAAUACUGUUCU	287	CCAGGAATC	1224	CAGGAATC	2161	AGGAATC	3098
hsa-miR-1468	CUCCGUUUGCCUGUUUCGUG	288	GCAAACGGA	1225	CAAACGGA	2162	AAACGGA	3099
hsa-miR-1469	CUCGGCGCGGGGCGGGGCUCC	289	CCGCGCCGA	1226	CGCGCCGA	2163	GCGCCGA	3100
hsa-miR-146a	UGAGAACUGAAUCCAUGGGUU	290	TCAGTTCTC	1227	CAGTTCTC	2164	AGTTCTC	3101
hsa-miR-146a*	CCUCUGAAAUCAGUUCUUCAG	291	ATTCAGAG	1228	TTTCAGAG	2165	TTCAGAG	3102
hsa-miR-146b-3p	UGCCCUGUGGACUCAGUUCUGG	292	CCACAGGGC	1229	CACAGGGC	2166	ACAGGGC	3103
hsa-miR-146b-5p	UGAGAACUGAAUCCAUGGGCU	293	TCAGTTCTC	1230	CAGTTCTC	2167	AGTTCTC	3104
hsa-miR-147	GUGUGUGGAAUUGCUUCUGC	294	TTCCACACA	1231	TCCACACA	2168	CCACACA	3105
hsa-miR-1470	GCCCUCGCCCCGUGCACCCCG	295	GGCGGAGGG	1232	GCGGAGGG	2169	CGGAGGG	3106
hsa-miR-1471	GCCCUGUGUGGAGCCAGGUGU	296	ACACGCGGG	1233	CACGCGGG	2170	ACGCGGG	3107
hsa-miR-147b	GUGUGCGGAAUUGCUUCUGCUA	297	TTCCGCACA	1234	TCCGCACA	2171	CCGCACA	3108
hsa-miR-148a	UCAGUGCACUACAGAACUUUGU	298	AGTGCACTG	1235	GTGCACTG	2172	TGCACTG	3109
hsa-miR-148a*	AAAGUUCUGAGACACUCCGACU	299	TCAGAACTT	1236	CAGAACTT	2173	AGAACTT	3110
hsa-miR-148b	UCAGUGCAUCACAGAACUUUGU	300	GATGCACTG	1237	ATGCACTG	2174	TGCACTG	3111
hsa-miR-148b*	AAGUUCUGUUAUACACUCAGGC	301	AACAGAACT	1238	ACAGAACT	2175	CAGAACT	3112

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-149	UCUGGCUCGGUGUCUUCACUCCC	302	CGGAGCCAG	1239	GGAGCCAG	2176	GAGCCAG	3113
hsa-miR-149*	AGGGAGGGACGGGGGUCUGUC	303	GTCCCTCCC	1240	TCCCTCCC	2177	CCCTCCC	3114
hsa-miR-150	UCUCCCAACCCUUGUACCAGUG	304	GGTTGGGAG	1241	GTTGGGAG	2178	TTGGGAG	3115
hsa-miR-150*	CUGGUACAGGCCUGGGGGACAG	305	CCTGTACCA	1242	CTGTACCA	2179	TGTACCA	3116
hsa-miR-151-3p	CUAGACUGAAGCUCCUUGAGG	306	TTCAGTCTA	1243	TCAGTCTA	2180	CAGTCTA	3117
hsa-miR-151-5p	UCGAGGAGCUCACAGUCUAGU	307	AGCTCCTCG	1244	GCTCCTCG	2181	CTCCTCG	3118
hsa-miR-152	UCAGUGCAUGACAGAACUUGG	308	CATGCACTG	1245	ATGCACTG	2182	TGCACTG	3119
hsa-miR-153	UUGCAUAGUCACAAAAGUGAUC	309	GACTATGCA	1246	ACTATGCA	2183	CTATGCA	3120
hsa-miR-1537	AAAACCGUCUAGUUACAGUUGU	310	AGACGGTTT	1247	GACGGTTT	2184	ACGGTTT	3121
hsa-miR-1538	CGGCCCGGGCUGCUGCUGUUCU	311	GCCCGGGCC	1248	CCCGGGCC	2185	CCGGGCC	3122
hsa-miR-1539	UCCUGCGCGUCCAGAUGCC	312	ACGCGCAGG	1249	CGCGCAGG	2186	GCGCAGG	3123
hsa-miR-154	UAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCG	313	GGATAACCT	1250	GATAACCT	2187	ATAACCT	3124
hsa-miR-154*	AAUCAUACACGGUUGACCUAUU	314	GTGTATGAT	1251	TGTATGAT	2188	GTATGAT	3125
hsa-miR-155	UUAUUGCUAAUCGUGAUAGGGGU	315	TTAGCATT	1252	TAGCATT	2189	AGCATT	3126
hsa-miR-155*	CUCCUACAUUUAGCAUUAACA	316	TATGTAGGA	1253	ATGTAGGA	2190	TGTAGGA	3127
hsa-miR-155a	UAGCAGCACAUAAUGGUUUUGUG	317	TGTGCTGCT	1254	GTGCTGCT	2191	TGCTGCT	3128
hsa-miR-155a*	CAGGCCAUUUUGUCUGCCUCA	318	ATATGGCCT	1255	TATGGCCT	2192	ATGGCCT	3129
hsa-miR-155b	UAGCAGCACAUCAUGGUUUACA	319	TGTGCTGCT	1256	GTGCTGCT	2193	TGCTGCT	3130
hsa-miR-155b*	CGAAUCAUUUUUGCUGCUCUA	320	TAATGATTC	1257	AATGATTC	2194	ATGATTC	3131
hsa-miR-156	UAGCAGCACGUAAAUUUGGCG	321	CGTGCTGCT	1258	GTGCTGCT	2195	TGCTGCT	3132
hsa-miR-156-1*	CCAGUAUUACUGUGCUGCUGA	322	TTAATACTG	1259	TAATACTG	2196	AATACTG	3133
hsa-miR-156-2*	CCAUAUUACUGUGCUGCUUUA	323	GTAATATTG	1260	TAATATTG	2197	AATATTG	3134
hsa-miR-157	CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	324	AAGCACTTT	1261	AGCACTTT	2198	GCACTTT	3135
hsa-miR-157*	ACUGCAGUGAAGGCACUUGUAG	325	TCACTGCAG	1262	CACTGCAG	2199	ACTGCAG	3136
hsa-miR-181a	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU	326	GTTGAATGT	1263	TTGAATGT	2200	TGAATGT	3137
hsa-miR-181a*	ACCAUCGACCGUUGAUUGUACC	327	GGTCGATGG	1264	GTCGATGG	2201	TCGATGG	3138
hsa-miR-181a-2*	ACCACUGACCGUUGACUGUACC	328	GGTCAGTGG	1265	GTCAGTGG	2202	TCAGTGG	3139

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-181b	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU	329	AATGAATGT	1266	ATGAATGT	2203	TGAATGT	3140
hsa-miR-181c	AACAUUCAACCCUGUCGGUGAGU	330	GTTGAATGT	1267	TTGAATGT	2204	TGAATGT	3141
hsa-miR-181c*	AACCAUCGACCCGUUGAGUGGAC	331	GTCGATGGT	1268	TCGATGGT	2205	CGATGGT	3142
hsa-miR-181d	AACAUUCAUUGUUGUCGGUGGGU	332	AATGAATGT	1269	ATGAATGT	2206	TGAATGT	3143
hsa-miR-182	UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU	333	CATTGCCAA	1270	ATTGCCAA	2207	TTGCCAA	3144
hsa-miR-182*	UGGUUCUAGACUUGCCAACUA	334	TCTAGAACC	1271	CTAGAACC	2208	TAGAACC	3145
hsa-miR-1825	UCCAGUGCCCUCCUCUCC	335	GGGCACTGG	1272	GGCACTGG	2209	GCACTGG	3146
hsa-miR-1826	AUUGAUCAUCGACACUUCGAACGCAAU	336	GATGATCAA	1273	ATGATCAA	2210	TGATCAA	3147
hsa-miR-1827	UGAGGCAGUAGAUUGAAU	337	TACTGCCTC	1274	ACTGCCTC	2211	CTGCCTC	3148
hsa-miR-183	UAUGGCACUGGUAGAAUUCACU	338	CAGTGCCAT	1275	AGTGCCAT	2212	GTGCCAT	3149
hsa-miR-183*	GUGAAUUACCGAAGGGCCAUA	339	GGTAATTCA	1276	GTAATTCA	2213	TAATTCA	3150
hsa-miR-184	UGGACGGAGAACUGAUAAAGGGU	340	TCTCCGTCC	1277	CTCCGTCC	2214	TCCGTCC	3151
hsa-miR-185	UGGAGAGAAAGGCAGUCCUGA	341	TTTCTCTCC	1278	TTCTCTCC	2215	TCTCTCC	3152
hsa-miR-185*	AGGGGCUGGCUUUCUCUGGUC	342	GCCAGCCCC	1279	CCAGCCCC	2216	CAGCCCC	3153
hsa-miR-186	CAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCU	343	GAATTCTTT	1280	AATTCTTT	2217	ATTCTTT	3154
hsa-miR-186*	GCCCAAAGGUGAAUUUUUUGGG	344	ACCTTTGGG	1281	CCTTTGGG	2218	CTTTGGG	3155
hsa-miR-187	UCGUGUCUUGUGUUGCAGCCGG	345	CAAGACACG	1282	AAGACACG	2219	AGACACG	3156
hsa-miR-187*	GGCUACAACACAGGACCCGGGC	346	TGTTGTAGC	1283	GTTGTAGC	2220	TTGTAGC	3157
hsa-miR-188-3p	CUCCCACAUGCAGGGUUUGCA	347	CATGTGGGA	1284	ATGTGGGA	2221	TGTGGGA	3158
hsa-miR-188-5p	CAUCCCUUGCAUGGUGGAGGG	348	GCAAGGGAT	1285	CAAGGGAT	2222	AAGGGAT	3159
hsa-miR-18a	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAG	349	ATGCACCTT	1286	TGCACCTT	2223	GCACCTT	3160
hsa-miR-18a*	ACUGCCCUAAGUGCUCUUCUGG	350	TTAGGGCAG	1287	TAGGGCAG	2224	AGGGCAG	3161
hsa-miR-18b	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGUUAG	351	ATGCACCTT	1288	TGCACCTT	2225	GCACCTT	3162
hsa-miR-18b*	UGCCCUAAAUGCCCUUCUGGC	352	ATTTAGGGC	1289	TTTAGGGC	2226	TTAGGGC	3163
hsa-miR-190	UGAUUUGUUUGAUUAUUAGGU	353	AAACATATC	1290	AACATATC	2227	ACATATC	3164
hsa-miR-1908	CGGCGGGGACGGCGAUUGGUC	354	GTCCCCGCC	1291	TCCCCGCC	2228	CCCCGCC	3165
hsa-miR-1909	CGCAGGGGCGGGUGCUCACCG	355	GGCCCCTGC	1292	GCCCCTGC	2229	CCCCTGC	3166

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-1909*	UGAGUGCCGGUGCCUGCCUG	356	CCGGCACTC	1293	CGGCACTC	2230	GGCACTC	3167
hsa-miR-190b	UGAUUUGUUUGAUUUGGGUU	357	AAACATATC	1294	AACATATC	2231	ACATATC	3168
hsa-miR-191	CAACGGAAUCCCAAAGCAGCUG	358	GATTCCGTT	1295	ATTCCGTT	2232	TTCCGTT	3169
hsa-miR-191*	GCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCC	359	CAAGCGCAG	1296	AAGCGCAG	2233	AGCGCAG	3170
hsa-miR-1910	CCAGUCCUGUGCCUGCCGCCU	360	ACAGGACTG	1297	CAGGACTG	2234	AGGACTG	3171
hsa-miR-1911	UGAGUACCGCCAUGUCUGUUGGG	361	GCGGTACTC	1298	CGGTACTC	2235	GGTACTC	3172
hsa-miR-1911*	CACCAGGCAUUGUGGUCUCC	362	ATGCCTGGT	1299	TGCCTGGT	2236	GCCTGGT	3173
hsa-miR-1912	UACCCAGAGCAUGCAGUGUGAA	363	GCTCTGGGT	1300	CTCTGGGT	2237	TCTGGGT	3174
hsa-miR-1913	UCUGCCCCUCGCGUCUGCCA	364	AGGGGGCAG	1301	GGGGGCAG	2238	GGGGCAG	3175
hsa-miR-1914	CCCUGUGCCCGGCCACUUCUG	365	GGGCACAGG	1302	GGCACAGG	2239	GCACAGG	3176
hsa-miR-1914*	GGAGGGGUCCCGCACUGGGAGG	366	GGACCCCTC	1303	GACCCCTC	2240	ACCCCTC	3177
hsa-miR-1915	CCCCAGGGCGACGCGGCGGG	367	CGCCCTGGG	1304	GCCCTGGG	2241	CCCTGGG	3178
hsa-miR-1915*	ACCUUGCCUUGCUGCCCGGGCC	368	AAGGCAAGG	1305	AGGCAAGG	2242	GGCAAGG	3179
hsa-miR-192	CUGACCUAUGAAUUGACAGCC	369	CATAGGTCA	1306	ATAGGTCA	2243	TAGGTCA	3180
hsa-miR-192*	CUGCCAAUCCAUAGGUCACAG	370	GAATTGGCA	1307	AATTGGCA	2244	ATTGGCA	3181
hsa-miR-193a-3p	AACUGGCCUACAAAGUCCAGU	371	TAGGCCAGT	1308	AGGCCAGT	2245	GGCCAGT	3182
hsa-miR-193a-5p	UGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGA	372	CAAAGACCC	1309	AAAGACCC	2246	AAGACCC	3183
hsa-miR-193b	AACUGGCCUCAAAAGUCCGCU	373	AGGGCCAGT	1310	GGGCCAGT	2247	GGCCAGT	3184
hsa-miR-193b*	CGGGGUUUUGAGGGCGAGAUGA	374	CAAACCCC	1311	AAAACCCC	2248	AAACCCC	3185
hsa-miR-194	UGUACAGCAACUCCAUGUGGA	375	TGCTGTTAC	1312	GCTGTTAC	2249	CTGTTAC	3186
hsa-miR-194*	CCAGUGGGGCGUGCUGUUAUCUG	376	GCCCCACTG	1313	CCCCACTG	2250	CCCACTG	3187
hsa-miR-195	UAGCAGCACAGAAUUAUUGGC	377	TGTGCTGCT	1314	GTGCTGCT	2251	TGCTGCT	3188
hsa-miR-195*	CCAUAUUGGCUGUGCUGCUCC	378	CCAATATTG	1315	CAATATTG	2252	AATATTG	3189
hsa-miR-196a	UAGGUAGUUUCAUGUUGUUGGG	379	AAACTACCT	1316	AACTACCT	2253	ACTACCT	3190
hsa-miR-196a*	CGGCAACAAGAAACUGCCUGAG	380	CTTGTGCC	1317	TTGTGCC	2254	TGTGCC	3191
hsa-miR-196b	UAGGUAGUUUCCUGUUGUUGGG	381	AAACTACCT	1318	AACTACCT	2255	ACTACCT	3192
hsa-miR-197	UUCACCACCUUCUCCACCCAGC	382	AGGTGGTGA	1319	GGTGGTGA	2256	GTGGTGA	3193

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-198	GGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUC	383	CCTCTGGAC	1320	CTCTGGAC	2257	TCTGGAC	3194
hsa-miR-199a-5p	CCCAGUGUUCAGACUACCGUUC	384	GAACACTGG	1321	AACACTGG	2258	ACACTGG	3195
hsa-miR-199b-3p	ACAGUAGUCUGCACAUUGGUUA	385	AGACTACTG	1322	GACTACTG	2259	ACTACTG	3196
hsa-miR-199b-5p	CCCAGUGUUUAGACUUCUGUUC	386	AAACACTGG	1323	AACACTGG	2260	ACACTGG	3197
hsa-miR-19a	UGUGCAAUUCUUGCAAACUGA	387	GATTTGCAC	1324	ATTTGCAC	2261	TTTGCAC	3198
hsa-miR-19a*	AGUUUUGCAUAGUUGCACUACA	388	ATGCAAAC	1325	TGCAAAC	2262	GCAAAC	3199
hsa-miR-19b	UGUGCAAUCCAUGCAAACUGA	389	GATTTGCAC	1326	ATTTGCAC	2263	TTTGCAC	3200
hsa-miR-19b-1*	AGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGC	390	CTGCAAAC	1327	TGCAAAC	2264	GCAAAC	3201
hsa-miR-19b-2*	AGUUUUGCAGGUUUGCAUUUCA	391	CTGCAAAC	1328	TGCAAAC	2265	GCAAAC	3202
hsa-miR-200a	UAACACUGUCUGGUAACGAUGU	392	GACAGTGTT	1329	ACAGTGTT	2266	CAGTGTT	3203
hsa-miR-200a*	CAUCUUAACCGGACAGUGCUGGA	393	CGGTAAGAT	1330	GGTAAGAT	2267	GTAAGAT	3204
hsa-miR-200b	UAAUACUGCCUGGUAUGAUGA	394	GGCAGTATT	1331	GCAGTATT	2268	CAGTATT	3205
hsa-miR-200b*	CAUCUUAACUGGGCAGCAUUGGA	395	CAGTAAGAT	1332	AGTAAGAT	2269	GTAAGAT	3206
hsa-miR-200c	UAAUACUGCCGGGUAUGAUGGA	396	GGCAGTATT	1333	GCAGTATT	2270	CAGTATT	3207
hsa-miR-200c*	CGUCUUAACCCAGCAGUGUUUGG	397	GGGTAAGAC	1334	GGTAAGAC	2271	GTAAGAC	3208
hsa-miR-202	AGAGGUUAGGGCAUGGGAA	398	CTATACCTC	1335	TATACCTC	2272	ATACCTC	3209
hsa-miR-202*	UUCCUUAUGCAUUAUCUUCUUUG	399	TGCATAGGA	1336	GCATAGGA	2273	CATAGGA	3210
hsa-miR-203	GUGAAAUGUUUAGGACCACUAG	400	AACATTTCA	1337	ACATTTCA	2274	CATTTCA	3211
hsa-miR-204	UUCCCUUUGUCAUCCUUAUGCCU	401	ACAAAGGGA	1338	CAAAGGGA	2275	AAAGGGA	3212
hsa-miR-205	UCCUUAUCCACCGGAGUCUG	402	GAATGAAGG	1339	AATGAAGG	2276	ATGAAGG	3213
hsa-miR-206	UGGAAUGUAAGGAAGUGUGUGG	403	TTACATTCC	1340	TACATTCC	2277	ACATTCC	3214
hsa-miR-208a	AUAAGACGAGCAAAAAGCUUGU	404	CTCGTCTTA	1341	TCGTCTTA	2278	CGTCTTA	3215
hsa-miR-208b	AUAAGACGAACAAAAGGUUUGU	405	TTCGTCTTA	1342	TCGTCTTA	2279	CGTCTTA	3216
hsa-miR-20a	UAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAG	406	AAGCACTTT	1343	AGCACTTT	2280	GCACTTT	3217
hsa-miR-20a*	ACUGCAUUAUGAGCACUUAAG	407	ATAATGCAG	1344	TAATGCAG	2281	AATGCAG	3218
hsa-miR-20b	CAAAGUGCUCUUAUAGUGCAGGUAG	908	GAGCACTTT	1345	AGCACTTT	2282	GCACTTT	3219
hsa-miR-20b*	ACUGUAGUAUGGGCACUCCAG	409	ATACTACAG	1346	TACTACAG	2283	ACTACAG	3220

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-21	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	410	TGATAAGCT	1347	GATAAGCT	2284	ATAAGCT	3221
hsa-miR-21*	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU	411	ACTGGTGTT	1348	CTGGTGTT	2285	TGGTGTT	3222
hsa-miR-210	CUGUGCGUGUGACAGCGGCUGA	412	ACACGCACA	1349	CACGCACA	2286	ACGCACA	3223
hsa-miR-211	UUCCCUUUGUCAUCCUUCGCCU	413	ACAAAGGGA	1350	CAAAGGGA	2287	AAAGGGA	3224
hsa-miR-212	U AACAGUCUCCAGUCACGGCC	414	GAGACTGTT	1351	AGACTGTT	2288	GACTGTT	3225
hsa-miR-214	ACAGCAGGCACAGACAGGCAGU	415	TGCCTGCTG	1352	GCCTGCTG	2289	CCTGCTG	3226
hsa-miR-214*	UGCCUGUCUACACUUGCUGUGC	416	TAGACAGGC	1353	AGACAGGC	2290	GACAGGC	3227
hsa-miR-215	AUGACCUAUGAAUUGACAGAC	417	CATAGGTCA	1354	ATAGGTCA	2291	TAGGTCA	3228
hsa-miR-216a	UAAUCUCAGCUGGCAACUGUGA	418	GCTGAGATT	1355	CTGAGATT	2292	TGAGATT	3229
hsa-miR-216b	AAAUCUCUGCAGGCAAUGUGA	419	GCAGAGATT	1356	CAGAGATT	2293	AGAGATT	3230
hsa-miR-217	UACUGCAUCAGGAACUGAUUGGA	420	TGATGCAGT	1357	GATGCAGT	2294	ATGCAGT	3231
hsa-miR-218	UUGUGCUUGAUCUAACCAUGU	421	TCAAGCACA	1358	CAAGCACA	2295	AAGCACA	3232
hsa-miR-218-1*	AUGGUUCCGUCAAGCACCAUGG	422	ACGGAACCA	1359	CGGAACCA	2296	GGAACCA	3233
hsa-miR-218-2*	CAUGGUUCUGUCAAGCACCGCG	423	CAGAACCAT	1360	AGAACCAT	2297	GAACCAT	3234
hsa-miR-219-1-3p	AGAGUUGAGUCUGGACGUCCCG	424	ACTCAACTC	1361	CTCAACTC	2298	TCAACTC	3235
hsa-miR-219-2-3p	AGAAUUGUGGCUGGACAUCUGU	425	CCACAATTC	1362	CACAATTC	2299	ACAATTC	3236
hsa-miR-219-5p	UGAUUGUCCAAACGCAAUUCU	426	TGGACAATC	1363	GGACAATC	2300	GACAATC	3237
hsa-miR-22	AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	427	CTGGCAGCT	1364	TGGCAGCT	2301	GGCAGCT	3238
hsa-miR-22*	AGUUCUUCAGUGGCAAGCUUUA	428	CTGAAGAAC	1365	TGAAGAAC	2302	GAAGAAC	3239
hsa-miR-220a	CCACACCGUAUCUGACACUUU	429	TACGGTGTG	1366	ACGGTGTG	2303	CGGTGTG	3240
hsa-miR-220b	CCACCACCGUGUCUGACACUU	430	ACGGTGGTG	1367	CGGTGGTG	2304	GGTGGTG	3241
hsa-miR-220c	ACACAGGGCUGUUGUGAAGACU	431	AGCCCTGTG	1368	GCCCTGTG	2305	CCCTGTG	3242
hsa-miR-221	AGCUACAUUGUCUGCGGGUUC	432	CAATGTAGC	1369	AATGTAGC	2306	ATGTAGC	3243
hsa-miR-221*	ACCUGGCAUACAAUGUAGAUUU	433	TATGCCAGG	1370	ATGCCAGG	2307	TGCCAGG	3244
hsa-miR-222	AGCUACAUCUGGCUACUGGGU	434	AGATGTAGC	1371	GATGTAGC	2308	ATGTAGC	3245
hsa-miR-222*	CUCAGUAGCCAGUGUAGAUCU	435	GGCTACTGA	1372	GCTACTGA	2309	CTACTGA	3246
hsa-miR-223	UGUCAGUUUGUCAAAUACCCCA	436	CAAAGTGAC	1373	AAAGTGAC	2310	AAAGTGAC	3247

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-223*	CGUGUAUUUGACAAGCUGAGUU	437	CAAATACAC	1374	AAATACAC	2311	AATACAC	3248
hsa-miR-224	CAAGUCACUAGUGGUUCCGUU	438	TAGTGACTT	1375	AGTGACTT	2312	GTGACTT	3249
hsa-miR-23a	AUCACAUUGCCAGGGAUUUC	439	GCAATGTGA	1376	CAATGTGA	2313	AATGTGA	3250
hsa-miR-23a*	GGGGUUCUGGGGAUGGGAUUU	440	CAGGAACCC	1377	AGGAACCC	2314	GGAACCC	3251
hsa-miR-23b	AUCACAUUGCCAGGGAUUACC	441	GCAATGTGA	1378	CAATGTGA	2315	AATGTGA	3252
hsa-miR-23b*	UGGGUUCUGGCAUGCUGAUUU	442	CAGGAACCC	1379	AGGAACCC	2316	GGAACCC	3253
hsa-miR-24	UGGCUCAGUUCAGCAGGAACAG	443	AACTGAGCC	1380	ACTGAGCC	2317	CTGAGCC	3254
hsa-miR-24-1*	UGCCUACUGAGCUGAUUUCAGU	444	TCAGTAGGC	1381	CAGTAGGC	2318	AGTAGGC	3255
hsa-miR-24-2*	UGCCUACUGAGCUGAAACACAG	445	TCAGTAGGC	1382	CAGTAGGC	2319	AGTAGGC	3256
hsa-miR-25	CAUUGCACUUGUCUCGGUCUGA	446	AAGTGCAAT	1383	AGTGCAAT	2320	GTGCAAT	3257
hsa-miR-25*	AGGCGGAGACUUGGGCAAUUG	447	GTCTCCGCC	1384	TCTCCGCC	2321	CTCCGCC	3258
hsa-miR-26a	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	448	ATTACTTGA	1385	TTACTTGA	2322	TACTTGA	3259
hsa-miR-26a-1*	CCUAUUCUUGGUUACUUGCACG	449	CAAGAATAG	1386	AAGAATAG	2323	AGAATAG	3260
hsa-miR-26a-2*	CCUAUUCUUGAUUACUUGUUUC	450	CAAGAATAG	1387	AAGAATAG	2324	AGAATAG	3261
hsa-miR-26b	UUCAAGUAAUUCAGGAUAGGU	451	ATTACTTGA	1388	TTACTTGA	2325	TACTTGA	3262
hsa-miR-26b*	CCUGUUCUCCAUAUACUUGGCUC	452	GGAGAACAG	1389	GAGAACAG	2326	AGAACAG	3263
hsa-miR-27a	UUCACAGUGGCUAAGUCCGC	453	CCACTGTGA	1390	CACTGTGA	2327	ACTGTGA	3264
hsa-miR-27a*	AGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCA	454	GCTAAGCCC	1391	CTAAGCCC	2328	TAAGCCC	3265
hsa-miR-27b	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	455	CCACTGTGA	1392	CACTGTGA	2329	ACTGTGA	3266
hsa-miR-27b*	AGAGCUUAGCUGAUUGGUGAAC	456	GCTAAGCTC	1393	CTAAGCTC	2330	TAAGCTC	3267
hsa-miR-28-3p	CACUAGAUUGUGAGCUCCUGGA	457	CAATCTAGT	1394	AATCTAGT	2331	ATCTAGT	3268
hsa-miR-28-5p	AAGGAGCUCACAGUCUUAUUGAG	458	TGAGCTCCT	1395	GAGCTCCT	2332	AGCTCCT	3269
hsa-miR-296-3p	GAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCC	459	CCCAACCCT	1396	CCAACCCT	2333	CAACCCT	3270
hsa-miR-296-5p	AGGGCCCCCCCUCAAUCCUGU	460	GGGGGGCCC	1397	GGGGGGCCC	2334	GGGGCCC	3271
hsa-miR-297	AUGUAUGUGUGCAUGUGCAUG	461	ACACATACA	1398	CACATACA	2335	ACATACA	3272
hsa-miR-298	AGCAGAAGCAGGGAGGUUCUCCCA	462	TGCTTCTGC	1399	GCTTCTGC	2336	CTTCTGC	3273
hsa-miR-299-3p	UAUGUGGGAUGGUAAACCGCUU	463	ATCCCACAT	1400	TCCCACAT	2337	CCCACAT	3274

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-299-5p	UGGUUUACCGUCCACAUACAU	464	CGGTAAACC	1401	GGTAAACC	2338	GTAACC	3275
hsa-miR-29a	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	465	GATGGTGCT	1402	ATGGTGCT	2339	TGGTGCT	3276
hsa-miR-29a*	ACUGAUUUUCUUUUGGUGUUCAG	466	AGAAATCAG	1403	GAAATCAG	2340	AAATCAG	3277
hsa-miR-29b	UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUU	467	AATGGTGCT	1404	ATGGTGCT	2341	TGGTGCT	3278
hsa-miR-29b-1*	GCUGGUUUCAUAUGGUGGUUUAGA	468	TGAAACCAG	1405	GAAACCAG	2342	AAACCAG	3279
hsa-miR-29b-2*	CUGGUUUCACAUGGUGGCUUAG	469	GTGAAACCA	1406	TGAAACCA	2343	GAAACCA	3280
hsa-miR-29c	UAGCACCAUUUGAAAUCGGUUA	470	AATGGTGCT	1407	ATGGTGCT	2344	TGGTGCT	3281
hsa-miR-29c*	UGACCGAUUUCUCCUGGUGUUC	471	AAATCGGTC	1408	AATCGGTC	2345	ATCGGTC	3282
hsa-miR-300	UAUACAAGGGCAGACUCUCUCU	472	CCCTTGTAT	1409	CCTTGTAT	2346	CTTGTAT	3283
hsa-miR-301a	CAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAAGC	473	TATTGCACT	1410	ATTGCACT	2347	TTGCACT	3284
hsa-miR-301b	CAGUGCAAUGAUUUGUCAAAAGC	474	CATTGCACT	1411	ATTGCACT	2348	TTGCACT	3285
hsa-miR-302a	UAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGA	475	GAAGCACTT	1412	AAGCACTT	2349	AGCACTT	3286
hsa-miR-302a*	ACUUAAAACGUGGAUGUACUUGCU	476	ACGTTTAAG	1413	CGTTTAAG	2350	GTTTAAG	3287
hsa-miR-302b	UAAGUGCUUCCAUGUUUUGAGUAG	477	GAAGCACTT	1414	AAGCACTT	2351	AGCACTT	3288
hsa-miR-302b*	ACUUUAACAUGGAAGUGCUUUC	478	ATGTTAAAG	1415	TGTTAAAG	2352	GTTAAAG	3289
hsa-miR-302c	UAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGG	479	GAAGCACTT	1416	AAGCACTT	2353	AGCACTT	3290
hsa-miR-302c*	UUUACAUGGGGUACCUGCUG	480	CCATGTAA	1417	CATGTAA	2354	ATGTAA	3291
hsa-miR-302d	UAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGU	481	GAAGCACTT	1418	AAGCACTT	2355	AGCACTT	3292
hsa-miR-302d*	ACUUUAACAUGGAGGCACUUGC	482	ATGTTAAAG	1419	TGTTAAAG	2356	GTTAAAG	3293
hsa-miR-302e	UAAGUGCUUCCAUGCUU	483	GAAGCACTT	1420	AAGCACTT	2357	AGCACTT	3294
hsa-miR-302f	UAAUUGCUUCCAUGUUU	484	GAAGCAATT	1421	AAGCAATT	2358	AGCAATT	3295
hsa-miR-30a	UGUAAACAUCUCGACUGGAAG	485	GATGTTTAC	1422	ATGTTTAC	2359	TGTTTAC	3296
hsa-miR-30a*	CUUUCAGUCGGAUGUUUCAGC	486	CFACTGAAA	1423	GACTGAAA	2360	ACTGAAA	3297
hsa-miR-30b	UGUAAACAUCUACACUCAGCU	487	GATGTTTAC	1424	ATGTTTAC	2361	TGTTTAC	3298
hsa-miR-30b*	CUGGGAGGUGGAUGUUUACUUC	488	CACCTCCA	1425	ACCTCCA	2362	CCTCCA	3299
hsa-miR-30c	UGUAAACAUCUACACUCUCAGC	489	GATGTTTAC	1426	ATGTTTAC	2363	TGTTTAC	3300
hsa-miR-30c-1*	CUGGGAGAGGGUUGUUUACUCC	490	CCTCTCCA	1427	CTCTCCA	2364	TCTCCA	3301

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-30c-2*	CUGGGAGAAGGCUGUUUACUCU	491	CTTCTCCCA	1428	TTCTCCCA	2365	TCTCCCA	3302
hsa-miR-30d	UGUAAACAUCCCCGACUGGAAG	492	GATGTTTAC	1429	ATGTTTAC	2366	TGTTTAC	3303
hsa-miR-30d*	CUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGC	493	TGACTGAAA	1430	GACTGAAA	2367	ACTGAAA	3304
hsa-miR-30e	UGUAAACAUCUUGACUGGAAG	494	GATGTTTAC	1431	ATGTTTAC	2368	TGTTTAC	3305
hsa-miR-30e*	CUUUCAGUCGGAUGUUUACAGC	495	CGACTGAAA	1432	GACTGAAA	2369	ACTGAAA	3306
hsa-miR-31	AGGCAAGAUGCUGGCAUAGCU	496	CATCTTGCC	1433	ATCTTGCC	2370	TCTTGCC	3307
hsa-miR-31*	UGCUAUGCCAACAUAUUGCCA	497	TGGCATAGC	1434	GGCATAGC	2371	GCATAGC	3308
hsa-miR-32	UAUUGCACAUUACUAAGUUGCA	498	ATGTGCAAT	1435	TGTGCAAT	2372	GTGCAAT	3309
hsa-miR-32*	CAAUUUAGUGUGUGUAUUUU	499	CACTAAATT	1436	ACTAAATT	2373	CTAAATT	3310
hsa-miR-320a	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA	500	CCCAGCTTT	1437	CCAGCTTT	2374	CAGCTTT	3311
hsa-miR-320b	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCAA	501	CCCAGCTTT	1438	CCAGCTTT	2375	CAGCTTT	3312
hsa-miR-320c	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGU	502	CCCAGCTTT	1439	CCAGCTTT	2376	CAGCTTT	3313
hsa-miR-320d	AAAAGCUGGGUUGAGAGGA	503	CCCAGCTTT	1440	CCAGCTTT	2377	CAGCTTT	3314
hsa-miR-323-3p	CACAUUACACGGUCGACCUCU	504	GTGTAATGT	1441	TGTAATGT	2378	GTAATGT	3315
hsa-miR-323-5p	AGGUGGUCCGUGGCGCGUUCGC	505	CGGACCACC	1442	GGACCACC	2379	GACCACC	3316
hsa-miR-324-3p	ACUGCCCCAGGUGCUGCUGG	506	CTGGGGCAG	1443	TGGGGCAG	2380	GGGGCAG	3317
hsa-miR-324-5p	CGCAUCCCCUAGGGCAUUGGUGU	507	AGGGGATGC	1444	GGGGATGC	2381	GGGATGC	3318
hsa-miR-325	CCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGU	508	ACCTACTAG	1445	CCTACTAG	2382	CTACTAG	3319
hsa-miR-326	CCUCUGGGCCCUUCCUCCAG	509	GGCCCAGAG	1446	GCCCAGAG	2383	CCCAGAG	3320
hsa-miR-328	CUGGCCUCUCUGCCUUCGCU	510	AGAGGGCCA	1447	GAGGGCCA	2384	AGGGCCA	3321
hsa-miR-329	AACACACCUGGUUAACCUCUUU	511	CAGGTGTGT	1448	AGGTGTGT	2385	GGTGTGT	3322
hsa-miR-330-3p	GCAAAGCACACGGCCUGCAGAGA	512	TGTGCTTTG	1449	GTGCTTTG	2386	TGCTTTG	3323
hsa-miR-330-5p	UCUCUGGGCCUGUGUCUAGGC	513	GGCCCAGAG	1450	GCCCAGAG	2387	CCCAGAG	3324
hsa-miR-331-3p	GCCCCUGGGCCUAUCCUAGAA	514	GCCCAGGGG	1451	CCCAGGGG	2388	CCAGGGG	3325
hsa-miR-331-5p	CUAGGUAUGGUCCAGGGAUCC	515	CCATACCTA	1452	CATACCTA	2389	ATACCTA	3326
hsa-miR-335	UCAAGAGCAAUAACGAAAAUGU	516	TTGCTCTTG	1453	TGCTCTTG	2390	GCTCTTG	3327
hsa-miR-335*	UUUUUCAUUUUGCUCCUGACC	517	TAATGAAAA	1454	AATGAAAA	2391	ATGAAAA	3328

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-337-3p	CUCCUAUAUGAUGCCUUUCUUC	518	CATATAGGA	1455	ATATAGGA	2392	TATAGGA	3329
hsa-miR-337-5p	GAACGGCUUCAUCAGGAGUU	519	GAAGCCGTT	1456	AAGCCGTT	2393	AGCCGTT	3330
hsa-miR-338-3p	UCCAGCAUCAGUGAUUUUGUUG	520	TGATGCTGG	1457	GATGCTGG	2394	ATGCTGG	3331
hsa-miR-338-5p	AACAAUAUCCUGGUGCUGAGUG	521	GGATATTGT	1458	GATATTGT	2395	ATATTGT	3332
hsa-miR-339-3p	UGAGCGCCUCGACGACAGAGCCG	522	GAGGCGCTC	1459	AGGCGCTC	2396	GGCGCTC	3333
hsa-miR-339-5p	UCCUGUCCUCCAGGAGCUCACG	523	AGGACAGGG	1460	GGACAGGG	2397	GACAGGG	3334
hsa-miR-33a	GUGCAUUGUAGUUGCAUUGCA	524	TACAATGCA	1461	ACAATGCA	2398	CAATGCA	3335
hsa-miR-33a*	CAAUGUUUCCACAGUGCAUCAC	525	GGAAACATT	1462	GAAACATT	2399	AAACATT	3336
hsa-miR-33b	GUGCAUUGCUGUUGCAUUGC	526	AGCAATGCA	1463	GCAATGCA	2400	CAATGCA	3337
hsa-miR-33b*	CAGUGCCUCGGCAGUGCAGCCC	527	CGAGGCACT	1464	GAGGCACT	2401	AGGCACT	3338
hsa-miR-340	UUUAAAAGCAAUGAGACUGAUU	528	TGCTTTATA	1465	GCTTTATA	2402	CTTTATA	3339
hsa-miR-340*	UCCGUCUCAGUUACUUUUAUAGC	529	CTGAGACGG	1466	TGAGACGG	2403	GAGACGG	3340
hsa-miR-342-3p	UCUCACACAGAAAUCGCACCCCGU	530	CTGTGTGAG	1467	TGTGTGAG	2404	GTGTGAG	3341
hsa-miR-342-5p	AGGGGUGCUAUCUGUGAUUGA	531	TAGCACCCC	1468	AGCACCCC	2405	GCACCCC	3342
hsa-miR-345	GCUGACUCCUAGUCCAGGGCUC	532	AGGAGTCAG	1469	GGAGTCAG	2406	GAGTCAG	3343
hsa-miR-346	UGUCUGCCCGCAUGCCUGCCUCU	533	CGGGCAGAC	1470	GGGCAGAC	2407	GGCAGAC	3344
hsa-miR-34a	UGGCAGUGUCUJAGCUGGUUGU	534	GACACTGCC	1471	ACACTGCC	2408	CACTGCC	3345
hsa-miR-34a*	CAAUCAGCAAGUAUACUGCCCU	535	TTGCTGATT	1472	TGCTGATT	2409	GCTGATT	3346
hsa-miR-34b	CAAUCACUAACUCCACUGCCAU	536	TTAGTGATT	1473	TAGTGATT	2410	AGTGATT	3347
hsa-miR-34b*	UAGGCAGUGUCAUJAGCUGAUUG	537	ACACTGCCT	1474	CACTGCCT	2411	ACTGCCT	3348
hsa-miR-34c-3p	AAUCACUAACCACACGGCCAGG	538	GTTAGTGAT	1475	TTAGTGAT	2412	TAGTGAT	3349
hsa-miR-34c-5p	AGGCAGUGUAGUUAGCUGAUUGC	539	TACTACTGCC	1476	ACACTGCC	2413	CACTGCC	3350
hsa-miR-361-3p	UCCCCAGGUGUGAUUCUGAUUU	540	ACCTGGGGG	1477	CCTGGGGG	2414	CTGGGGG	3351
hsa-miR-361-5p	UUAUCAGAAUCUCCAGGGGUAC	541	ATTCTGATA	1478	TTCTGATA	2415	TCTGATA	3352
hsa-miR-362-3p	AACACACCUAUUCAAGGAUUCA	542	TAGGTGTGT	1479	AGGTGTGT	2416	GGTGTGT	3353
hsa-miR-362-5p	AAUCCUUGGAACCUAGGUGUGAGU	543	TCCAAGGAT	1480	CCAAGGAT	2417	CAAGGAT	3354
hsa-miR-363	AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA	544	CCGTGCAAT	1481	CGTGCAAT	2418	GTGCAAT	3355

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-363*	CGGGUGGAUCACGAUGCAAUUU	545	GATCCACCC	1482	ATCCACCC	2419	TCCACCC	3356
hsa-miR-365	UAAUGCCCCUAAAAUCCUUU	546	AGGGGCATT	1483	GGGGCATT	2420	GGGCATT	3357
hsa-miR-367	AAUUGCACUUUAGCAAUGGUGA	547	AAGTGCAAT	1484	AGTGCAAT	2421	GTGCAAT	3358
hsa-miR-367*	ACUGUUGC UAAUUGCAACUCU	548	TAGCAACAG	1485	AGCAACAG	2422	GCAACAG	3359
hsa-miR-369-3p	AAUAAUACAUGGUUGAUUUU	549	ATGTATTAT	1486	TGTATTAT	2423	GTATTAT	3360
hsa-miR-369-5p	AGAUCGACCGUGUUAUUCGC	550	CGGTCGATC	1487	GGTCGATC	2424	GTCGATC	3361
hsa-miR-370	GCCUGCUGGGGUGGAACCUGGU	551	CCCAGCAGG	1488	CCAGCAGG	2425	CAGCAGG	3362
hsa-miR-371-3p	AAGUGCCGCCAUCUUUUGAGUGU	552	GGCGGCACT	1489	GCGGCACT	2426	CGGCACT	3363
hsa-miR-371-5p	ACUCAACUGUGGGGGCACU	553	CAGTTTGAG	1490	AGTTTGAG	2427	GTTTGAG	3364
hsa-miR-372	AAAGUGCUGCGACAUUUGAGCGU	554	GCAGCACTT	1491	CAGCACTT	2428	AGCACTT	3365
hsa-miR-373	GAAGUGCUCGAUUUUGGGGUGU	555	GAAGCACTT	1492	AAGCACTT	2429	AGCACTT	3366
hsa-miR-373*	ACUCAAAAUGGGGGCGCUUCC	556	CATTTTGAG	1493	ATTTTGAG	2430	TTTTGAG	3367
hsa-miR-374a	UUAUAAUACAACCUGAUAGUG	557	TGTATTATA	1494	GTATTATA	2431	TATTATA	3368
hsa-miR-374a*	CUUAUCAGAUUGUAUUGUAAU	558	ATCTGATAA	1495	TCTGATAA	2432	CTGATAA	3369
hsa-miR-374b	AUAUAAUACAACCUGCUAGUG	559	TGTATTATA	1496	GTATTATA	2433	TATTATA	3370
hsa-miR-374b*	CUUAGCAGGUUGUAUUAUCAU	560	ACCTGCTAA	1497	CCTGCTAA	2434	CTGCTAA	3371
hsa-miR-375	UUUGUUCGUUCGGCUCGCGUGA	561	AACGAACAA	1498	ACGAACAA	2435	CGAACAA	3372
hsa-miR-376a	AUCAUAGAGGAAAAUCCACGU	562	CCTCTATGA	1499	CTCTATGA	2436	TCTATGA	3373
hsa-miR-376a*	GUAGAUUCUCCUUCUAUGAGUA	563	GAGAATCTA	1500	AGAATCTA	2437	GAATCTA	3374
hsa-miR-376b	AUCAUAGAGGAAAAUCCAUGUU	564	CCTCTATGA	1501	CTCTATGA	2438	TCTATGA	3375
hsa-miR-376c	AACAUAGAGGAAAAUCCACGU	565	CCTCTATGT	1502	CTCTATGT	2439	TCTATGT	3376
hsa-miR-377	AUCACACAAAGGCAACUUUUGU	566	TTTGTGTGA	1503	TTGTGTGA	2440	TGTGTGA	3377
hsa-miR-377*	AGAGGUUGCCCUUGGUGAAUUC	567	GGCAACCTC	1504	GCAACCTC	2441	CAACCTC	3378
hsa-miR-378	ACUGGACUUGGAGUCAGAAGG	568	CAAGTCCAG	1505	AAGTCCAG	2442	AGTCCAG	3379
hsa-miR-378*	CUCCUGACUCCAGGUCCUGUGU	569	GAGTCAGGA	1506	AGTCAGGA	2443	GTCAGGA	3380
hsa-miR-379	UGGUAGACUAUGGAACGUAGG	570	TAGTCTACC	1507	AGTCTACC	2444	GTCTACC	3381
hsa-miR-379*	UAUGUAACAUGGUCCACUAACU	571	ATGTTACAT	1508	TGTTACAT	2445	GTTACAT	3382

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-380	UAUGUAAUAUGGUCCACAUCUU	572	ATATTACAT	1509	TATTACAT	2446	ATTACAT	3383
hsa-miR-380*	UGGUUGACCAUAGAACAUGCGC	573	TGGTCAACC	1510	GGTCAACC	2447	GTC AACC	3384
hsa-miR-381	UAUACAAGGGCAAGCUCUCUGU	574	CCCTTGAT	1511	CCTTGAT	2448	CTTGAT	3385
hsa-miR-382	GAAGUUGUUCGUGGUGGAUUCG	575	GAACAACCT	1512	AACAACCT	2449	ACAACCT	3386
hsa-miR-383	AGAUCAGAAGGUGAUUGUGGCU	576	CTTCTGATC	1513	TTCTGATC	2450	TCTGATC	3387
hsa-miR-384	AUUCUAGAAAUGUUCUAUA	577	TTCTAGGAA	1514	TCTAGGAA	2451	CTAGGAA	3388
hsa-miR-409-3p	GAAUGUUGCUCGGUGAACCCCU	578	AGCAACATT	1515	GCAACATT	2452	CAACATT	3389
hsa-miR-409-5p	AGGUUACCCGAGCAACUUUGCAU	579	CGGGTAACC	1516	GGGTAACC	2453	GGTAACC	3390
hsa-miR-410	AAUUAACACAGAUGGCCUGU	580	GTGTTATAT	1517	TGTTATAT	2454	GTTATAT	3391
hsa-miR-411	UAGUAGACCGUAUAGCGUACG	581	CGGTCTACT	1518	GGTCTACT	2455	GTCTACT	3392
hsa-miR-411*	UAUGUAAACACGGUCCACUAACC	582	GTGTTACAT	1519	TGTTACAT	2456	GTTACAT	3393
hsa-miR-412	ACUUCACCGUGUCCACUAGCCGU	583	CAGGTGAAG	1520	AGGTGAAG	2457	GGTGAAG	3394
hsa-miR-421	AUCAACAGACAUUAAUUGGGCGC	584	GTCTGTTGA	1521	TCTGTTGA	2458	CTGTTGA	3395
hsa-miR-422a	ACUGGACUUAGGGUCAGAAGGC	585	TAAGTCCAG	1522	AAGTCCAG	2459	AGTCCAG	3396
hsa-miR-423-3p	AGCUCGGUCUGAGGCCCCUCAGU	586	AGACCGAGC	1523	GACCGAGC	2460	ACCGAGC	3397
hsa-miR-423-5p	UGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUU	587	CTGCCCTC	1524	TGCCCTC	2461	GCCCTC	3398
hsa-miR-424	CAGCAGCAAUCAUGUUUUGAA	588	ATTGCTGCT	1525	TTGCTGCT	2462	TGCTGCT	3399
hsa-miR-424*	CAAAACGUGAGGCGCUGCUAU	589	TCACGTTTT	1526	CACGTTTT	2463	ACGTTTT	3400
hsa-miR-425	AAUGACACGAUCACUCCGUUGA	590	TCGTGTCAT	1527	CGTGTCAT	2464	GTGTCAT	3401
hsa-miR-425*	AUCGGGAAUGUCGUGUCCGCC	591	CATTCCCGA	1528	ATTCCCGA	2465	TTCCCGA	3402
hsa-miR-429	UAAUACUGUCUGGUAAAACCGU	592	GACAGTATT	1529	ACAGTATT	2466	CAGTATT	3403
hsa-miR-431	UGUCUUGCAGGCCGUAUGCA	593	CTGCAAGAC	1530	TGCAAGAC	2467	GCAAGAC	3404
hsa-miR-431*	CAGGUCGUCUUGCAGGGCUUCU	594	AGACGACCT	1531	GACGACCT	2468	ACGACCT	3405
hsa-miR-432	UCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGG	595	TACTCCAAG	1532	ACTCCAAG	2469	CTCCAAG	3406
hsa-miR-432*	CUGGAUGGCUCUCCAUGUCU	596	AGCCATCCA	1533	GCCATCCA	2470	CCATCCA	3407
hsa-miR-433	AUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGU	597	CCATCATGA	1534	CATCATGA	2471	ATCATGA	3408
hsa-miR-448	UUGCAUAUGUAGGAUGUCCAU	598	ACATATGCA	1535	CATATGCA	2472	ATATGCA	3409

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-449a	UGGCAGUGUAUUGUUAGCUGGU	599	TACACTGCC	1536	ACACTGCC	2473	CACTGCC	3410
hsa-miR-449b	AGGCAGUGUAUUGUUAGCUGGC	600	TACACTGCC	1537	ACACTGCC	2474	CACTGCC	3411
hsa-miR-450a	UUUUGCGAUGUGUUCUAAUUAU	601	CATCGCAA	1538	ATCGCAA	2475	TCGCAA	3412
hsa-miR-450b-3p	UUGGGAUCAUUUGCAUCCAUA	602	ATGATCCA	1539	TGATCCA	2476	GATCCA	3413
hsa-miR-450b-5p	UUUUGCAAUAUGUUCUGAAUA	603	TATTGCAA	1540	ATTGCAA	2477	TTGCAA	3414
hsa-miR-451	AAACCGUUACCAUUCUGAGUU	604	GTAACGGT	1541	TAACGGT	2478	AACGGT	3415
hsa-miR-452	AACUGUUUGCAGAGGAAACUGA	605	GCAAACAG	1542	CAAACAG	2479	AAACAG	3416
hsa-miR-452*	CUCAUCUGCAAAGAAGUAAGUG	606	TGCAGATG	1543	GCAGATG	2480	CAGATG	3417
hsa-miR-453	AGGUUGUCCGUGGUGAGUUCGCA	607	CGGACAAC	1544	GGACAAC	2481	GACAAC	3418
hsa-miR-454	UAGUGCAAUAUUGCUUAUAGGGU	608	TATTGCACT	1545	ATTGCACT	2482	TTGCACT	3419
hsa-miR-454*	ACCCUAUCAAAUUGUCUCUGC	609	TTGATAGG	1546	TGATAGG	2483	GATAGG	3420
hsa-miR-455-3p	GCAGUCCAUGGGCAUUAACAC	610	CATGGACT	1547	ATGGACT	2484	TGGACT	3421
hsa-miR-455-5p	UAUGUGCCUUUGGACUACAUCG	611	AAGGCACAT	1548	AGGCACAT	2485	GGCACAT	3422
hsa-miR-483-3p	UCACUCCUCUCCUCCCGUCUU	612	AGAGGAGT	1549	GAGGAGT	2486	AGGAGT	3423
hsa-miR-483-5p	AAGACGGGAGGAAAGAAGGGAG	613	CTCCCGTCT	1550	TCCCGTCT	2487	CCCGTCT	3424
hsa-miR-484	UCAGGCUCAGUCCCCUCCGAU	614	CTGAGCCT	1551	TGAGCCT	2488	GAGCCT	3425
hsa-miR-485-3p	GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU	615	CGTGTATG	1552	GTGTATG	2489	TGTATG	3426
hsa-miR-485-5p	AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC	616	GCCAGCCT	1553	CCAGCCT	2490	CAGCCT	3427
hsa-miR-486-3p	CGGGGCAGCUCAGUACAGGAU	617	AGCTGCC	1554	GCTGCC	2491	CTGCC	3428
hsa-miR-486-5p	UCCUGUACUGAGCUGCCCCGAG	618	CAGTACAG	1555	AGTACAG	2492	GTACAG	3429
hsa-miR-487a	AAUCAUACAGGGACAUCAGUU	619	CTGTATGAT	1556	TGTATGAT	2493	GTATGAT	3430
hsa-miR-487b	AAUCGUACAGGGUCAUCCACUU	620	CTGTACGAT	1557	TGTACGAT	2494	GTACGAT	3431
hsa-miR-488	UUGAAAGGCUAUUUCUUGGUC	621	AGCCTTCA	1558	GCCTTCA	2495	CCTTCA	3432
hsa-miR-488*	CCCAGAUAAUGGCACUCUCAA	622	ATTATCTGG	1559	TTATCTGG	2496	TATCTGG	3433
hsa-miR-489	GUGACAUCACAUUACGGCAGC	623	GTGATGTCA	1560	TGATGTCA	2497	GATGTCA	3434
hsa-miR-490-3p	CAACCGGAGGACUCCAUGCUG	624	CTCCAGGT	1561	TCCAGGT	2498	CCAGGT	3435
hsa-miR-490-5p	CCAUGGAUCUCCAGGUGGGU	625	AGATCCAT	1562	GATCCAT	2499	ATCCAT	3436

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-491-3p	CUUAUGCAAGAUUCCCUUCUAC	626	CTTGCATAA	1563	TTGCATAA	2500	TGCATAA	3437
hsa-miR-491-5p	AGUGGGGAACCCUCCAUGAGG	627	GTTCCCCAC	1564	TTCCCCAC	2501	TCCCCAC	3438
hsa-miR-492	AGGACCUGCGGGACAAGAUUCUU	628	CGCAGGTCC	1565	GCAGGTCC	2502	CAGGTCC	3439
hsa-miR-493	UGAAGGUCUACUGUGUGCCAGG	629	TAGACCTTC	1566	AGACCTTC	2503	GACCTTC	3440
hsa-miR-493*	UUGUACAUGGUAGGCUUUCAUU	630	CCATGTACA	1567	CATGTACA	2504	ATGTACA	3441
hsa-miR-494	UGAAACAUACACGGGAAACCUC	631	GTATGTTTC	1568	TATGTTTC	2505	ATGTTTC	3442
hsa-miR-495	AAACAAACAUGGUGCACUUCUU	632	ATGTTTGTT	1569	TGTTTGTT	2506	GTTTGTT	3443
hsa-miR-496	UGAGUAUUACAUGGCCAAUCUC	633	GTAATACTC	1570	TAATACTC	2507	AATACTC	3444
hsa-miR-497	CAGCAGCACACUGUGGUUUGU	634	TGTGCTGCT	1571	GTGCTGCT	2508	TGCTGCT	3445
hsa-miR-497*	CAAACCACACUGUGGUGUUAGA	635	GTGTGGTTT	1572	TGTGGTTT	2509	GTGGTTT	3446
hsa-miR-498	UUUCAAGCCAGGGGGCGUUUUUC	636	TGGCTTGAA	1573	GGCTTGAA	2510	GCTTGAA	3447
hsa-miR-499-3p	AACAUCACAGCAAGUCUGUGCU	637	CTGTGATGT	1574	TGTGATGT	2511	GTGATGT	3448
hsa-miR-499-5p	UUAAGACUUGCAGUGAUGUUU	638	CAAGTCTTA	1575	AAGTCTTA	2512	AGTCTTA	3449
hsa-miR-500	UAAUCCUUGCUACCUGGGUGAGA	639	GCAAGGATT	1576	CAAGGATT	2513	AAGGATT	3450
hsa-miR-500*	AUGCACCUGGGCAAGGAUUCUG	640	CCAGGTGCA	1577	CAGGTGCA	2514	AGGTGCA	3451
hsa-miR-501-3p	AAUGCACCCGGGCAAGGAUUCU	641	CGGGTGCAT	1578	GGGTGCAT	2515	GGTGCAT	3452
hsa-miR-501-5p	AAUCCUUUGUCCUGGGUGAGA	642	ACAAAGGAT	1579	CAAAGGAT	2516	AAAGGAT	3453
hsa-miR-502-3p	AAUGCACCUGGGCAAGGAUUCA	643	CAGGTGCAT	1580	AGGTGCAT	2517	GGTGCAT	3454
hsa-miR-502-5p	AUCCUUGCUAUCUGGGUGCUA	644	TAGCAAGGA	1581	AGCAAGGA	2518	GCAAGGA	3455
hsa-miR-503	UAGCAGCGGGAACAGUUCUGCAG	645	CCCCTGCT	1582	CCGCTGCT	2519	CGCTGCT	3456
hsa-miR-504	AGACCCUGGUCUGCACUCUAUC	646	ACCAGGGTC	1583	CCAGGGTC	2520	CAGGGTC	3457
hsa-miR-505	CGUCAACACUJUGCUGGUUCCU	647	AGTGTGAC	1584	GTGTGAC	2521	TGTGAC	3458
hsa-miR-505*	GGGAGCCAGGAAGUAUUGAUGU	648	CCTGGCTCC	1585	CTGGCTCC	2522	TGGCTCC	3459
hsa-miR-506	UAAGGCACCCUUCUGAGUAGA	649	GGGTGCCTT	1586	GGTGCCTT	2523	GTGCCTT	3460
hsa-miR-507	UUUUGCACCUUUUGGAGUGAA	650	AGGTGCAAA	1587	GGTGCAAA	2524	GTGCAAA	3461
hsa-miR-508-3p	UGAUUGUAGCCUUUUGGAGUAGA	651	GCTACAATC	1588	CTACAATC	2525	TACAATC	3462
hsa-miR-508-5p	UACUCCAGAGGGCGUCACUCAUG	652	CTCTGGAGT	1589	TCTGGAGT	2526	CTGGAGT	3463

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-509-3-5p	UACUGCAGACGUGGCAAUCAUG	653	GTCTGCAGT	1590	TCTGCAGT	2527	CTGCAGT	3464
hsa-miR-509-3p	UGAUUGGUACGUCUGUGGGUAG	654	GTACCAATC	1591	TACCAATC	2528	ACCAATC	3465
hsa-miR-509-5p	UACUGCAGACAGUGGCAAUCA	655	GTCTGCAGT	1592	TCTGCAGT	2529	CTGCAGT	3466
hsa-miR-510	UACUCAGGAGAGUGGCAAUCAC	656	CTCCTGAGT	1593	TCCTGAGT	2530	CCTGAGT	3467
hsa-miR-511	GUGUCUUUUGCUCUGCAGUCA	657	CAAAGACA	1594	AAAAGACA	2531	AAAGACA	3468
hsa-miR-512-3p	AAGUGCUGUCAUAGCUGAGGUC	658	GACAGCACT	1595	ACAGCACT	2532	CAGCACT	3469
hsa-miR-512-5p	CACUCAGCCUUGAGGGCACUUUC	659	AGGCTGAGT	1596	GGCTGAGT	2533	GCTGAGT	3470
hsa-miR-513a-3p	UAAUUUCACCUUUCUGAGAAGG	660	GTGAAATTT	1597	TGAAATTT	2534	GAAATTT	3471
hsa-miR-513a-5p	UUCACAGGGAGGUGUCAU	661	TCCCTGTGA	1598	CCCTGTGA	2535	CCTGTGA	3472
hsa-miR-513b	UUCACAAGGAGGUGUCAUUUUAU	662	TCCTTGTGA	1599	CCTTGTGA	2536	CTTGTGA	3473
hsa-miR-513c	UUCUCAAGGAGGUGUCGUUUUAU	663	TCCTTGAGA	1600	CCTTGAGA	2537	CTTGAGA	3474
hsa-miR-514	AUUGACACUUCUGUGAGUAGA	664	AAGTGCAA	1601	AGTGCAA	2538	GTGCAA	3475
hsa-miR-515-3p	GAGUGCCUUCUUUUGGAGCGUU	665	GAAGGCACT	1602	AAGGCACT	2539	AGGCACT	3476
hsa-miR-515-5p	UUCUCCAAAAGAAAGCACUUUCUG	666	TTTTGGAGA	1603	TTTGGAGA	2540	TTGGAGA	3477
hsa-miR-516a-3p	UGC UUCCUUUCAGAGGGU	667	AAAGGAAGC	1604	AAGGAAGC	2541	AGGAAGC	3478
hsa-miR-516a-5p	UUCUCGAGGAAAGAAGCACUUUC	668	TCCTCGAGA	1605	CCTCGAGA	2542	CTCGAGA	3479
hsa-miR-516b	AUCUGGAGGUAAGAAGCACUUU	669	ACCTCCAGA	1606	CCTCCAGA	2543	CTCCAGA	3480
hsa-miR-517*	CCUCUAGAUGGAAGCACUGUCU	670	CATCTAGAG	1607	ATCTAGAG	2544	TCTAGAG	3481
hsa-miR-517a	AUCGUGCAUCCUUUAGAGUGU	671	GATGCACGA	1608	ATGCACGA	2545	TGCACGA	3482
hsa-miR-517b	UCGUGCAUCCUUUAGAGUGUU	672	GGATGCACG	1609	GATGCACG	2546	ATGCACG	3483
hsa-miR-517c	AUCGUGCAUCCUUUAGAGUGU	673	GATGCACGA	1610	ATGCACGA	2547	TGCACGA	3484
hsa-miR-518a-3p	GAAAGCGCUUCCUUUGCUGGA	674	AAGCGCTTT	1611	AGCGCTTT	2548	GCGCTTT	3485
hsa-miR-518b	CAAAGCGCUCCCCUUAGAGGU	675	GAGCGCTTT	1612	AGCGCTTT	2549	GCGCTTT	3486
hsa-miR-518c	CAAAGCGCUUCUCUUUAGAGUGU	676	AAGCGCTTT	1613	AGCGCTTT	2550	GCGCTTT	3487
hsa-miR-518c*	UCUCUGGAGGGAAGCACUUUCUG	677	CCTCCAGAG	1614	CTCCAGAG	2551	TCCAGAG	3488
hsa-miR-518d-3p	CAAAGCGCUUCCUUUGGAGC	678	AAGCGCTTT	1615	AGCGCTTT	2552	GCGCTTT	3489
hsa-miR-518d-5p	CUCUAGAGGGAAGCACUUUCUG	679	CCCTCTAGA	1616	CCTCTAGA	2553	CTCTAGA	3490

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-518e	AAAGCGCUUCCCUUCAGAGUG	680	GAAGCGCTT	1617	AAGCGCTT	2554	AGCGCTT	3491
hsa-miR-518f	GAAAGCGCUUCUCUUUAGAGG	681	AAGCGCTTT	1618	AGCGCTTT	2555	GCGCTTT	3492
hsa-miR-518f*	CUCUAGAGGGAAGCACUUUCUC	682	CCCTCTAGA	1619	CCTCTAGA	2556	CTCTAGA	3493
hsa-miR-519a	AAAGUGCAUCCUUUUAGAGUGU	683	GATGCACTT	1620	ATGCACTT	2557	TGCACTT	3494
hsa-miR-519a*	CUCUAGAGGGAAGCGCUUUCUG	684	CCCTCTAGA	1621	CCTCTAGA	2558	CTCTAGA	3495
hsa-miR-519b-3p	AAAGUGCAUCCUUUUAGAGGUU	685	GATGCACTT	1622	ATGCACTT	2559	TGCACTT	3496
hsa-miR-519c-3p	AAAGUGCAUCUUUUUAGAGGAU	686	GATGCACTT	1623	ATGCACTT	2560	TGCACTT	3497
hsa-miR-519d	CAAAGUGCCUCCCUUUAGAGUG	687	AGGCACTTT	1624	GGCAC TTT	2561	GCACTTT	3498
hsa-miR-519e	AAGUGCCUCCUUUUAGAGUGUU	688	GGAGGCACT	1625	GAGGCACT	2562	AGGCACT	3499
hsa-miR-519e*	UUCUCCAAAAGGGAGCACUUUC	689	TTTTGGAGA	1626	TTTGGAGA	2563	TTGGAGA	3500
hsa-miR-520a-3p	AAAGUGCUUCCCUUUGGACUGU	690	GAAGCACTT	1627	AAGCACTT	2564	AGCACTT	3501
hsa-miR-520a-5p	CUCCAGAGGGAAGUACUUUCU	691	CCCTCTGGA	1628	CCTCTGGA	2565	CTCTGGA	3502
hsa-miR-520b	AAAGUGCUUCCUUUUAGAGGG	692	GAAGCACTT	1629	AAGCACTT	2566	AGCACTT	3503
hsa-miR-520c-3p	AAAGUGCUUCCUUUUAGAGGGU	693	GAAGCACTT	1630	AAGCACTT	2567	AGCACTT	3504
hsa-miR-520d-3p	AAAGUGCUUCUCUUUGGUGGGU	694	GAAGCACTT	1631	AAGCACTT	2568	AGCACTT	3505
hsa-miR-520d-5p	CUACAAAGGGAAGCCCUUUC	695	CCCTTTGTA	1632	CCTTTGTA	2569	CTTTGTA	3506
hsa-miR-520e	AAAGUGCUUCCUUUUUGAGGG	696	GAAGCACTT	1633	AAGCACTT	2570	AGCACTT	3507
hsa-miR-520f	AAGUGCUUCCUUUUAGAGGGUU	697	GGAAGCACT	1634	GAAGCACT	2571	AAGCACT	3508
hsa-miR-520g	ACAAAGUGCUUCCCUUUAGAGUGU	698	AGCACTTTG	1635	GCACTTTG	2572	CACTTTG	3509
hsa-miR-520h	ACAAAGUGCUUCCCUUUAGAGU	699	AGCACTTTG	1636	GCACTTTG	2573	CACTTTG	3510
hsa-miR-521	AACGCACUUCCCUUUAGAGUGU	700	GAAGTGCGT	1637	AAGTGCGT	2574	AGTGCGT	3511
hsa-miR-522	AAAAUGGUUCCCUUUAGAGUGU	701	GAACCATTT	1638	AACCATTT	2575	ACCATTT	3512
hsa-miR-523	GAACGCGCUUCCCUUAGAGGGU	702	AAGCGCGTT	1639	AGCGCGTT	2576	GCGCGTT	3513
hsa-miR-524-3p	GAAGGCGCUUCCCUUUGGAGU	703	AAGCGCCTT	1640	AGCGCCTT	2577	GCGCCTT	3514
hsa-miR-524-5p	CUACAAAGGGAAGCACUUUCUC	704	CCCTTTGTA	1641	CCTTTGTA	2578	CTTTGTA	3515
hsa-miR-525-3p	GAAGGCGCUUCCCUUUAGAGCG	705	AAGCGCCTT	1642	AGCGCCTT	2579	GCGCCTT	3516
hsa-miR-525-5p	CUCCAGAGGGAUGCACUUUCU	706	CCCTCTGGA	1643	CCTCTGGA	2580	CTCTGGA	3517

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-526b	CUCUUGAGGGAAGCACUUUCUGU	707	CCCTCAAGA	1644	CCTCAAGA	2581	CTCAAGA	3518
hsa-miR-526b*	GAAAGUGCUUCCUUUUAGAGGC	708	AAGCACTTT	1645	AGCACTTT	2582	GCACTTT	3519
hsa-miR-527	CUGCAAAGGGAAGCCCUUUC	709	CCCTTTGCA	1646	CCTTTGCA	2583	CTTTGCA	3520
hsa-miR-532-3p	CCUCCCACACCCAAGGCUUGCA	710	GTGTGGGAG	1647	TGTGGGAG	2584	GTGGGAG	3521
hsa-miR-532-5p	CAUGCCUUGAGUGUAGGACCGU	711	TCAAGGCAT	1648	CAAGGCAT	2585	AAGGCAT	3522
hsa-miR-539	GGAGAAAUUACCUUGGUGUGU	712	TAATTTCTC	1649	AATTTCTC	2586	ATTTCTC	3523
hsa-miR-541	UGGUGGGCACAGAAUCUGGACU	713	GTGCCACC	1650	TGCCACC	2587	GCCACC	3524
hsa-miR-541*	AAAGGAUUCUGCUGUCGGUCCACU	714	AGAATCCTT	1651	GAATCCTT	2588	AATCCTT	3525
hsa-miR-542-3p	UGUGACAGAUUGAUACUGAAA	715	ATCTGTCAC	1652	TCTGTCAC	2589	CTGTCAC	3526
hsa-miR-542-5p	UCGGGAUCAUCAUGUCACGAGA	716	TGATCCCCG	1653	GATCCCCG	2590	ATCCCCG	3527
hsa-miR-543	AAACAUUCGCGGUGCACUUCUU	717	GCGAATGTT	1654	CGAATGTT	2591	GAATGTT	3528
hsa-miR-544	AUUCUGCAUUUUUAGCAAGUUC	718	AATGCAGAA	1655	ATGCAGAA	2592	TGCAGAA	3529
hsa-miR-545	UCAGCAAACAUUUUUGUGUGC	719	TGTTTGCTG	1656	GTTTGCTG	2593	TTTGCTG	3530
hsa-miR-545*	UCAGUAAAUGUUUUAUAGAUGA	720	CATTTACTG	1657	ATTTACTG	2594	TTTACTG	3531
hsa-miR-548a-3p	CAAAACUGGCAAUUACUUUUGC	721	GCCAGTTTT	1658	CCAGTTTT	2595	CAGTTTT	3532
hsa-miR-548a-5p	AAAAGUAAUUGCGAGUUUACC	722	AATTACTTT	1659	ATTACTTT	2596	TTACTTT	3533
hsa-miR-548b-3p	CAAGAACCUCAGUUGCUUUUGU	723	GAGGTTCTT	1660	AGGTTCTT	2597	GGTTCTT	3534
hsa-miR-548b-5p	AAAAGUAAUUGUGUUUUGGCC	724	AATTACTTT	1661	ATTACTTT	2598	TTACTTT	3535
hsa-miR-548c-3p	CAAAAUCUCAAUUACUUUUGC	725	GAGATTTTT	1662	AGATTTTT	2599	GATTTTT	3536
hsa-miR-548c-5p	AAAAGUAAUUGCGUUUUGGCC	726	AATTACTTT	1663	ATTACTTT	2600	TTACTTT	3537
hsa-miR-548d-3p	CAAAAACCACAGUUUCUUUUGC	727	GTGGTTTTT	1664	TGGTTTTT	2601	GGTTTTT	3538
hsa-miR-548d-5p	AAAAGUAAUUGUGUUUUGGCC	728	AATTACTTT	1665	ATTACTTT	2602	TTACTTT	3539
hsa-miR-548e	AAAAACUGAGACUACUUUUGCA	729	CTCAGTTTT	1666	TCAGTTTT	2603	CAGTTTT	3540
hsa-miR-548f	AAAAACUGUAAUACUUUU	730	TACAGTTTT	1667	ACAGTTTT	2604	CAGTTTT	3541
hsa-miR-548g	AAAACUGUAAUACUUUUGUAC	731	TTACAGTTT	1668	TACAGTTT	2605	ACAGTTT	3542
hsa-miR-548h	AAAAGUAAUCGCGUUUUGUC	732	GATTACTTT	1669	ATTACTTT	2606	TTACTTT	3543
hsa-miR-548i	AAAAGUAAUUGCGAUUUUGCC	733	AATTACTTT	1670	ATTACTTT	2607	TTACTTT	3544

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-548j	AAAAGUAAUUGCGGUCUUUGGU	734	AATTACTTT	1671	ATTACTTT	2608	TTACTTT	3545
hsa-miR-548k	AAAAGUACUUGCGGAUUUUUGCU	735	AAGTACTTT	1672	AGTACTTT	2609	GTACTTT	3546
hsa-miR-548l	AAAAGUAAUUGCGGGUUUUUGUC	736	AAATACTTT	1673	AATACTTT	2610	ATACTTT	3547
hsa-miR-548m	CAAAGGUAAUUGUGGUUUUUUG	737	AATACCTTT	1674	ATACCTTT	2611	TACCTTT	3548
hsa-miR-548n	CAAAAGUAAUUGUGGAUUUUUGU	738	ATTACTTTT	1675	TTACTTTT	2612	TACTTTT	3549
hsa-miR-548o	CCAAAACUGCAGUUACUUUUUGC	739	GCAGTTTTG	1676	CAGTTTTG	2613	AGTTTTG	3550
hsa-miR-548p	UAGCAAAAACUGCAGUUACUUU	740	GTTTTTGCT	1677	TTTTTGCT	2614	TTTTGCT	3551
hsa-miR-549	UGACAACUAUGGAUGAGCUCU	741	ATAGTTGTC	1678	TAGTTGTC	2615	AGTTGTC	3552
hsa-miR-550	AGUGCCUGAGGGAGUAAGAGCCC	742	CTCAGGCAC	1679	TCAGGCAC	2616	CAGGCAC	3553
hsa-miR-550*	UGUCUUACUCCUCAGGCACAU	743	GAGTAAGAC	1680	AGTAAGAC	2617	GTAAGAC	3554
hsa-miR-551a	GCGACCCACUCUUGGUUUCCA	744	AGTGGGTCG	1681	GTGGGTCG	2618	TGGGTCG	3555
hsa-miR-551b	GCGACCCAUAUCUUGGUUUCAG	745	TATGGGTCG	1682	ATGGGTCG	2619	TGGGTCG	3556
hsa-miR-551b*	GAAAUCAAGCGUGGGUGAGACC	746	GCTTGATTT	1683	CTTGATTT	2620	TTGATTT	3557
hsa-miR-552	AACAGGUGACUGGUUAGACAA	747	GTCACCTGT	1684	TCACCTGT	2621	CACCTGT	3558
hsa-miR-553	AAAACGGUGAGAUUUUGUUUU	748	TCACCGTTT	1685	CACCGTTT	2622	ACCGTTT	3559
hsa-miR-554	GCUAGUCCUGACUCAGCCAGU	749	CAGGACTAG	1686	AGGACTAG	2623	GGACTAG	3560
hsa-miR-555	AGGGUAAGCUGAACCCUCUGAU	750	AGCTTACCC	1687	GCTTACCC	2624	CTTACCC	3561
hsa-miR-556-3p	AUAUUACCAUUAGCUCAUCUUU	751	ATGGTAATA	1688	TGGTAATA	2625	GGTAATA	3562
hsa-miR-556-5p	GAUGAGCUCAUUGUAAUAUGAG	752	TGAGCTCAT	1689	GAGCTCAT	2626	AGCTCAT	3563
hsa-miR-557	GUUUGCACGGGUGGGCCUUGUCU	753	CCGTGCAAA	1690	CGTGCAAA	2627	GTGCAAA	3564
hsa-miR-558	UGAGCUGCUGUACCAAAAU	754	CAGCAGCTC	1691	AGCAGCTC	2628	GCAGCTC	3565
hsa-miR-559	UAAAGUAAUAUGCACCAAAA	755	ATTTACTTT	1692	TTTACTTT	2629	TTACTTT	3566
hsa-miR-561	CAAAGUUUAAGAUCUUGAAGU	756	TAAACTTT	1693	TAAACTTT	2630	AAACTTT	3567
hsa-miR-562	AAAGUAGCUGUACCAUUUGC	757	CAGCTACTT	1694	AGCTACTT	2631	GCTACTT	3568
hsa-miR-563	AGGUUGACAUCGUUUUCCC	758	ATGTCAACC	1695	TGTCAACC	2632	GTCAACC	3569
hsa-miR-564	AGGCACGGUGUCAGCAGGC	759	CACCGTGCC	1696	ACCGTGCC	2633	CCGTGCC	3570
hsa-miR-566	GGGCGCCUGUGAUCCCAAC	760	ACAGGCGCC	1697	CAGGCGCC	2634	AGGCGCC	3571

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-567	AGUAUGUUCUCCAGGACAGAAC	761	AGAACATAC	1698	GAACATAC	2635	AACATAC	3572
hsa-miR-568	AUGUAUAAAUGUAUACACAC	762	ATTTATACA	1699	TTTATACA	2636	TTATACA	3573
hsa-miR-569	AGUUAUGAAUCCUGGAAAGU	763	TTCATTAAC	1700	TCATTAAC	2637	CATTAAC	3574
hsa-miR-570	CGAAAACAGCAAUUACCUUUGC	769	GCTGTTTTTC	1701	CTGTTTTTC	2638	TGTTTTTC	3575
hsa-miR-571	UGAGUUGGCCAUCUGAGUGAG	765	GGCCAACCTC	1702	GCCAACCTC	2639	CCAACCTC	3576
hsa-miR-572	GUCCGCUCGGCGGUGGCCCA	766	CCGAGCGGA	1703	CGAGCGGA	2640	GAGCGGA	3577
hsa-miR-573	CUGAAGUGAUGUGUAACUGAUCAG	767	ATCACTTCA	1704	TCACTTCA	2641	CACTTCA	3578
hsa-miR-574-3p	CACGCUCAUGCACACACCCACA	768	CATGAGCGT	1705	ATGAGCGT	2642	TGAGCGT	3579
hsa-miR-574-5p	UGAGUGUGUGUGUGUGAGUGUGU	769	CACACACTC	1706	ACACACTC	2643	CACACTC	3580
hsa-miR-575	GAGCCAGUUGGACAGGAGC	770	CAACTGGCT	1707	AACTGGCT	2644	ACTGGCT	3581
hsa-miR-576-3p	AAGAUGUGGAAAAAUUGGAAUC	771	TCCACATCT	1708	CCACATCT	2645	CACATCT	3582
hsa-miR-576-5p	AUUCUAAUUUCUCCACGUCUUU	772	AAATTAGAA	1709	AATTAGAA	2646	ATTAGAA	3583
hsa-miR-577	UAGAUAAAAUUAUUGGUACCUG	773	ATTTTATCT	1710	TTTTATCT	2647	TTTATCT	3584
hsa-miR-578	CUUCUUGUGCUCUAGGAUUGU	774	GCACAAGAA	1711	CACAAGAA	2648	ACAAGAA	3585
hsa-miR-579	UUCAUUUGGUUAAAACCGCAUU	775	ACCAAATGA	1712	CCAAATGA	2649	CAAATGA	3586
hsa-miR-580	UUGAGAAUGAUGAAUCAUUAGG	776	TCATTCTCA	1713	CATTCTCA	2650	ATTCTCA	3587
hsa-miR-581	UCUUGUGUUCUCUAGAUCAGU	777	GAACACAAG	1714	AACACAAG	2651	ACACAAG	3588
hsa-miR-582-3p	UAACUGGUUGAACAACUGAACC	778	CAACCAGTT	1715	AACCAGTT	2652	ACCAGTT	3589
hsa-miR-582-5p	UUACAGUUGUUAACCCAGUUACU	779	ACAACCTGTA	1716	CAACTGTA	2653	AACTGTA	3590
hsa-miR-583	CAAAGAGGAAGGUCCAUUAC	780	TTCCTCTTT	1717	TCCTCTTT	2654	CCTCTTT	3591
hsa-miR-584	UUAUGGUUUUGCCUGGGACUGAG	781	CAAACCATA	1718	AAACCATA	2655	AACCATA	3592
hsa-miR-585	UGGGCGUAUCUGUAUGCUA	782	GATACGCC	1719	ATACGCC	2656	TACGCC	3593
hsa-miR-586	UAUGCAUUGUAUUUUUAGGUCC	783	ACAATGCAT	1720	CAATGCAT	2657	AATGCAT	3594
hsa-miR-587	UUUCCAUAGGUGAUGAGUCAC	784	CCTATGGAA	1721	CTATGGAA	2658	TATGGAA	3595
hsa-miR-588	UUGGCCACAAUGGGUUAGAAC	785	TTGTGGCCA	1722	TGTGGCCA	2659	GTGGCCA	3596
hsa-miR-589	UGAGAACCACGUCUGCUCUGAG	786	GTGGTTCTC	1723	TGGTTCTC	2660	GGTTCTC	3597
hsa-miR-589*	UCAGAACAAAUGCCGGUCCAGAG	787	TTTGTCTG	1724	TTGTCTG	2661	TGTCTG	3598

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-590-3p	UAAUUUUUAUGUAUAAGCUAGU	788	CATAAAATT	1725	ATAAAATT	2662	TAAAATT	3599
hsa-miR-590-5p	GAGCUUAUUCAUAAAAGUGCAG	789	GAATAAGCT	1726	AATAAGCT	2663	ATAAGCT	3600
hsa-miR-591	AGACCAUGGGUUCUCAUUGU	790	CCCATGGTC	1727	CCATGGTC	2664	CATGGTC	3601
hsa-miR-592	UUGUGUCAAUUUGCGAUGAUGU	791	ATTGACACA	1728	TTGACACA	2665	TGACACA	3602
hsa-miR-593	UGUCUCUGCUGGGGUUUCU	792	AGCAGAGAC	1729	GCAGAGAC	2666	CAGAGAC	3603
hsa-miR-593*	AGGCACCAGCCAGGCAUUGCUCAGC	793	GCTGGTGCC	1730	CTGGTGCC	2667	TGGTGCC	3604
hsa-miR-595	GAAGUGUGCCGUGGUGUGUCU	794	GGCACACTT	1731	GCACACTT	2668	CACACTT	3605
hsa-miR-596	AAGCCUGCCCGGCCUCCUGGG	795	GGGCAGGCT	1732	GGCAGGCT	2669	GCAGGCT	3606
hsa-miR-597	UGUGUCACUCGAUGACCACUGU	796	GAGTGACAC	1733	AGTGACAC	2670	GTGACAC	3607
hsa-miR-598	UACGUCAUCGUUGUCAUCGUCA	797	CGATGACGT	1734	GATGACGT	2671	ATGACGT	3608
hsa-miR-599	GUUGUGUCAGUUUAUCAAAC	798	CTGACACAA	1735	TGACACAA	2672	GACACAA	3609
hsa-miR-600	ACUJACAGACAAGAGCCUUGCUC	799	GTCTGTAAG	1736	TCTGTAAG	2673	CTGTAAG	3610
hsa-miR-601	UGGUCUAGGAUUGUUGGAGGAG	800	TCCTAGACC	1737	CCTAGACC	2674	CTAGACC	3611
hsa-miR-602	GACACGGGCGACAGCUGCGGCC	801	CGCCCGTGT	1738	GCCCGTGT	2675	CCCGTGT	3612
hsa-miR-603	CACACACUGCAAUUACUUUUGC	802	GCAGTGTGT	1739	CAGTGTGT	2676	AGTGTGT	3613
hsa-miR-604	AGGCUGCGGAAUUCAGGAC	803	TCCGCAGCC	1740	CCGCAGCC	2677	CGCAGCC	3614
hsa-miR-605	UAAAUCCCAUGGUGCCUUCUCCU	804	ATGGGATTT	1741	TGGGATTT	2678	GGGATTT	3615
hsa-miR-606	AAACUACUGAAAAUCAAGAU	805	TCAGTAGTT	1742	CAGTAGTT	2679	AGTAGTT	3616
hsa-miR-607	GUUCAAAUCCAGAUCUAUAAC	806	GGATTTGAA	1743	GATTTGAA	2680	ATTTGAA	3617
hsa-miR-608	AGGGGUGGUGUUGGGACAGCUCCGU	807	CACCACCCC	1744	ACCACCCC	2681	CCACCCC	3618
hsa-miR-609	AGGGUGUUUCUCUCAUCUCU	808	GAAACACCC	1745	AAACACCC	2682	AACACCC	3619
hsa-miR-610	UGAGCUAAAUGUGUGCUGGGA	809	ATTTAGCTC	1746	TTTAGCTC	2683	TTAGCTC	3620
hsa-miR-611	GCGAGGACCCUCGGGGUCUGAC	810	GGGTCCTCG	1747	GGTCCTCG	2684	GTCCTCG	3621
hsa-miR-612	GCUGGGCAGGGCUUCUGAGCUCCU	811	CCTGCCCAG	1748	CTGCCCAG	2685	TGCCCAG	3622
hsa-miR-613	AGGAAUGUCCUUCUUUGCC	812	GAACATTCC	1749	AACATTCC	2686	ACATTCC	3623
hsa-miR-614	GAACGCCUGUUCUUGCCAGGUGG	813	ACAGGCGTT	1750	CAGGCGTT	2687	AGGCGTT	3624
hsa-miR-615-3p	UCCGAGCCUGGGUCUCCUCUU	814	CAGGCTCGG	1751	AGGCTCGG	2688	GGCTCGG	3625

## ES 2 406 686 T3

hsa-miR-615-5p	GGGGGUCCCCGGUGCUCGGAUC	815	GGGGACCCC	1752	GGGACCCC	2689	GGACCCC	3626
hsa-miR-616	AGUCAUUGGAGGGUUUGAGCAG	816	TCCAATGAC	1753	CCAATGAC	2690	CAATGAC	3627
hsa-miR-616*	ACUCAAAACCCUUCAGUGACUU	817	GGTTTTGAG	1754	GTTTTGAG	2691	TTTTGAG	3628
hsa-miR-617	AGACUUCCCAUUUGAAGGUGGC	818	TGGGAAGTC	1755	GGGAAGTC	2692	GGAAGTC	3629
hsa-miR-618	AAACUCUACUUGUCCUUCUGAGU	819	AGTAGAGTT	1756	GTAGAGTT	2693	TAGAGTT	3630
hsa-miR-619	GACCUGGACAUGUUUGUCCCAGU	820	TGTCCAGGT	1757	GTCCAGGT	2694	TCCAGGT	3631
hsa-miR-620	AUGGAGAUAGAUUAGAAAU	821	CTATCTCCA	1758	TATCTCCA	2695	ATCTCCA	3632
hsa-miR-621	GGCUAGCAACAGCGCUUACCU	822	GTTGCTAGC	1759	TTGCTAGC	2696	TGCTAGC	3633
hsa-miR-622	ACAGUCUGCUGAGGUUGGAGC	823	AGCAGACTG	1760	GCAGACTG	2697	CAGACTG	3634
hsa-miR-623	AUCCCUUGCAGGGGCGUUGGGU	824	TGCAAGGGA	1761	GCAAGGGA	2698	CAAGGGA	3635
hsa-miR-624	CACAAGGUAUUGGUUUUACCU	825	ATACCTTGT	1762	TACCTTGT	2699	ACCTTGT	3636
hsa-miR-624*	UAGUACCAGUACCUUGUGUUCA	826	ACTGGTACT	1763	CTGGTACT	2700	TGGTACT	3637
hsa-miR-625	AGGGGGAAAGUUCUAUAGUCC	827	CTTTCCCCC	1764	TTTCCCCC	2701	TTCCCCC	3638
hsa-miR-625*	GACUAUAGAACUUUCCCCUCA	828	TTCTATAGT	1765	TCTATAGT	2702	CTATAGT	3639
hsa-miR-626	AGCUGUCUGAAAAUGUCUU	829	TCAGACAGC	1766	CAGACAGC	2703	AGACAGC	3640
hsa-miR-627	GUGAGUCUCUAAGAAAAGAGGA	830	AGAGACTCA	1767	GAGACTCA	2704	AGACTCA	3641
hsa-miR-628-3p	UCUAGUAAGAGUGGCAGUCGA	831	TCTTACTAG	1768	CTTACTAG	2705	TTACTAG	3642
hsa-miR-628-5p	AUGCUGACAUAUUUACUAGAGG	832	ATGTCAGCA	1769	TGTCAGCA	2706	GTCAGCA	3643
hsa-miR-629	UGGGUUUACGUUGGGAGAACU	833	CGTAAACCC	1770	GTAAACCC	2707	TAAACCC	3644
hsa-miR-629*	GUUCUCCCAACGUAAGCCCAGC	834	TTGGGAGAA	1771	TGGGAGAA	2708	GGGAGAA	3645
hsa-miR-630	AGUAUUCUGUACCAGGGAAGGU	835	ACAGAATAC	1772	CAGAATAC	2709	AGAATAC	3646
hsa-miR-631	AGACCUGGCCCAGACCUCAGC	836	GGCCAGGTC	1773	GCCAGGTC	2710	CCAGGTC	3647
hsa-miR-632	GUGUCUGCUUCCUGUGGGA	837	AAGCAGACA	1774	AGCAGACA	2711	GCAGACA	3648
hsa-miR-633	CUAAUAGUAUCUACCACAAUAAA	838	ATACTATTA	1775	TACTATTA	2712	ACTATTA	3649
hsa-miR-634	AACCAGCACCCCAACUUUGGAC	839	GGTGCTGGT	1776	GTGCTGGT	2713	TGCTGGT	3650
hsa-miR-635	ACUUGGGCACUGAAACAAUGUCC	840	GTGCCAAG	1777	TGCCAAG	2714	GCCAAG	3651
hsa-miR-636	UGUGCUUGCUCGUCCCCGCCGCA	841	AGCAAGCAC	1778	GCAAGCAC	2715	CAAGCAC	3652

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-637	ACUGGGGGCUUUCGGGCUCUGCGU	842	AGCCCCCAG	1779	GCCCCCAG	2716	CCCCCAG	3653
hsa-miR-638	AGGGAUCGCGGGCGGGUGGCGGCCU	843	CGCGATCCC	1780	GCGATCCC	2717	CGATCCC	3654
hsa-miR-639	AUCGCUGCGGUUGCGAGCGCUGU	844	CCGCAGCGA	1781	CGCAGCGA	2718	GCAGCGA	3655
hsa-miR-640	AUGAUCCAGGAACCUGCCUCU	845	CCTGGATCA	1782	CTGGATCA	2719	TGGATCA	3656
hsa-miR-641	AAAGACAUAGGAUAGAGUCACCUC	846	CTATGTCTT	1783	TATGTCTT	2720	ATGTCTT	3657
hsa-miR-642	GUCCUCUCCAAAUGUGUCUUG	847	GGAGAGGGA	1784	GAGAGGGA	2721	AGAGGGA	3658
hsa-miR-643	ACUUGUAUGCUAGCUCAGGUAG	848	GCATACAAG	1785	CATACAAG	2722	ATACAAG	3659
hsa-miR-644	AGUGUGGCUUUCUAGAGC	849	AAGCCACAC	1786	AGCCACAC	2723	GCCACAC	3660
hsa-miR-645	UCUAGGCUUGUACUGCUGA	850	CCAGCCTAG	1787	CAGCCTAG	2724	AGCCTAG	3661
hsa-miR-646	AAGCAGCUGCCUCUGAGGC	851	GCAGCTGCT	1788	CAGCTGCT	2725	AGCTGCT	3662
hsa-miR-697	GUGGCUGCACUCACUCCUUC	852	GTGCAGCCA	1789	TGCAGCCA	2726	GCAGCCA	3663
hsa-miR-648	AAGUGUGCAGGGCACUGGU	853	CTGCACACT	1790	TGCACACT	2727	GCACACT	3664
hsa-miR-649	AAACCUGUGUUGUUAAGAGUC	854	ACACAGGTT ,	1791	CACAGGTT	2728	ACAGGTT	3665
hsa-miR-650	AGGAGGCAGCGCUCUCAGGAC	855	GCTGCCTCC	1792	CTGCCTCC	2729	TGCCTCC	3666
hsa-miR-651	UUUAGGAUAAGCUUGACUUUUG	856	TTATCCTAA ,	1793	TATCCTAA	2730	ATCCTAA	3667
hsa-miR-652	AAUGGCGCCACUAGGGUUGUG	857	TGGCGCCAT ,	1794	GCGCCAT	2731	GCGCCAT	3668
hsa-miR-653	GUGUUGAAACAAUCUCUACUG	858	GTTTCAACA ,	1795	TTTCAACA	2732	TTCAACA	3669
hsa-miR-654-3p	UAUGUCUGCUGACCAUCACCUU	859	AGCAGACAT	1796	GCAGACAT	2733	CAGACAT	3670
hsa-miR-654-5p	UGGUGGGCCGAGAACAUUGUGC	860	CGGCCACC	1797	GGGCCACC	2734	GCCCACC	3671
hsa-miR-655	AUAAUACAUGGUUAACCUCUUU	861	CATGTATTA	1798	ATGTATTA	2735	TGTATTA	3672
hsa-miR-656	AAUUAUACAGUCAACCUCU	862	GTATAATAT	1799	TATAATAT	2736	ATAATAT	3673
hsa-miR-657	GGCAGGUUCUCACCCUCUCUAGG	863	AGAACCTGC	1800	GAACCTGC	2737	AACCTGC	3674
hsa-miR-658	GGCGGAGGGAAGUAGGUCCGUUGGU	864	TCCCTCCGC	1801	CCCTCCGC	2738	CCTCCGC	3675
hsa-miR-659	CUUGGUUCAGGGAGGGUCCCA	865	CTGAACCAA	1802	TGAACCAA	2739	GAACCAA	3676
hsa-miR-660	UACCAUUGCAUAUCGGAGUUG	866	GCAATGGGT	1803	CAATGGGT	2740	AATGGGT	3677
hsa-miR-661	UGCCUGGGUCUCUGGCCUGCGCGU	867	GACCCAGGC	1804	ACCCAGGC	2741	CCCAGGC	3678
hsa-miR-662	UCCCACGUUGUGGCCAGCAG	868	CAACGTGGG	1805	AACGTGGG	2742	ACGTGGG	3679

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-663	AGGCGGGGCGCCGCGGGACCGC	869	CGCCCCGCC	1806	GCCCCGCC	2743	CCCCGCC	3680
hsa-miR-663b	GGUGGCCCCGCGCGUGCCUGAGG	870	CCGGGCCAC	1807	CGGGCCAC	2744	GGGCCAC	3681
hsa-miR-664	UAUUCAUUUAUCCCCAGCCUACA	871	TAAATGAAT	1808	AAATGAAT	2745	AATGAAT	3682
hsa-miR-664*	ACUGGCUAGGGAAAAUGAUUGGAU	872	CCTAGCCAG	1809	CTAGCCAG	2746	TAGCCAG	3683
hsa-miR-665	ACCAGGAGGCUGAGGCCCCU	873	GCCTCCTGG	1810	CCTCCTGG	2747	CTCCTGG	3684
hsa-miR-668	UGUCACUCGGCUCGGCCACUAC	874	CCGAGTGAC	1811	CGAGTGAC	2748	GAGTGAC	3685
hsa-miR-671-3p	UCCGGUUCUCAGGGCUCCACC	875	GAGAACCGG	1812	AGAACCGG	2749	GAACCGG	3686
hsa-miR-671-5p	AGGAAGCCUGGAGGGGCUUGAG	876	AGGGCTTCC	1813	GGGCTTCC	2750	GGCTTCC	3687
hsa-miR-675	UGGUGCGGAGAGGGCCACAGUG	877	CTCCGCACC	1814	TCCGCACC	2751	CCGCACC	3688
hsa-miR-675b	CUGUAUGCCUCACCGCUCA	878	GGGCATACA	1815	GGCATACA	2752	GCATACA	3689
hsa-miR-7	UGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGU	879	TAGTCTTCC	1816	AGTCTTCC	2753	GTCTTCC	3690
hsa-miR-7-1*	CAACAAAUCACAGUCUGCCAU	880	TGATTTGTT	1817	GATTTGTT	2754	ATTTGTT	3691
hsa-miR-7-2*	CAACAAAUCCAGUCUACCUAA	881	GGATTTGTT	1818	GATTTGTT	2755	ATTTGTT	3692
hsa-miR-708	AAGGAGCUUACAAUCUAGCUGGG	882	TAAGTCCT	1819	AAGTCCT	2756	AGTCCT	3693
hsa-miR-708*	CAACUAGACUGUGAGCUUCUAG	883	AGTCTAGTT	1820	GTCTAGTT	2757	TCTAGTT	3694
hsa-miR-720	UCUCGCUGGGGCCUCCA	884	CCCAGCGAG	1821	CCAGCGAG	2758	CAGCGAG	3695
hsa-miR-744	UGCAGGGCUAGGGCUAACAGCA	885	TAGCCCCGC	1822	AGCCCCGC	2759	GCCCCGC	3696
hsa-miR-744*	CUGUUGCCACUAACCUAACCU	886	GTGGCAACA	1823	TGGCAACA	2760	GGCAACA	3697
hsa-miR-758	UUUGUGACCUUGGUCCACUAACC	887	AGGTCACAA	1824	GGTCACAA	2761	GTCACAA	3698
hsa-miR-760	CGGCUCUGGGUCUGUGGGGA	888	CCCAGAGCC	1825	CCAGAGCC	2762	CAGAGCC	3699
hsa-miR-765	UGGAGGAGAAGGAAGGUGAUG	889	TTCTCCTCC	1826	TCTCCTCC	2763	CTCCTCC	3700
hsa-miR-766	ACUCCAGCCCCACAGCCUCAGC	890	GGGCTGGAG	1827	GGCTGGAG	2764	GCTGGAG	3701
hsa-miR-767-3p	UCUGCUCAUACCCCAUGGUUUCU	891	TATGAGCAG	1828	ATGAGCAG	2765	TGAGCAG	3702
hsa-miR-767-5p	UGCACCAUGGUUGUCUGAGCAUG	892	CCATGGTGC	1829	CATGGTGC	2766	ATGGTGC	3703
hsa-miR-769-3p	CUGGGAUCUCCGGGGUCUUGGUU	893	GAGATCCCA	1830	AGATCCCA	2767	GATCCCA	3704
hsa-miR-769-5p	UGAGACCUCUGGGUUCUGAGCU	894	AGAGGTCTC	1831	GAGGTCTC	2768	AGGTCTC	3705
hsa-miR-770-5p	UCCAGUACCACGUGUCAGGGCCA	895	TGGTACTGG	1832	GGTACTGG	2769	GTACTION	3706

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-802	CAGUAACAAAGAUUCAUCCUUGU	896	TTTGTTACT	1833	TTGTTACT	2770	TGTTACT	3707
hsa-miR-873	GCAGGAACUUGUGAGUCUCCU	897	AAGTTCCTG	1834	AGTTCCTG	2771	GTTTCCTG	3708
hsa-miR-874	CUGCCCUUGCCCGAGGGACCGA	898	GCCAGGGCA	1835	CCAGGGCA	2772	CAGGGCA	3709
hsa-miR-875-3p	CCUGGAAACACUGAGGUUGUG	899	TGTTTCCAG	1836	GTTTCCAG	2773	TTTCCAG	3710
hsa-miR-875-5p	UAUACCUCAGUUUUUUCAGGUG	900	CTGAGGTAT	1837	TGAGGTAT	2774	GAGGTAT	3711
hsa-miR-876-3p	UGGUGGUUUACAAGUAAUUA	901	TAAACCACC	1838	AAACCACC	2775	AACCACC	3712
hsa-miR-876-5p	UGGAUUUCUUUGUAAUCACCA	902	AAGAAATCC	1839	AGAAATCC	2776	GAAATCC	3713
hsa-miR-877	GUAGAGGAGAUUGGCGCAGGG	903	TCTCCTCTA	1840	CTCCTCTA	2777	TCCTCTA	3714
hsa-miR-877*	UCCUCUUCUCCCUCCUCCAG	904	GAGAAGAGG	1841	AGAAGAGG	2778	GAAGAGG	3715
hsa-miR-885-3p	AGGCAGCGGGGUGUAGUGGAUA	905	CCCCTGCC	1842	CCGCTGCC	2779	CGCTGCC	3716
hsa-miR-885-5p	UCCAUUACACUACCCUGCCUCU	906	GTGTAATGG	1843	TGTAATGG	2780	GTAATGG	3717
hsa-miR-886-3p	CGCGGGUGCUUACUGACCCUU	907	AGCACCCGC	1844	GCACCCGC	2781	CACCCGC	3718
hsa-miR-886-5p	CGGGUCGGAGUUAGCUCAAGCGG	908	CTCCGACCC	1845	TCCGACCC	2782	CCGACCC	3719
hsa-miR-887	GUGAACGGGCGCCAUCCCGAGG	909	GCCCGTTCA	1846	CCCGTTCA	2783	CCGTTCA	3720
hsa-miR-888	UACUCAAAAAGCUGUCAGUCA	910	TTTTTGAGT	1847	TTTTGAGT	2784	TTTGAGT	3721
hsa-miR-888*	GACUGACACCUCUUUGGGUGAA	911	GGTGTCAGT	1848	GTGTCAGT	2785	TGTCAGT	3722
hsa-miR-889	UUAAUUCGGACAACCAUUGU	912	CCGATATTA	1849	CGATATTA	2786	GATATTA	3723
hsa-miR-890	UACUUGGAAAGGCAUCAGUUG	913	TTTCCAAGT	1850	TTCCAAGT	2787	TCCAAGT	3724
hsa-miR-891a	UGCAACGAACCUGAGCCACUGA	914	GTTTCGTTGC	1851	TTCGTTGC	2788	TCGTTGC	3725
hsa-miR-891b	UGCAACUACCUGAGUCAUUGA	915	GTAAGTTGC	1852	TAAGTTGC	2789	AAGTTGC	3726
hsa-miR-892a	CACUGUGUCCUUUCUGCGUAG	916	GGACACAGT	1853	GACACAGT	2790	ACACAGT	3727
hsa-miR-892b	CACUGGCUCCUUUCUGGGUAGA	917	GGAGCCAGT	1854	GAGCCAGT	2791	AGCCAGT	3728
hsa-miR-9	UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGA	918	TAACCAAAG	1855	AACCAAAG	2792	ACCAAAG	3729
hsa-miR-9*	AUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGU	919	CTAGCTTTA	1856	TAGCTTTA	2793	AGCTTTA	3730
hsa-miR-920	GGGGAGCUGUGGAAGCAGUA	920	ACAGCTCCC	1857	CAGCTCCC	2794	AGCTCCC	3731
hsa-miR-921	CUAGUGAGGGACAGAACCAGGAUUC	921	CCCTCACTA	1858	CCTCACTA	2795	CTCACTA	3732
hsa-miR-922	GCAGCAGAGAAUAGGACUACGUC	922	TCTCTGCTG	1859	CTCTGCTG	2796	TCTGCTG	3733
hsa-miR-923	GUCAGCGGAGGAAAAGAAACU	923	CTCCGCTGA	1860	TCCGCTGA	2797	CCGCTGA	3734

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-924	AGAGUCUUGUGAUGUCUUGC	924	ACAAGACTC	1861	CAAGACTC	2798	AAGACTC	3735
hsa-miR-92a	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU	925	AAGTGCAAT	1862	AGTGCAAT	2799	GTGCAAT	3736
hsa-miR-92a-1*	AGGUUGGGAUUGGUUGCAAUGCU	926	ATCCCAACC	1863	TCCCAACC	2800	CCCAACC	3737
hsa-miR-92a-2*	GGGUGGGGAUUUGUUGCAUJAC	927	ATCCCCACC	1864	TCCCCACC	2801	CCCCACC	3738
hsa-miR-92b	UAUUGCACUCGUCCCGGCCUCC	928	GAGTGCAAT	1865	AGTGCAAT	2802	GTGCAAT	3739
hsa-miR-92b*	AGGGACGGGACGCGGUGCAGUG	929	TCCCGTCCC	1866	CCCGTCCC	2803	CCGTCCC	3740
hsa-miR-93	CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG	930	CAGCACTTT	1867	AGCACTTT	2804	GCACTTT	3741
hsa-miR-93*	ACUGCUGAGCUAGCACUUCCTG	931	GCTCAGCAG	1868	CTCAGCAG	2805	TCAGCAG	3742
hsa-miR-933	UGUGCGCAGGGAGACCUCUCCC	932	CCTGCGCAC	1869	CTGCGCAC	2806	TGCGCAC	3743
hsa-miR-934	UGUCUACUACUGGAGACACUGG	933	GTAGTAGAC	1870	TAGTAGAC	2807	AGTAGAC	3744
hsa-miR-935	CCAGUUACCGCUUCCGCUACCGC	934	CGGTAAGTG	1871	GGTAAGTG	2808	GTAAGTG	3745
hsa-miR-936	ACAGUAGAGGGAGGAAUCGCAG	935	CCTCTACTG	1872	CTCTACTG	2809	TCTACTG	3746
hsa-miR-937	AUCCGCGCUCUGACUCUCUGCC	936	GAGCGCGGA	1873	AGCGCGGA	2810	GCGCGGA	3747
hsa-miR-938	UGCCCUUAAAGGUGAACCAGU	937	TTTAAGGGC	1874	TTAAGGGC	2811	TAAGGGC	3748
hsa-miR-939	UGGGGAGCUGAGGCUCUGGGGGUG	938	CAGCTCCCC	1875	AGCTCCCC	2812	GCTCCCC	3749
hsa-miR-940	AAGGCAGGGCCCCCGCUCCCC	939	GCCCTGCCT	1876	CCCTGCCT	2813	CCTGCCT	3750
hsa-miR-941	CACCCGGCUGUGUGCACAUGUGC	940	CAGCCGGGT	1877	AGCCGGGT	2814	GCCGGGT	3751
hsa-miR-942	UCUUCUCUGUUUUGGCAUGUG	941	ACAGAGAAG	1878	CAGAGAAG	2815	AGAGAAG	3752
hsa-miR-943	CUGACUGUUGCCGUCCUCCAG	942	CAACAGTCA	1879	AACAGTCA	2816	ACAGTCA	3753
hsa-miR-944	AAAUUAUUGUACAUCGGAUGAG	943	ACAATAATT	1880	CAATAATT	2817	AATAATT	3754
hsa-miR-95	UUCAACGGGUUUUUUUGAGCA	944	ACCCGTTGA	1881	CCCGTTGA	2818	CCGTTGA	3755
hsa-miR-96	UUUGGCACUAGCACAUUUUUGCU	945	TAGTGCCAA	1882	AGTGCCAA	2819	GTGCCAA	3756
hsa-miR-96*	AAUCAUGUGCAGUGCCAAUAUG	946	GCACATGAT	1883	CACATGAT	2820	ACATGAT	3757
hsa-miR-98	UGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUU	947	TACTACCTC	1884	ACTACCTC	2821	CTACCTC	3758
hsa-miR-99a	AACCCGUAGAUCGGAUCUUGUG	948	TCTACGGGT	1885	CTACGGGT	2822	TACGGGT	3759
hsa-miR-99a*	CAAGCUCGCUUCUAUGGGUCUG	949	AGCGAGCTT	1886	GCGAGCTT	2823	CGAGCTT	3760
hsa-miR-99b	CACCCGUAGAACCGACCUUGCG	950	TCTACGGGT	1887	CTACGGGT	2824	TACGGGT	3761

ES 2 406 686 T3

hsa-miR-99b*	CAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCG	951	CACGAGCTT	1888	ACGAGCTT	2825	CGAGCTT	3762
hsv1-miR-H1	UGGAAGGACGGGAAGUGGAAG	952	CGTCCTTCC	1889	GTCCTTCC	2826	TCCTTCC	3763
hsv1-miR-H2-3p	CCUGAGCCAGGGACGAGUGCGACU	953	CTGGCTCAG	1890	TGGCTCAG	2827	GGCTCAG	3764
hsv1-miR-H2-5p	UCGCACGCGCCCGGCACAGACU	954	GCGCGTGCG	1891	CGCGTGCG	2828	GCGTGCG	3765
hsv1-miR-H3	CUGGGACUGUGCGGUUGGGA	955	ACAGTCCCA	1892	CAGTCCCA	2829	AGTCCCA	3766
hsv1-miR-H4-3p	CUUGCCUGUCUAAACUCGCUAGU	956	GACAGGCAA	1893	ACAGGCAA	2830	CAGGCAA	3767
hsv1-miR-H4-5p	GGUAGAGUUUGACAGGCAAGCA	957	AAACTCTAC	1894	AACTCTAC	2831	ACTCTAC	3768
hsv1-miR-H5	GUCAGAGAUCCAAACCCUCCGG	958	GATCTCTGA	1895	ATCTCTGA	2832	TCTCTGA	3769
hsv1-miR-H6	CACUCCCGUCCUCCAUCCC	959	ACGGGAAGT	1896	CGGGAAGT	2833	GGGAAGT	3770
kshv-miR-K12-1	AUUACAGGAAACUGGGUGUAAGC	960	TTCCTGTAA	1897	TCCTGTAA	2834	CCTGTAA	3771
kshv-miR-K12-10a	UAGUGUUGUCCCCCGAGUGGC	961	GACAACACT	1898	ACAACACT	2835	CAACACT	3772
kshv-miR-K12-10b	UGGUGUUGUCCCCCGAGUGGC	962	GACAACACC	1899	ACAACACC	2836	CAACACC	3773
kshv-miR-K12-11	UUAAUGCUUAGCCUGUGCCGA	963	TAAGCATT	1900	AAGCATT	2837	AGCATT	3774
kshv-miR-K12-12	ACCAGGCCACCAUUCUCUCCG	964	GTGGCCTGG	1901	TGGCCTGG	2838	GGCCTGG	3775
kshv-miR-K12-2	AACUGUAGUCCGGGUCGAUCUG	965	GACTACAGT	1902	ACTACAGT	2839	CTACAGT	3776
kshv-miR-K12-3	UCACAUUCUGAGGACGGCAGCGA	966	CAGAATGTG	1903	AGAATGTG	2840	GAATGTG	3777
kshv-miR-K12-3*	UCGCGGUCACAGAAUGUGACA	967	GTGACCGCG	1904	TGACCGCG	2841	GACCGCG	3778
kshv-miR-K12-9-3p	UAGAAUACUGAGGCCUAGCUGA	968	CAGTATTCT	1905	AGTATTCT	2842	GTATTCT	3779
kshv-miR-K12-4-5p	AGCUAAACCGCAGUACUCUAGG	969	CGGTTTAGC	1906	GGTTTAGC	2843	GTTTAGC	3780
kshv-miR-K12-5	UAGGAUGCCUGGAACUUGCCGG	970	AGGCATCCT	1907	GGCATCCT	2844	GCATCCT	3781
kshv-miR-K12-6-3p	UGAUGGUUUUCGGGCGUUGAG	971	AAAACCATC	1908	AAACCATC	2845	AACCATC	3782
kshv-miR-K12-6-5p	CCAGCAGCACCUAAUCCAUCGG	972	GTGCTGCTG	1909	TGCTGCTG	2846	GCTGCTG	3783
kshv-miR-K12-7	UGAUCCCAUGUUGCUGGCGCU	973	CATGGGATC	1910	ATGGGATC	2847	TGGGATC	3784
kshv-miR-K12-8	UAGGCGGACUGAGAGAGCACG	974	GTCGCGCCT	1911	TCGCGCCT	2848	CGCGCCT	3785
kshv-miR-K12-9	CUGGGUUAUCGACGUGCGUAA	975	GTATACCCA	1912	TATACCCA	2849	ATACCCA	3786
kshv-miR-K12-9*	ACCCAGCUGCGUAAACCCCGCU	976	GCAGCTGGG	1913	CAGCTGGG	2850	AGCTGGG	3787

**Listado de secuencias**

<110> Santaris Pharma A/S  
 <120> Micromirs  
 5 <130> 1051WO  
 <150> US 60/977497  
 <151> 2007-10-04  
 <150> US 60/979217  
 <151> 2007-10-11  
 10 <150> US 61/028062  
 <151> 2008-02-12  
 <150> EP08104780.5  
 <151> 2008-07-17  
 <160> 976  
 15 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 15  
 <212> ADN  
 <213> artificial  
 20 <220>  
 <223> Seedmero. opcionalmente fosforotioato de LNA completo  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(15)  
 25 <223> Enlaces fosforotioato, LNA en las posiciones 1, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 14 y 15, de lo conrario Nt de ADN.  
 <400> 1  
 tcagctgat aagct 15  
 <210> 2  
 <211> 8  
 30 <212> ADN  
 <213> artificial  
 <220>  
 <223> Oligómero de LNA  
 <220>  
 35 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(8)  
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages  
 <400> 2  
 gataagct 8  
 40 <210> 3  
 <211> 15  
 <212> ADN  
 <213> artificial  
 <220>  
 45 <223> Oligómero de LNA  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(15)  
 <223> Phosphorothioate linkages, LNAs at positions 1, 3, 5, 6, 7, 10, 11, 12, 14 & 15 otherwise ADNnts.  
 50 <400> 3  
 tcacaattag catta 15  
 <210> 4  
 <211> 8  
 <212> ADN  
 55 <213> artificial  
 <220>  
 <223> Oligómero de LNA  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 60 <222> (1)..(8)  
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages  
 <400> 4  
 tagcatta 8  
 <210> 5  
 65 <211> 15  
 <212> ADN

<213> artificial  
 <220>  
 <223> Oligómero de LNA  
 <220>  
 5 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(15)  
 <223> Phosphorothioate linkages, LNAs at positions 1, 3, 6, 7, 8, 10, 12, 14 & 15 otherwise ADNnts.  
 <400> 5  
 ccattgtcac actcc 15  
 10 <210> 6  
 <211> 8  
 <212> ADN  
 <213> artificial  
 <220>  
 15 <223> Oligómero de LNA  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(8)  
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages  
 20 <400> 6  
 cacactcc 8  
 <210> 7  
 <211> 6  
 <212> ADN  
 25 <213> artificial  
 <220>  
 <223> Oligómero de LNA  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 30 <222> (1)..(6)  
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages  
 <400> 7  
 taagct 6  
 <210> 8  
 35 <211> 7  
 <212> ADN  
 <213> artificial  
 <220>  
 <223> Oligómero de LNA  
 40 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(7)  
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages  
 <400> 8  
 45 ataagct 7  
 <210> 9  
 <211> 9  
 <212> ADN  
 <213> artificial  
 50 <220>  
 <223> Oligómero de LNA  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(9)  
 55 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages  
 <400> 9  
 tgataagct 9  
 <210> 10  
 <211> 10  
 60 <212> ADN  
 <213> artificial  
 <220>  
 <223> Oligómero de LNA  
 <220>  
 65 <221> misc\_feature  
 <222> (1)..(10)

	<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
	<400> 10	
	ctgataagct	10
	<210> 11	
5	<211> 12	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
10	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(12)	
	<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
	<400> 11	
15	gtctgataag ct	12
	<210> 12	
	<211> 14	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
20	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(14)	
25	<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
	<400> 12	
	cagtctgata agct	14
	<210> 13	
	<211> 8	
30	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
35	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(8)	
	<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
	<400> 13	
	tctgataa	8
40	<210> 14	
	<211> 8	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
45	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(8)	
	<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
50	<400> 14	
	atcagtct	8
	<210> 15	
	<211> 8	
	<212> ADN	
55	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
60	<222> (1)..(8)	
	<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
	<400> 15	
	tcaacatc	8
	<210> 16	
65	<211> 8	
	<212> ADN	

	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
5	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(8)	
	<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
	<400> 16	
	ggtaaact	8
10	<210> 17	
	<211> 8	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
15	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(8)	
	<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
20	<400> 17	
	cgtaatga	8
	<210> 18	
	<211> 16	
	<212> ADN	
25	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
30	<222> (1)..(16)	
	<223> LNA gapmer 3LNA- 9ADN-3LNA-1ADN, 5' FAM label, phosphorothioate linkages.	
	<400> 18	
	tcagtctgat aagcta	16
	<210> 19	
35	<211> 8	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
40	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(8)	
	<223> Full LNA & Phosphorothioate linkages	
	<400> 19	
45	agcacttt	8
	<210> 20	
	<211> 8	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
50	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(8)	
55	<223> Full LNA & Phosphorothioate linkages	
	<400> 20	
	attgcac	8
	<210> 21	
	<211> 15	
60	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<400> 21	
65	agcagacaat gtgac	15
	<210> 22	

	<211> 15	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
5	<223> Oligómero de LNA	
	<400> 22	
	gtagccagat gtagc	15
	<210> 23	
	<211> 7	
10	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
15	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(7)	
	<223> Full LNA & Phosphorothioate linkages	
	<400> 23	
	atgtagc	7
20	<210> 24	
	<211> 15	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
25	<223> Oligómero de LNA	
	<400> 24	
	acaacctact acctc	15
	<210> 25	
	<211> 8	
30	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
35	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(8)	
	<223> Full LNA & Phosphorothioate linkages	
	<400> 25	
	actacctc	8
40	<210> 26	
	<211> 15	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
45	<223> Oligómero de LNA	
	<400> 26	
	cactgtcagc acttt	15
	<210> 27	
	<211> 15	
50	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<400> 27	
55	tgcatagatt tgcac	15
	<210> 28	
	<211> 7	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
60	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc feature	
	<222> (1)..(7)	
65	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato	
	<400> 28	

	gtagact	7
	<210> 29	
	<211> 6	
	<212> ADN	
5	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
10	<222> (1)..(6)	
	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato	
	<400> 29	
	tacctc	6
	<210> 30	
15	<211> 7	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
20	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(7)	
	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato	
	<400> 30	
25	ctacctc	7
	<210> 31	
	<211> 9	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
30	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(9)	
35	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato, N = Base universal	
	<400> 31	
	tnctacctc	9
	<210> 32	
	<211> 9	
40	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
45	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(9)	
	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato, N = Base universal	
	<400> 32	
	tnctacctc	9
50	<210> 33	
	<211> 15	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
55	<223> Oligómero de LNA	
	<400> 33	
	gcaacctact acctc	15
	<210> 34	
	<211> 15	
60	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<400> 34	
65	acaacctcct acctc	15
	<210> 35	

	<211> 15	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
5	<223> Oligómero de LNA	
	<400> 35	
	acaaactact acctc	15
	<210> 36	
	<211> 7	
10	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
15	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(7)	
	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato,	
	<400> 36	
	ctacctc	7
20	<210> 37	
	<211> 7	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
25	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(7)	
	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato,	
30	<400> 37	
	ctaactc	7
	<210> 38	
	<211> 9	
	<212> ADN	
35	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
40	<222> (1)..(9)	
	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato,	
	<400> 38	
	ttagcatta	9
	<210> 39	
45	<211> 9	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
50	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(9)	
	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato,	
	<400> 39	
55	ttagcatta	9
	<210> 40	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
60	<400> 40	
	uagcaccgcu auccacuaug uc	22
	<210> 41	
	<211> 24	
	<212> ARN	
65	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 41	

	ucuuagugga agugacgugc ugug	24
	<210> 42	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 42	
	uacauaacca uggaguuggc ugu	23
	<210> 43	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 43	
	gccaccucuu ugguucugua ca	22
	<210> 44	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 44 21	
	acgcacacca ggcugacugc c	21
20	<210> 45	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 45	
25	ucagacaguu uggugcgua guug	24
	<210> 46	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
30	<400> 46	
	uccuguggug uuuggugugg uu	22
	<210> 47	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 47	
	uguaacuugc cagggacggc uga	23
	<210> 48	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 48	
	aaccggcucg uggcucguac ag	22
	<210> 49	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 49	
	uaaaugcugc aguaguagg au	22
50	<210> 50	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 50	
55	uaccuacgc ugccgauuuu ca	22
	<210> 51	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
60	<400> 51	
	gucagugguu uuguuuccuu ga	22
	<210> 52	
	<211> 24	
	<212> ARN	
65	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 52	

	uuagauagag ugggugugug cucu	24
	<210> 53	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 53	
	uguauGCCUG gugucccuu agu	23
	<210> 54	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 54	
	uaagaggacg caggcauaca ag	22
	<210> 55	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 55	
	uauCGGAAGU uugggcuucg uc	22
20	<210> 56	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 56	
25	ucaaguucgc acuuccuaua ca	22
	<210> 57	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
30	<400> 57	
	uuuuuuuugc uugggaaugc u	21
	<210> 58	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 58	
	acauuCCCCG caaacaugac aug	23
	<210> 59	
	<211> 24	
40	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 59	
	aaggagcgau uuggagaaaa uaaa	24
	<210> 60	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 60 22	
	uauuuucugc auucgCCCUU gc	22
50	<210> 61	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 61	
55	caugaaggca cagccuguua cc	22
	<210> 62	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
60	<400> 62	
	uagcaggcau gucucauuc c	21
	<210> 63	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 63	

	cgaccacua guaccaggu gu	22
	<210> 64	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 64	
	accuaguguu aguguuguc u	21
	<210> 65	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 65	
	gaccugaugc ugcuggugug cu	22
	<210> 66	
15	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 66	
20	caaggugaau auagcugccc aucg	24
	<210> 67	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 67	
25	cggggaucgg acuagccuaa ga	22
	<210> 68	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
30	<400> 68	
	uaagguuggu ccaauccaua gg	22
	<210> 69	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 69	
	caucauaguc caguguccag gg	22
	<210> 70	
	<211> 22	
40	<212> ARN ,	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 70	
	ccuggaccuu gacuaugaaa ca	22
	<210> 71	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 71	
	uacgguuucc uagauuguac ag	22
50	<210> 72	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 72	
55	gucaacuau auggggucgu aga	23
	<210> 73	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
60	<400> 73	
	uaacacuca uggguccgu agu	23
	<210> 74	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 74	

	uacuggaccc ugaauuggaa ac	22
	<210> 75	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 75	
	uaaccugauc agccccggag uu	22
	<210> 76	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 76	
	uauuuuugc ggcagaaau ga	22
	<210> 77	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 77	
	aaaauucuguu gcagcagaua gc	22
20	<210> 78	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus de Epstein Barr	
	<400> 78	
25	uaacgggaag uguguaagca ca	22
	<210> 79	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Human cytomegalovirus	
30	<400> 79	
	aagugacggu gagauccagg cu	22
	<210> 80	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Human cytomegalovirus	
	<400> 80	
	ucguccuccc cuucuucacc g	21
	<210> 81	
	<211> 20	
40	<212> ARN	
	<213> Human cytomegalovirus	
	<400> 81	
	uaacuagccu ucccugagaga	20
45	<210> 82	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 82	
	ucaccagaau gcuaguuuugu ag	22
50	<210> 83	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 83	
55	ucguugaaga caccuggaaa ga	22
	<210> 84	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
60	<400> 84	
	uuuccaggug uuuucaacgu gc	22
	<210> 85	
	<211> 20	
	<212> ARN	
65	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 85	

	ggggaugggc uggcgcgcg	20
	<210> 86	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 86	
	ugcgucucgg ccucguccag a	21
	<210> 87	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 87	
	aaccgcucag uggcucggac c	21
	<210> 88	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 88	
	uccgaacgcu aggucgguuc uc	22
20	<210> 89	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 89	
25	auccacuugg agagcucccg cgg	23
	<210> 90	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
30	<400> 90	
	agcggucugu ucagguggau ga	22
	<210> 91	
	<211> 20	
	<212> ARN	
35	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 91	
	ucacgguccg agcacaucca	20
	<210> 92	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 92	
	gauugugccc ggaccguggg cg	22
	<210> 93	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 93	
	cgacauggac gugcagggg au	22
50	<210> 94	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
	<400> 94	
55	ugacaagccu gacgagagcg u	21
	<210> 95	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Citomegalovirus humano	
60	<400> 95	
	uuauagauagg ugugacgaug uc	22
	<210> 96	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 96	

	ugagguagua gguuguauag uu	22
	<210> 97	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 97	
	cuauacaauc uacugucuuu c	21
	<210> 98	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 98	
	ugagguagua gguugugugg uu	22
	<210> 99	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 99	
	cuauacaacc uacugccuuc cc	22
20	<210> 100	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 100	
25	ugagguagua gguuguauagg uu	22
	<210> 101	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 101	
	uagaguuaca cccugggagu ua	22
	<210> 102	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 102	
	agagguagua gguugcauag uu	22
	<210> 103	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 103	
	cuauacgacc ugcugccuuu cu	22
	<210> 104	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 104	
	ugagguagga gguuguauag uu	22
50	<210> 105	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 105	
55	cuauacggcc uccuagcuuu cc	22
	<210> 106	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 106	
	ugagguagua gauuguauag uu	22
	<210> 107	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 107	

	cuauacauc uauugccuuc cc	22
	<210> 108	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 108	
	cuauacaguc uacugucuuu cc	22
	<210> 109	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 109	
	ugagguagua guuuguacag uu	22
	<210> 110	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 110	
	cuguacaggc cacugccuug c	21
20	<210> 111	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 111	
25	ugagguagua guuugugcug uu	22
	<210> 112	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 112	
	cugcgcaagc uacugccuug cu	22
	<210> 113	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 113 22	
	uggaauguaa agaaguaugu au	22
	<210> 114	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 114 22	
	aaccguaga uccgaacuug ug	22
	<210> 115	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 115 22	
	caagcuugua ucuauaggua ug	22
50	<210> 116	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 116 21	
55	uacaguacug ugauaacuga a	21
	<210> 117	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 117 22	
	caguuacac agugcugaug cu	22
	<210> 118	
	<211> 23	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 118 23	

	agcagcauug uacagggcua uga	23
	<210> 119	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 119 23	
	ucauagcccu guacaaugcu gcu	23
	<210> 120	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 120	
	ucaaauugcuc agacuccugu ggu	23
	<210> 121	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 121	
	acggauuuu gagcaugugc ua	22
20	<210> 122	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 122	
25	aaaagugcuu acagugcagg uag	23
	<210> 123	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 123	
	cugcaaugua agcacuucu ac	22
	<210> 124	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 124	
	uaaagugcug acagugcaga u	21
	<210> 125	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 125	
	ccgcacugug gguacuugcu gc	22
	<210> 126	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 126	
	agcagcauug uacagggcua uca	23
50	<210> 127	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 127	
55	uaccuugag auccgaauuu gug	23
	<210> 128	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 128	
	caaaucgua ucuaggggaa ua	22
	<210> 129	
	<211> 23	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 129	

	uaccuguag aaccgaauiu gug	23
	<210> 130	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 130	
	acagauucga uucuagggga au	22
	<210> 131	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 131	
	uugcucacug uucuuccua g	21
	<210> 132	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 132	
	aagcauucuu ucauugguug g	21
20	<210> 133	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 133	
25	uuuccggcuc gcgugggugu gu	22
	<210> 134	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 134	
	ccgucgccgc caccggagcc g	21
	<210> 135	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 135	
	gagggucuuug ggagggauu gac	23
	<210> 136	
	<211> 27	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 136	
	cacuguaggu gauggugaga gugggca	27
45	<210> 137	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 137	
	ccugcagcga cuugauggcu ucc	23
50	<210> 138	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 138	
55	agaggauacc cuuuguauu u	21
	<210> 139	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 139	
	uaggacacau ggucuacuuc u	21
	<210> 140	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 140	

	cuccugagcc auucugagcc uc	22
	<210> 141	
	<211> 24	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 141	
	agccugauua aacacaugcu cuga	24
	<210> 142	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 142	
	gugccagcug caguggggga g	21
	<210> 143	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 143	
	cccggagcca ggaugcagcu c	21
20	<210> 144	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 144	
25	ucguggccug gucuccauua u	21
	<210> 145	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 145	
	ucugcagggg uugcuuugag	20
	<210> 146	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 146	
	uguucaugua gauguuaag c	21
	<210> 147	
	<211> 18	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 147	
	ucagcuggcc cucauuuc	18
	<210> 148	
45	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 148	
	uggcagggag gcugggagg g	21
50	<210> 149	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 149	
55	ucacuguuca gacaggcgga	20
	<210> 150	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 150	
	uggaguguga caaugguguu ug	22
	<210> 151	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 151	

	aacgccauua ucacacuaaa ua	22
	<210> 152	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 152	
	ccccaccucc ucucuccuca g	21
	<210> 153	
	<211> 19	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 153	
	gugaggacuc gggaggugg	19
	<210> 154	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 154	
	ugagccccug ugcccccc ag	22
20	<210> 155	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 155	
25	guggguacgg cccagugggg gg	22
	<210> 156	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 156	
	ucaccagccc uguguuccu ag	22
	<210> 157	
	<211> 26	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 157	
	gugagggcau gcaggccugg augggg	26
	<210> 158	
	<211> 20	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 158	
	cgugccaccc uuuuccccag	20
	<210> 159	
45	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 159	
	ucacaccugc cucgcccccc	20
50	<210> 160	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 160	
55	gugggcgggg gcaggugugu g	21
	<210> 161	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 161	
	cucucaccac ugcccucca cag	23
	<210> 162	
	<211> 20	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 162	

	gugucugggc ggacagcugc	20
	<210> 163	
	<211> 20	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 163	
	ugagcccugu ccuccgcag	20
	<210> 164	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 164	
	ucggccugac caccacccc ac	22
	<210> 165	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 165	
	ccucuucucc uugucucucc ag	22
20	<210> 166	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 166	
25	uccuucugcu ccgucuccca g	21
	<210> 167	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 167	
	cuuccucguc ugucugcccc	20
	<210> 168	
	<211> 20	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 168	
	uaaggcacgc ggugaagcc	20
	<210> 169	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 169	
	cguguucaca gcggaccuug au	22
	<210> 170	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 170	
	aacuggauca auuauaggag ug	22
50	<210> 171	
	<211> 26	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 171	
55	aaguaguugg uuuguagag augguu	26
	<210> 172	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 172	
	aagugaucua aaggccuaca u	21
	<210> 173	
	<211> 19	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 173	

	aauggauuuu uggagcagg	19
	<210> 174	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 174	
	acccgucccg uucgucccg ga	22
	<210> 175	
	<211> 27	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 175	
	accuucuugu auaagcacug ugcuaaa	27
	<210> 176	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 176	
	acgcccucc ccccuucuu ca	22
20	<210> 177	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 177	
25	acggugcugg auguggccuu u	21
	<210> 178	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 178	
	acucuagcug ccaaaggcgc u	21
	<210> 179	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 179	
	agaaggaaau ugaauucauu ua	22
	<210> 180	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 180	
	agagaagaag aucagccugc a	21
	<210> 181	
45	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 181	
	agccuggaag cuggagccug cagu	24
50	<210> 182	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 182	
55	aggaugagca aagaaaguag auu	23
	<210> 183	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 183	
	cggaugagca aagaaagugg uu	22
	<210> 184	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 184	

	aggcauugac uucucacuag cu	22
	<210> 185	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 185	
	agugaaugau gguucugac c	21
	<210> 186	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 186	
	aguuaggauu agguugugga a	21
	<210> 187	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 187	
	auauaugaug acuuagcuuu u	21
20	<210> 188	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 188	
25	acaggugagg uucuugggag cc	22
	<210> 189	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 189	
	uccugagac cccuuuaccu guga	24
	<210> 190	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 190	
	uccugagac ccuaacuugu ga	22
	<210> 191	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 191	
	acggguuagg cucuugggag cu	22
	<210> 192	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 192	
	ucacaaguca ggcucuuggg ac	22
50	<210> 193	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 193	
55	ucguaccgug aguaauaauug cg	22
	<210> 194	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 194	
	cauuuuacu uuugguacgc g	21
	<210> 195	
	<211> 18	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 195	

	aucccaccuc ugccacca	18
	<210> 196	
	<211> 19	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 196	
	auggauaagg cuuuggcuu	19
	<210> 197	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 197	
	augggugaau uuguagaagg au	22
	<210> 198	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 198	
	augguacccu ggcauacuga gu	22
20	<210> 199	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 199	
25	caagucuau uugagcaccu guu	23
	<210> 200	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 200	
	caggaugugg ucaaguguug uu	22
	<210> 201	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 201	
	ccucaggcu guagaacagg gcu	23
	<210> 202	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 202	
	ccuguugaag uguaucccc a	21
	<210> 203	
45	<211> 18	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 203	
	cgggcguggu gguggggg	18
50	<210> 204	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 204	
55	cuggacugag ccgugcuacu gg	22
	<210> 205	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 205	
	ucggauccgu cugagcuugg cu	22
	<210> 206	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 206	

	cugaagcuca gagggcucug au	22
	<210> 207	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 207	
	cuggagauau ggaagagcug ugu	23
	<210> 208	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 208	
	cuuggcaccu agcaagcacu ca	22
	<210> 209	
15	<211> 26	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 209	
	gaugaugaug gcagcaauu cugaaa	26
20	<210> 210	
	<211> 25	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 210	
25	ggcgacaaa gcaagacucu uucuu	25
	<210> 211	
	<211> 18	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 211	
	guccuguuuc aggcgcca	18
	<210> 212	
	<211> 17	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 212	
	ucccuguucg ggcgcca	17
	<210> 213	
	<211> 17	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 213	
	gugggggaga ggcuguc	17
	<210> 214	
45	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 214	
	uaaagagccc uguggagaca	20
50	<210> 215	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 215 22	
55	uacguagaua uauauguauu uu	22
	<210> 216	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 216	
	uaguacugug cauaucacu au	22
	<210> 217	
	<211> 17	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 217 17	

	ucauauugcu ucuuucu	17
	<210> 218	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 218 21	
	ucacagugaa cggucucuu u	21
	<210> 219	
	<211> 17	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 219 17	
	ucccaccgcu gccaccc	17
	<210> 220	
15	<211> 17	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 220 17	
	ucgccuccuc cucuccc	17
20	<210> 221	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 221 20	
25	ucguuugccu uuuucugcuu	20
	<210> 222	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 222	
	ucuacaaagg aaagcgcuu cu	22
	<210> 223	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 223	
	ucuauacaga cccuggcuu uc	22
	<210> 224	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 224	
	ucugggcaac aaagugagac cu	22
	<210> 225	
45	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 225	
	ugcaggacca agaugagccc u	21
50	<210> 226	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 226	
55	ucuggauca gugguucgag uc	22
	<210> 227	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 227	
	uggacugccc ugaucuggag a	21
	<210> 228	
	<211> 23	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 228	

	uggaguccag gaucugcau uuu	23
	<210> 229	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 229	
	aagcccuuac cccaaaaagu au	22
	<210> 230	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 230	
	aagcccuuac cccaaaaagc au	22
	<210> 231	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 231	
	cuuuuugcgg ucuggguug c	21
20	<210> 232	
	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 232	
25	uggauuuuug gaucagga	19
	<210> 233	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 233	
	uggccugac ugaagaccag cagu	24
	<210> 234	
	<211> 25	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 234	
	uggaacggg uuccggcaga cgcu	25
	<210> 235	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 235	
	ugggugucu ggaguuugu gc	22
	<210> 236	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 236	
	ugugagguug gcauuguugu cu	22
50	<210> 237	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 237	
55	uuaggccgca gaucugggug a	21
	<210> 238	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 238	
	uuaggcccu ggcuccaucu cc	22
	<210> 239	
	<211> 17	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 239	

	uucaaguaau ucaggug	17
	<210> 240	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 240	
	uucauucggc uguccagaug ua	22
	<210> 241	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 241	
	uucuggaauu cugugagagg ga	22
	<210> 242	
15	<211> 18	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 242	
	uugagaagga ggcugcug	18
20	<210> 243	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 243	
25	uugcagcugc cuggaguga cuuc	24
	<210> 244	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 244	
	uuggacaua cuuaugcuaa a	21
	<210> 245	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 245	
	uuuagagacg gggucuugcu cu	22
	<210> 246	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 246	
	uuugaggcua cagugagaug ug	22
	<210> 247	
45	<211>	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 247	
	uuuuaacuc uaaugggaga ga	22
50	<210> 248	
	<211> 18	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 248	
55	acguuggcuc ugguggug	18
	<210> 249	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 249	
	acucggcgug gcgucggucg ug	22
	<210> 250	
	<211> 18	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 250	

	gcaugggugg uucagugg	18
	<210> 251	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 251	
	cagugcaaug uuaaaagggc au	22
	<210> 252	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 252	
	uucacauugu gcuacugucu gc	22
	<210> 253	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 253	
	cagugcaaug augaaagggc au	22
20	<210> 254	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 254	
25	acucuuuccc uguugcacua c	21
	<210> 255	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 255	
	uaacagucua cagccauggu cg	22
	<210> 256	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 256	
	accguggcuu ucgauuguua cu	22
	<210> 257	
	<211> 18	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 257	18
	cagggaggug aaugugau	
	<210> 258	
45	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 258	
	gaugaugcug cugaugcug	19
50	<210> 259	
	<211>	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 259	
55	ucaaaacuga ggggcauuuu cu	22
	<210> 260	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 260	
	ccagacagaa uucuaugcac uuuc	24
	<210> 261	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 261	

	uuuggucccc uucaaccagc ug	22
	<210> 262	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 262	
	uuuggucccc uucaaccagc ua	22
	<210> 263	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 263	
	ugugacuggu ugaccagagg gg	22
	<210> 264	
15	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 264	
20	uauggcuuuu uauuccuaug uga	23
	<210> 265	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 265	
25	uauagggauu ggagccgugg cg	22
	<210> 266	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 266	
	uauggcuuuu cauuccuaug uga	23
	<210> 267	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 267	
	auguaggguu aaaagccaug gg	22
	<210> 268	
	<211> 23	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 268	
	acuccauuug uuuugaugau gga	23
45	<210> 269	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 269	
50	caucaucguc ucaaaugagu cu	22
	<210> 270	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 270	
55	uuauugcuua agaauacgcg uag	23
	<210> 271	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 271	
	agcugguguu gugaucagg ccg	23
	<210> 272	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 272	

	gcuacuucac aacaccaggg cc	22
	<210> 273	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 273	
	gcuauuucac gacaccaggg uu	22
	<210> 274	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 274	
	ggagacgcgg cccuguugga gu	22
	<210> 275	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 275	
	ucuacagugc acgugucucc ag	22
20	<210> 276	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 276	
25	uaccacaggg uagaaccacg g	21
	<210> 277	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 277	
	cagugguuuu acccuuggu ag	22
	<210> 278	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 278	
	uaacacuguc ugguaaagau gg	22
	<210> 279	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 279	
	caucuuccag uacaguguug ga	22
	<210> 280	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 280	
	uguaguguuu ccuacuuau gga	23
50	<210> 281	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 281	
55	cauaaaguag aaagcacuac u	21
	<210> 282	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 282	
	ugagaugaag cacuguagcu c	21
	<210> 283	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 283	

	ggugcagugc ugcaucucug gu	22
	<210> 284	
	<211> 20	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 284	
	uacagauag augauguacu	20
	<210> 285	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 285	
	ggauaucauc auauacugua ag	22
	<210> 286	
15	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 286	
	guccaguuuu cccaggauc ccu	23
20	<210> 287	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 287	
25	ggauuccugg aaauacuguu cu	22
	<210> 288	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 288	
	cuccguuugc cuguuucgu g	21
	<210> 289	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 289	
	cucggcgcgg ggcgcgggcu cc	22
	<210> 290	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 290	
	ugagaacuga auuccauggg uu	22
	<210> 291	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 291	
	ccucugaaau ucaguucuuc ag	22
50	<210> 292	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 292	
55	ugcccugugg acucaguucu gg	22
	<210> 293	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 293	
	ugagaacuga auuccauagg cu	22
	<210> 294	
	<211> 20	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 294	

	guguguggaa augcuucugc	20
	<210> 295	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 295	
	gccuccgcc cgugaccccc g	21
	<210> 296	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 296	
	gcccgcgugu ggagccaggu gu	22
	<210> 297	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 297	
20	gugugcggaa augcuucugc ua	22
	<210> 298	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 298	
25	ucagugcacu acagaacuuu gu	22
	<210> 299	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 299	
	aaaguucuga gacacuccga cu	22
	<210> 300	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 300	
	ucagugcauc acagaacuuu gu	22
	<210> 301	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 301	
	aaguucuguu auacacucag gc	22
	<210> 302	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 302	
50	ucuggcuccg ugucuucacu ccc	23
	<210> 303	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 303	
55	aggagggac gggggcugug c	21
	<210> 304	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 304	
	ucuccaacc cuuguaccag ug	22
	<210> 305	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 305	

	cugguacagg ccugggggac ag	22
	<210> 306	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 306	
	cuagacugaa gcuccuugag g	21
	<210> 307	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 307	
	ucgaggagcu cacagucuag u	21
	<210> 308	
15	<211>	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 308	
	ucagugcaug acagaacuug g	21
20	<210> 309	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 309	
25	uugcauaguc acaaaaguga uc	22
	<210> 310	
	<211>	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 310	
	aaaaccgucu aguuacaguu gu	22
	<210> 311	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 311	
	cggcccgggc ugcugcuguu ccu	23
	<210> 312	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 312	
	uccugcgcggu cccagaugcc c	21
	<210> 313	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 313	
	uagguuaucc guguugccuu cg	22
50	<210> 314	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 314	
55	aaucauacac gguugaccua uu	22
	<210> 315	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 315	
	uuaaugcuaa ucgugauagg ggu	23
	<210> 316	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 316	

	cuccuacaua uuagcauuaa ca	22
	<210> 317	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 317	
	uagcagcaca uaaugguuug ug	22
	<210> 318	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 318	
	caggccauau ugugcugccu ca	22
	<210> 319	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 319	
	uagcagcaca ucaugguuuu ca	22
20	<210> 320	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 320	
25	cgaaucuuu uuugcugcuc ua	22
	<210> 321	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 321	
	uagcagcacg uaaauauugg cg	22
	<210> 322	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 322	
	ccaguauuaa cugugcugcu ga	22
	<210> 323	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 323	
	ccaauuuuac ugugcugcuu ua	22
45	<210> 324	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 324	
	caaagugcuu acagucagg uag	23
50	<210> 325	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 325	
55	acugcaguga aggcacuugu ag	22
	<210> 326	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 326	
	aacauucaac gcugucggug agu	23
	<210> 327	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 327	

	accaucgacc guugauugua cc	22
	<210> 328	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 328	
	accacugacc guugacugua cc	22
	<210> 329	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 329	
	aacauucauu gcugucggug ggu	23
	<210> 330	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 330	
	aacauucaac cugucgguga gu	22
20	<210> 331	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 331	
25	aaccaucgac cguugagugg ac	22
	<210> 332	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 332	
	aacauucauu guugucggug ggu	23
	<210> 333	
	<211> 24	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 333	
	uuuggcaaug guagaacuca cacu	24
	<210> 334	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 334	
	ugguucuaga cuugccaacu a	21
	<210> 335	
45	<211> 18	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 335	
	uccagugccc uccucucc	18
50	<210> 336	
	<211> 27	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 336	
55	auugaucauc gacacuucga acgcaau	27
	<210> 337	
	<211> 18	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 337	
	ugaggcagua gauugaau	18
	<210> 338	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 338	

	uauggcacug guagaauuca cu	22
	<210> 339	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 339	
	gugaaauacc gaaggccau aa	22
	<210> 340	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 340	
	uggacggaga acugauaagg gu	22
	<210> 341	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 341	
	uggagagaaa ggcaguuccu ga	22
20	<210> 342	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 342	
25	aggggcuggc uuuccucugg uc	22
	<210> 343	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 343	
	caaagaauuc uccuuuuggg cu	22
	<210> 344	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 344	
	gccccaaaggu gaauuuuuug gg	22
	<210> 345	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 345	
	ucgugucuug uguugcagcc gg	22
	<210> 346	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 346	
	ggcuacaaca caggaccgg gc	22
50	<210> 347	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 347	
55	cucccaaug cagguuugc a	21
	<210> 348	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 348	
	caucccuugc augguggagg g	21
	<210> 349	
	<211> 23	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 349	

	uaaggugcau cuagugcaga uag	23
	<210> 350	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 350	
	acugcccuaa gugcuccuuc ugg	23
	<210> 351	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 351	
	uaaggugcau cuagugcagu uag	23
	<210> 352	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 352	
	ugcccuaaaau gcccucug gc	22
20	<210> 353	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 353	
25	ugauauguuu gauauuuag gu	22
	<210> 354	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 354	
	cggcggggac ggcgauuggu c	21
	<210> 355	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 355	
	cgcaggggcc gggugcucac cg	22
	<210> 356	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 356	
	ugagugccgg ugccugccu g	21
	<210> 357	
45	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 357	
	ugauauguuu gauauugggu u	21
50	<210> 358	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 358	
55	caacggaauc ccaaaagcag cug	23
	<210> 359	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 359	
	gcugcgcuug gauuucgucc cc	22
	<210> 360	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 360	

	ccaguccugu gccugccgcc u	21
	<210> 361	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 361	
	ugaguaccgc caugucuguu ggg	23
	<210> 362	
	<211> 20	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 362	
	caccaggcau uguggucucc	20
	<210> 363	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 363	
	uaccagagc augcagugug aa	22
20	<210> 364	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 364	
25	ucugccccc cgcugcugc ca	22
	<210> 365	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 365	
	cccugugccc ggcccacuuc ug	22
	<210> 366	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 366	
	ggaggggucc cgcacuggga gg	22
	<210> 367	
	<211> 20	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 367	
	cccagggcg acgcggcggg	20
	<210> 368	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 368	
	accuugccuu gcugcccggg cc	22
50	<210> 369	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 369	
55	cugaccuaug aauugacagc c	21
	<210> 370	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 370	
	cugccauuc cauaggucac ag	22
	<210> 371	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 371	

	aacuggccua caaaguccca gu	22
	<210> 372	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 372	
	ugggucuuug cgggcgagau ga	22
	<210> 373	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 373	
	aacuggcccu caaagucccg cu	22
	<210> 374	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 374	
	cgggguuuug agggcgagau ga	22
20	<210> 375	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 375	
25	uguaacagca acuccaugug ga	22
	<210> 376	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 376	
	ccaguggggc ugcguuauug ug	22
	<210> 377	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 377	
	uagcagcaca gaaauuugg c	21
	<210> 378	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 378	
	ccaauuugg cugugcugcu cc	22
	<210> 379	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 379	
	uagguaguuu cauguuguug gg	22
50	<210> 380	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 380	
55	cggcaacaag aaacugccug ag	22
	<210> 381	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 381	
	uagguaguuu ccuguuguug gg	22
	<210> 382	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 382	

	uucaccaccu ucuccaccca gc	22
	<210> 383	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 383	
	gguccagagg ggagauaggu uc	22
	<210> 384	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 384	
	cccaguguuc agacuaccug uuc	23
	<210> 385	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 385	
	acaguagucu gcacauuggu ua	22
20	<210> 386	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 386	
25	cccaguguuu agacuauug uuc	23
	<210> 387	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 387	
	ugugcaaauc uaugcaaaac uga	23
	<210> 388	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 388	
	aguuuugcau aguugcacua ca	22
	<210> 389	
	<211> 23	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 389	
	ugugcaaauc caugcaaaac uga	23
	<210> 390	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 390	
	aguuuugcag guuugcaucc agc	23
50	<210> 391	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 391	
55	aguuuugcag guuugcauuu ca	22
	<210> 392	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 392	
	uaacacuguc ugguaacgau gu	22
	<210> 393	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 393	

	caucuuaccg gacagugcug ga	22
	<210> 394	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 394	
	uaauacugcc ugguaaugau ga	22
	<210> 395	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 395	
	caucuuacug ggcagcauug ga	22
	<210> 396	
15	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 396	
20	uaauacugcc ggguaaugau gga	23
	<210> 397	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 397	
25	cgucuuacc agcaguguuu gg	22
	<210> 398	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 398	
	agagguauag ggcaugggaa	20
	<210> 399	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 399	
	uuccuaugca uauacuucu ug	22
	<210> 400	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 400 22	
	gugaaauguu uaggaccacu ag	22
	<210> 401	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 401	
	uuccuuugu cauccuaugc cu	22
50	<210> 402	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 402	
55	uccuucuuuc caccggaguc ug	22
	<210> 403	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 403	
	uggaauguaa ggaagugugu gg	22
	<210> 404	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 404	

	auaagacgag caaaaagcuu gu	22
	<210> 405	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 405	
	auaagacgaa caaaagguuu gu	22
	<210> 406	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 406	
	uaaagugcuu auagugcagg uag	23
	<210> 407	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 407	
	acugcauuau gagcacuuaa ag	22
20	<210> 408	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 408	
25	caaagugcuc auagugcagg uag	23
	<210> 409	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 409	
	acuguaguau gggcacuucc ag	22
	<210> 410	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 410	
	uagcuuauca gacugauguu ga	22
	<210> 411	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 411	
	caacaccagu cgaugggcug u	21
	<210> 412	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 412	
	cugugcgugu gacagcggu ga	22
50	<210> 413	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 413	
55	uucccuuugu cauccuucgc cu	22
	<210> 414	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 414	
	uaacagucuc cagucacggc c	21
	<210> 415	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 415 22	

	acagcaggca cagacaggca gu	22
	<210> 416	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 416	
	ugccugucua cacuugcugu gc	22
	<210> 417	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 417	
	augaccuaug aauugacaga c	21
	<210> 418	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 418	
	uaaucucagc uggcaacugu ga	22
20	<210> 419	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 419 22	
25	aaaucucugc aggcaaaugu ga	22
	<210> 420	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 420	
	uacugcauca ggaacugauu gga	23
	<210> 421	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 421	
	uugugcuuga ucuaaccaug u	21
	<210> 422	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 422	
	augguuccgu caagcaccau gg	22
	<210> 423	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 423	
	caugguucug ucaagcaccg cg	22
50	<210> 424	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 424	
55	agaguugagu cuggacgucc cg	22
	<210> 425	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 425	
	agaauugugg cuggacaucu gu	22
	<210> 426	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 426	

	ugauugucca aacgcaauuc u	21
	<210> 427	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 427	
	aagcugccag uugaagaacu gu	22
	<210> 428	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 428	
	aguucuucag uggcaagcuu ua	22
	<210> 429	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 429	
	ccacaccgua ucugacacuu u	21
20	<210> 430	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 430	
25	ccaccaccgu gucugacacu u	21
	<210> 431	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 431	
	acacagggcu guugugaaga cu	22
	<210> 432	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 432	
	agcuacauug ucugcugggu uuc	23
	<210> 433	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 433	
	accuggcaua caauguagau uu	22
	<210> 434	
45	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 434	
	agcuacaucu ggcuacuggg u	21
50	<210> 435	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 435	
55	cucaguagcc aguguagauc cu	22
	<210> 436	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 436	
	ugucaguug ucaauuacc ca	22
	<210> 437	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 437	

	cguguauuug acaagcugag uu	22
	<210> 438	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 438	
	caagucacua gugguuccgu u	21
	<210> 439	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 439	
	aucacauugc cagggauuuc c	21
	<210> 440	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 440	
	ggguuccug gggauuggau uu	22
20	<210> 441	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 441	
25	aucacauugc cagggauuac c	21
	<210> 442	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 442 22	
	uggguuccug gcaugcugau uu	22
	<210> 443	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 443	
	uggcucaguu cagcaggaac ag	22
	<210> 444	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 444	
	ugccuacuga gcugauauca gu	22
	<210> 445	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 445	
	ugccuacuga gcugaaacac ag	22
50	<210> 446	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 446	
55	cauugcacuu gucucggucu ga	22
	<210> 447	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 447	
	aggcggagac uugggcauu g	21
	<210> 448	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 448	

	uucaaguaau ccaggauagg cu	22
	<210> 449	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 449	
	ccuauucuug guuacuugca cg	22
	<210> 450	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 450	
	ccuauucuug auuacuuguu uc	22
	<210> 451	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 451	
	uucaaguaau ucaggauagg u	21
20	<210> 452	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 452	
25	ccuguucucc auuacuuggc uc	22
	<210> 453	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 453	
	uucacagugg cuaaguuccg c	21
	<210> 454	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 454	
	agggcuuagc ugcuuugag ca	22
	<210> 455	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 455	
	uucacagugg cuaaguucug c	21
	<210> 456	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 456	
	agagcuuagc ugauugguga ac	22
50	<210> 457	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 457	
55	cacuagauug ugagcuccug ga	22
	<210> 458	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 458	
	aaggagcuca cagucuauug ag	22
	<210> 459	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 459	

	gaggguuuggg uggaggcucu cc	22
	<210> 460	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 460	
	agggccccc cucaaaccug u	21
	<210> 461	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 461	
	auguaugugu gcaugugcau g	21
	<210> 462	
15	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 462	
	agcagaagca gggagguucu ccca	24
20	<210> 463	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 463	
25	uauuguggau gguaaacccg uu	22
	<210> 464	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 464	
	ugguuuaccg ucccacauac au	22
	<210> 465	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 465	
	uagcaccauc ugaaaucggu ua	22
	<210> 466	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 466	
	acugauuucu uuugguguuc ag	22
	<210> 467	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 467 23	
	uagcaccauu ugaaucagu guu	23
50	<210> 468	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 468	
55	gcugguuuca uauggugguu uaga	24
	<210> 469	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 469	
	cugguuucac auggugcuu ag	22
	<210> 470	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 470	

	uagcaccauu ugaaucggu ua	22
	<210> 471	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 471	
	ugaccgauuu cuccuggugu uc	22
	<210> 472	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 472	
	uauacaaggg cagacucucu cu	22
	<210> 473	
15	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 473	
	cagugcaaua guauugucua agc	23
20	<210> 474	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 474	
25	cagugcaaug auauugucua agc	23
	<210> 475	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 475	
	uaagugcuuc cauguuuugg uga	23
	<210> 476	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 476	
	acuuuaacgu ggauguacuu gcu	23
	<210> 477	
	<211> 23	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 477	
	uaagugcuuc cauguuuuag uag	23
	<210> 478	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 478	
	acuuuaacau ggaagugcuu uc	22
50	<210> 479	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 479	
55	uaagugcuuc cauguuucag ugg	23
	<210> 480	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 480	
	uuuaacau ggguaccugc ug	22
	<210> 481	
	<211> 23	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 481	

	uaagugcuuc cauguuugag ugu	23
	<210> 482	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 482	
	acuuuaacau ggaggcacuu gc	22
	<210> 483	
	<211> 17	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 483	
	uaagugcuuc caugcuu	17
	<210> 484	
15	<211> 17	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 484	
	uaauugcuuc cauguuu	17
20	<210> 485	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 485	
25	uguaaacauc cucgacugga ag	22
	<210> 486	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 486	
	cuuucagucg gauguuugca gc	22
	<210> 487	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 487	
	uguaaacauc cuacacucag cu	22
	<210> 488	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 488 22	
	cugggaggug gauguuuacu uc	22
	<210> 489	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 489	
	uguaaacauc cuacacucuc agc	23
50	<210> 490	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 490	
55	cugggagagg guuguuuacu cc	22
	<210> 491	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 491	
	cugggagaag gcuguuuacu cu	22
	<210> 492	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 492	

	uguaaacauc cccgacugga ag	22
	<210> 493	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 493	
	cuuucaguca gauguuugcu gc	22
	<210> 494	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 494	
	uguaaacauc cuugacugga ag	22
	<210> 495	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 495	
	cuuucagucg gauguuuaca gc	22
20	<210> 496	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 496	
25	aggcaaug cuggcauagc u	21
	<210> 497	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 497	
	ugcuaugcca acauuugcc au	22
	<210> 498	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 498	
	uauugcaca uacuaaguug ca	22
	<210> 499	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 499	
	cauuuagug ugugugauu uu	22
	<210> 500	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 500	
	aaaagcuggg uugagagggc ga	22
50	<210> 501	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 501	
55	aaaagcuggg uugagagggc aa	22
	<210> 502	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 502	
	aaaagcuggg uugagagggg	20
	<210> 503	
	<211> 19	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 503	

	aaaagcuggg uugagagga	19
	<210> 504	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 504	
	cacauuacac ggucgaccuc u	21
	<210> 505	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 505	
	aggugguccg uggcgcuuc gc	22
	<210> 506	
15	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 506	
	acugcccag gugcugcugg	20
20	<210> 507	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 507	
25	cgcaucccu agggcauugg ugu	23
	<210> 508	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 508	
	ccuaguaggu guccaguaag ugu	23
	<210> 509	
	<211> 20	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 509	
	ccucugggcc cuuccuccag	20
	<210> 510	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 510	
	cuggcccucu cugcccuucc gu	22
	<210> 511	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 511	
	aacacaccug guuaaccucu uu	22
50	<210> 512	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 512	
55	gcaaagcaca cggccugcag aga	23
	<210> 513	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 513 22	
	ucucugggcc ugugucuag gc	22
	<210> 514	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 514	

	gccccugggc cuauccuaga a	21
	<210> 515	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 515	
	cuagguauagg ucccagggau cc	22
	<210> 516	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 516	
	ucaagagcaa uaacgaaaaa ugu	23
	<210> 517	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 517 22	
	uuuuucauua uugcuccuga cc	22
20	<210> 518	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 518	
25	cuccuauaug augccuuucu uc	22
	<210> 519	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 519	
	gaacggcuuc auacaggagu u	21
	<210> 520	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 520	
	uccagcauca gugauuuugu ug	22
	<210> 521	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 521	
	aacaauauacc uggugcugag ug	22
	<210> 522	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 522	
	ugagcgccuc gacgacagag ccg	23
50	<210> 523	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 523	
55	ucccuguccu ccaggagcuc acg	23
	<210> 524	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 524	
	gugcauugua guugcauugc a	21
	<210> 525	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 525	

	caauguuucc acagugcauc ac	22
	<210> 526	
	<211> 20	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 526	
	gugcauugcu guugcauugc	20
	<210> 527	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 527	
	cagugccucg gcagugcagc cc	22
	<210> 528	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 528	
20	uuauaaagca augagacuga uu	22
	<210> 529	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 529	
25	uccgucucag uuacuuuaua gc	22
	<210> 530	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 530	
	ucucacacag aaaucgcacc cgu	23
	<210> 531	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 531	
	aggggugcua ucugugauug a	21
	<210> 532	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 532	
	gcugacuccu aguccagggc uc	22
	<210> 533	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 533	
	ugucugcccg caugccugcc ucu	23
50	<210> 534	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 534	
55	uggcaguguc uuagcugguu gu	22
	<210> 535	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 535	
	caaucagcaa guauacugcc cu	22
	<210> 536	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 536	

	caaucacuaa cuccacugcc au	22
	<210> 537	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 537	
	uaggcagugu cauuagcuga uug	23
	<210> 538	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 538	
	aaucacuaac cacacggcca gg	22
	<210> 539	
15	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 539	
	aggcagugua guuagcugau ugc	23
20	<210> 540	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 540	
25	ucccccaggu gugauucuga uuu	23
	<210> 541	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 541	
	uuaucagaau cuccaggggu ac	22
	<210> 542	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 542	
	aacacaccua uucaaggauu ca	22
	<210> 543	
	<211> 24	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 543	
	aauccuugga accuaggugu gagu	24
	<210> 544	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 544	
	aauugcacgg uauccaucug ua	22
50	<210> 545	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 545	
55	cggguggauc acgaugcaau uu	22
	<210> 546	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 546	
	uaaugcccu aaaaauccuu au	22
	<210> 547	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 547	

	aauugcacuu uagcaauggu ga	22
	<210> 548	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 548	
	acuguugcua auaugcaacu cu	22
	<210> 549	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 549	
	aaauauacau gguugaucuu u	21
	<210> 550	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 550	
	agaucgaccg uguuauauuc gc	22
20	<210> 551	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 551	
25	gccugcuggg guggaaccug gu	22
	<210> 552	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 552	
	aagugccgcc aucuuuugag ugu	23
	<210> 553	
	<211> 20	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 553	
	acucaaacug ugggggcacu	20
	<210> 554	
	<211> 23	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 554	
	aaagugcugc gacauuugag cgu	23
	<210> 555	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 555	
	gaagugcuuc gauuuugggg ugu	23
50	<210> 556	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 556	
55	acucaaaaug ggggcgcuuu cc	22
	<210> 557	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 557	
	uuauauaca accugauaag ug	22
	<210> 558	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 558	

	cuuaucagau uguauuguaa uu	22
	<210> 559	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 559	
	auauaaauaca accugcuaag ug	22
	<210> 560	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 560	
	cuuagcaggu uguauuauc u	22
	<210> 561	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 561	
	uuuguucguu cggcucgcu ga	22
20	<210> 562	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 562	
25	aucauagagg aaaauccacg u	21
	<210> 563	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 563	
	guagauucuc cuucaugag ua	22
	<210> 564	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 564	
	aucauagagg aaaauccaug uu	22
	<210> 565	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 565	
	aacauagagg aaaauccacg u	21
	<210> 566	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 566	
	aucacacaaa ggcaacuuu gu	22
50	<210> 567	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 567	
55	agagguugcc cuuggugaau uc	22
	<210> 568	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 568	
	acuggacuug gagucagaag g	21
	<210> 569	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 569	

	cuccugacuc cagguccugu gu	22
	<210> 570	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 570	
	ugguagacua uggaacguag g	21
	<210> 571	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 571	
	uauquaacau gguccacuaa cu	22
	<210> 572	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 572	
	uauquaauau gguccacauu uu	22
20	<210> 573	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 573	
25	ugguugacca uagaacaugc gc	22
	<210> 574	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 574	
	uauacaagg caagcucucu gu	22
	<210> 575	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 575	
	gaaguuguuc gugguggauu cg	22
	<210> 576	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 576	
	agaucagaag gugauugugg cu	22
	<210> 577	
45	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 577	
	auuccuagaa auuguucaua	20
50	<210> 578	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 578	
55	gaaguugcu cggugaaccc cu	22
	<210> 579	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 579	
	agguuaccg agcaacuug cau	23
	<210> 580	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 580	

	aauuaaacac agauggccug u	21
	<210> 581	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 581	
	uaguagaccg uauagcguac g	21
	<210> 582	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 582	
	uauguaacac gguccacuaa cc	22
	<210> 583	
15	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 583	
	acuucaccug guccacuagc cgu	23
20	<210> 584	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 584	
25	aucaacagac auuaauuggg cgc	23
	<210> 585	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 585	
	acuggacuua gggucagaag gc	22
	<210> 586	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 586	
	agcucggucu gaggccccuc agu	23
	<210> 587	
	<211> 23	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 587	
	ugaggggcag agagcgagac uuu	23
	<210> 588	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 588	
	cagcagcaau ucauguuuug aa	22
50	<210> 589	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 589	
55	caaaacguga ggcgcgucua u	21
	<210> 590	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 590	
	aaugacacga ucacucccg uga	23
	<210> 591	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 591	

aucgggaug ucguguccgc cc 22  
 <210> 592  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 5 <213> Homo sapiens  
 <400> 592  
 uaaauacuguc ugguaaaacc gu 22  
 <210> 593  
 <211> 21  
 10 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 593  
 ugucuugcag gccgucaugc a 21  
 <210> 594  
 <211> 22  
 15 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 594  
 caggucgucu ugcagggcuu cu 22  
 <210> 595  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 595  
 25 ucuuggagua ggucuuuggg ugg 23  
 <210> 596  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 596  
 30 cuggauggcu ccuccauguc u 21  
 <210> 597  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 35 <213> Homo sapiens  
 <400> 597  
 aucaugaugg gcucccgggu gu 22  
 <210> 598  
 <211> 22  
 40 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 598  
 uugcauauagu aggauguccc au 22  
 <210> 599  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 599  
 50 uggcagugua uuguuagcug gu 22  
 <210> 600  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 600  
 55 aggcagugua uuguuagcug gc 22  
 <210> 601  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 601 22  
 60 uuuugcgaug uguuccuau au 22  
 <210> 602  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 65 <213> Homo sapiens  
 <400> 602

	uugggaucau uuugcaucca ua	22
	<210> 603	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 603	
	uuuugcaua uguuccgaa ua	22
	<210> 604	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 604	
	aaaccguuac cauuacugag uu	22
	<210> 605	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 605	
	aacuguuugc agaggaaacu ga	22
20	<210> 606	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 606	
25	cucaucugca aagaaguaag ug	22
	<210> 607	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 607	
	agguuguccg uggugaguuc gca	23
	<210> 608	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 608	
	uagugcaua uugcuuauag ggu	23
	<210> 609	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 609	
	accuaucaa uauugucucu gc	22
45	<210> 610	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 610	
	gcaguccaug ggcauuaca c	21
50	<210> 611	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 611	
55	uauugccuu uggacuacau cg	22
	<210> 612	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 612	
	ucacuccucu ccuccgucu u	21
	<210> 613	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 613	

	aagacgggag gaaagaaggg ag	22
	<210> 614	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 614	
	ucaggcucag uccccuccg au	22
	<210> 615	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 615	
	gucauacacg gcucuccucu cu	22
	<210> 616	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 616	
	agaggcuggc cgugaugaau uc	22
20	<210> 617	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 617	
25	cggggcagcu caguacagga u	21
	<210> 618	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 618	
	uccuguacug agcugccccg ag	22
	<210> 619	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 619	
	aaucacuacag ggacauccag uu	22
	<210> 620	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 620	
	aaucguacag ggucauccac uu	22
	<210> 621	
45	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 621	
	uugaaaggcu auuucuuggu c	21
50	<210> 622	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 622	
55	cccagauaau ggcacucuca a	21
	<210> 623	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 623	
	gugacaucac auauacggca gc	22
	<210> 624	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 624	

	caaccuggag gacuccaucg ug	22
	<210> 625	
	<211> 20	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 625	
	ccauggaucu ccaggugggu	20
	<210> 626	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 626	
	cuaaugcaag auucccuucu ac	22
	<210> 627	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 627	
	aguggggaac ccuuccauga gg	22
20	<210> 628	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 628	
25	aggaccugcg ggacaagauu cuu	23
	<210> 629	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 629	
	ugaaggucua cugugugcca gg	22
	<210> 630	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 630	
	uuguacaugg uaggcuuca uu	22
	<210> 631	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 631	
	ugaacauac acgggaacc uc	22
	<210> 632	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 632	
	aaacaacau ggugcacuuc uu	22
50	<210> 633	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 633	
55	ugaguauuac auggccauc uc	22
	<210> 634	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 634	
	cagcagcaca cugugguuug u	21
	<210> 635	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 635	

	caaaccacac ugugguguua ga	22
	<210> 636	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 636	
	uuucaagcca gggggcguu uuc	23
	<210> 637	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 637	
	aaucaacag caagucugug cu	22
	<210> 638	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 638	
	uuagacuug cagugaugu u	21
20	<210> 639	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 639	
25	uaauccuugc uaccuggug aga	23
	<210> 640	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 640	
	augcaccugg gcaaggauuc ug	22
	<210> 641	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 641	
	aaugcaccgg ggcaaggauu cu	22
	<210> 642	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 642	
	aauccuuugu cccuggguga ga	22
	<210> 643	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 643	
	aaugcaccug ggcaaggauu ca	22
50	<210> 644	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 644	
55	auccuugcua ucugggugcu a	21
	<210> 645	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 645	
	uagcagcggg aacaguucug cag	23
	<210> 646	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 646	

	agacc <u>cg</u> gu cugcacucua uc	22
	<210> 647	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 647	
	cg <u>u</u> caacacu ugc <u>g</u> guuuc cu	22
	<210> 648	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 648	
	gggagccagg aaguau <u>g</u> au gu	22
	<210> 649	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 649	
	uaaggc <u>ac</u> cc uuc <u>g</u> aguag a	21
20	<210> 650	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 650	
25	uuu <u>g</u> caccu uu <u>g</u> gaguga a	21
	<210> 651	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 651	
	u <u>g</u> au <u>g</u> uagc cuuu <u>g</u> gagu aga	23
	<210> 652	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 652	
	uacuccagag ggc <u>g</u> ucacuc aug	23
	<210> 653	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 653	
	uac <u>g</u> cagac guggca <u>u</u> ca ug	22
	<210> 654	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 654	
	u <u>g</u> au <u>g</u> guac gu <u>c</u> ug <u>g</u> gu ag	22
50	<210> 655	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 655	
55	uac <u>g</u> cagac ag <u>u</u> ggca <u>u</u> ca a	21
	<210> 656	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 656	
	uacucaggag ag <u>u</u> ggca <u>u</u> ca ac	22
	<210> 657	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 657	

	gugucuuuug cucugcaguc a	21
	<210> 658	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 658	
	aagugcuguc auagcugagg uc	22
	<210> 659	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 659	
	cacucagccu ugagggcacu uuc	23
	<210> 660	
15	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 660	
	uaaauuucac cuuucugaga agg	23
20	<210> 661	
	<211> 18	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 661	
25	uucacagga ggugucau	18
	<210> 662	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 662	
	uucacaagga ggugucauu au	22
	<210> 663	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 663	
	uucucaagga ggugucguu au	22
	<210> 664	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 664	
	auugacacu cugugaguag a	21
	<210> 665	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 665	
	gagugccuuc uuuuggagcg uu	22
50	<210> 666	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 666	
55	uucuccaaaa gaaagcacu ucug	24
	<210> 667	
	<211> 18	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 667	
	ugcuuccuuu cagaggu	18
	<210> 668	
	<211> 23	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 668	

	uucucgagga aagaagcacu uuc	23
	<210> 669	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 669	
	aucuggaggu aagaagcacu uu	22
	<210> 670	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 670	
	ccucuagaug gaagcacugu cu	22
	<210> 671	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 671	
	aucgugcauc cccuuagagu gu	22
20	<210> 672	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 672	
25	ucgugcaucc cccuuagagug uu	22
	<210> 673	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 673	
	aucgugcauc cccuuagagu gu	22
	<210> 674	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 674	
	gaaagcgcuu cccuuugcug ga	22
	<210> 675	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 675	
	caaagcguc cccuuagag gu	22
	<210> 676	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 676	
	caaagcgcuu cucuuagag ugu	23
50	<210> 677	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 677	
55	ucucuggagg gaagcacuuu cug	23
	<210> 678	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 678	
	caaagcgcuu cccuuuggag c	21
	<210> 679	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 679	

	cucuagaggg aagcacuuuc ug	22
	<210> 680	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 680	
	aaagcgcuuc ccuucagagu g	21
	<210> 681	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 681	
	gaaagcgcuu cucuuuagag g	21
	<210> 682	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 682	
20	cucuagaggg aagcacuuuc uc	22
	<210> 683	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 683	
25	aaagugcauc cuuuuagagu gu	22
	<210> 684	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 684	
	cucuagaggg aagcgcuuuc ug	22
	<210> 685	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 685	
	aaagugcauc cuuuuagagg uu	22
	<210> 686	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 686	
	aaagugcauc uuuuuagagg au	22
	<210> 687	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 687	
	caaagugccu cccuuuagag ug	22
50	<210> 688	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 688	
55	aagugccucc uuuuagagug uu	22
	<210> 689	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 689	
	uucuccaaaa gggagcacuu uc	22
	<210> 690	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 690	

	aaagugcuuc cccuuggacu gu	22
	<210> 691	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 691	
	cuccagaggg aaguacuuuc u	21
	<210> 692	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 692	
	aaagugcuuc cuuuuagagg g	21
	<210> 693	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 693	
	aaagugcuuc cuuuuagagg gu	22
20	<210> 694	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 694	
25	aaagugcuuc uccuuggugg gu	22
	<210> 695	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 695	
	cuacaaaggg aagcccuuc	20
	<210> 696	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 696	
	aaagugcuuc cuuuuagagg g	21
	<210> 697	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 697	
	aagugcuucc uuuuagaggg uu	22
	<210> 698	
45	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 698	
	acaaagugcu uccuuuaga gugu	24
50	<210> 699	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 699	
55	acaaagugcu uccuuuaga gu	22
	<210> 700	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 700	
	aacgcacuuc cccuuagagu gu	22
	<210> 701	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 701	

	aaaaugguuc ccuuuagagu gu	22
	<210> 702	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 702	
	gaacgcgcuu ccuauagag ggu	23
	<210> 703	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 703	
	gaaggcgcuu cccuuaggag u	21
	<210> 704	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 704	
	cuacaaaggg aagcacuuuc uc	22
20	<210> 705	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 705	
25	gaaggcgcuu cccuuuagag cg	22
	<210> 706	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 706	
	cuccagaggg augcacuuuc u	21
	<210> 707	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 707	
	cucuugaggg aagcacuuuc ugu	23
	<210> 708	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 708	
	gaaagugcuu ccuuuagag gc	22
	<210> 709	
45	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 709	
	cugcaaaggg aagcccuuc	20
50	<210> 710	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 710	
55	ccucccacac ccaaggcuug ca	22
	<210> 711	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 711	
	caugccuuga guguaggacc gu	22
	<210> 712	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 712	

	ggagaaaua uccuuggugu gu	22
	<210> 713	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 713	
	uggugggcac agaaucugga cu	22
	<210> 714	
	<211> 25	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 714	
	aaaggauucu gcugucgguc ccacu	25
	<210> 715	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 715	
	ugugacagau ugauaacuga aa	22
20	<210> 716	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 716	
25	ucggggauca ucaugucacg aga 23	
	<210> 717	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 717	
	aaacauucgc ggugcacuuc uu	22
	<210> 718	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 718	
	auucugcauu uuuagcaagu uc	22
	<210> 719	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 719	
	ucagcaaaca uuuauugugu gc	22
	<210> 720	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 720	
	ucaguaaaug uuuuuagau ga	22
50	<210> 721	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 721	
55	caaaacuggc aauuacuuuu gc	22
	<210> 722	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 722	
	aaaaguaauu gcgaguuuua cc	22
	<210> 723	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 723	

caagaaccuc aguugcuuuu gu 22  
 <210> 724  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 5 <213> Homo sapiens  
 <400> 724  
 aaaaguaauu gugguuuugg cc 22  
 <210> 725  
 <211> 22  
 10 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 725  
 caaaaucuc aauuacuuuu gc 22  
 <210> 726  
 <211> 22  
 15 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 726  
 aaaaguaauu gcgguuuuug cc 22  
 <210> 727  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 727  
 25 caaaaaccac aguuucuuuu gc 22  
 <210> 728  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 728  
 30 aaaaguaauu gugguuuuug cc 22  
 <210> 729  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 35 <213> Homo sapiens  
 <400> 729  
 aaaacugag acuacuuuug ca 22  
 <210> 730  
 <211> 19  
 40 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 730  
 aaaacugua auuacuuuu 19  
 <210> 731  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 731  
 50 aaaacuguaa uuacuuuugu ac 22  
 <210> 732  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 732  
 55 aaaaguaauc gcgguuuuug uc 22  
 <210> 733  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 733  
 60 aaaaguaauu gcggauuuug cc 22  
 <210> 734  
 <211> 22  
 <212> ARN  
 65 <213> Homo sapiens  
 <400> 734

	aaaaguaauu gcggucuuug gu	22
	<210> 735	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 735	
	aaaaguacuu gcggauuuug cu	22
	<210> 736	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 736	
	aaaaguauuu gcggguuuug uc	22
	<210> 737	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 737	
	caaagguauu ugugguuuuu g	21
20	<210> 738	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 738	
25	caaaguaau uguggauuuu gu	22
	<210> 739	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 739	
	ccaaaacugc aguuacuuuu gc	22
	<210> 740	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 740	
	uagcaaaaac ugcaguuacu uu	22
	<210> 741	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 741	
	ugacaacuau ggaugagcuc u	21
45	<210> 742	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 742	
	agugccugag ggaguaagag ccc	23
50	<210> 743	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 743	
55	ugucuuaucuc ccucaggcac au	22
	<210> 744	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 744	
	gcgaccacu cuugguuucc a	21
	<210> 745	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 745	

	gcgacccaua cuugguuuca g	21
	<210> 746	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 746	
	gaaaucaagc guggugaga cc	22
	<210> 747	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 747	
	aacaggugac ugguuagaca a	21
	<210> 748	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 748	
	aaaacgguga gauuuuguuu u	21
20	<210> 749	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 749	
25	gcuaguccug acucagccag u	21
	<210> 750	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 750	
	aggguaagcu gaaccucuga u	21
	<210> 751	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 751	
	auuuuaccuu uagcucaucu uu	22
	<210> 752	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 752	
	gaugagcuca uuguauaug ag	22
	<210> 753	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 753	
	guuugcacgg gugggcuug ucu	23
50	<210> 754	
	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 754	
55	ugagcugcug uacccaaa	19
	<210> 755	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 755	
	uaaaguauuu augcaccaaa a	21
	<210> 756	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 756	

	caaaguuuaa gauccuugaa gu	22
	<210> 757	
	<211> 20	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 757	
	aaaguagcug uaccuuugc	20
	<210> 758	
	<211> 19	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 758	
	agguugacau acguuuccc	19
	<210> 759	
15	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 759	
	aggcacggug ucagcaggc	19
20	<210> 760	
	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 760	
25	gggcgccugu gaucccaac	19
	<210> 761	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 761	
	aguauguucu uccaggacag aac	23
	<210> 762	
	<211> 20	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 762	
	auguaaaaau guauacacac	20
	<210> 763	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 763	
	aguuaaugaa uccuggaaag u	21
	<210> 764	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 764	
	cgaaaacagc aauuacuuu gc	22
50	<210> 765	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 765	
55	ugaguuggcc aucugaguga g	21
	<210> 766	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 766	
	guccgcucgg cgguggccca	20
	<210> 767	
	<211> 24	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 767	

	cugaagugau guguaacuga ucag	24
	<210> 768	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 768	
	cacgcucaug cacacacca ca	22
	<210> 769	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 769	
	ugagugugug ugugugagug ugu	23
	<210> 770	
15	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 770	
	gagccaguug gacaggagc	19
20	<210> 771	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 771	
25	aagaugugga aaaauggaa uc	22
	<210> 772	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 772	
	auucuaauuu cuccacgucu uu	22
	<210> 773	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 773	
	uagauaaaau auugguaccu g	21
	<210> 774	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 774	
	cuucuugugc ucuaggauug u	21
	<210> 775	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 775	
	uucuuuggu aaaaaccgcg auu	23
50	<210> 776	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 776	
55	uugagaauga ugaaucauua gg	22
	<210> 777	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 777	
	ucuuguguuc ucuagaucag u	21
	<210> 778	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 778	

	uaacugguug aacaacugaa cc	22
	<210> 779	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 779	
	uuacaguugu ucaaccaguu acu	23
	<210> 780	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 780	
	caaagaggaa ggucccauaa c	21
	<210> 781	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 781	
	uuauugguuug ccugggacug ag	22
20	<210> 782	
	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 782	
25	ugggcguauc uguaugcua	19
	<210> 783	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 783	
	uauugcauugu auuuuuaggu cc	22
	<210> 784	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 784	
	uuuccauagg ugaugaguca c	21
	<210> 785	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 785	
	uuggccacaa ugguuagaa c	21
	<210> 786	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 786	
	ugagaaccac gucugcucug ag	22
50	<210> 787	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 787	
55	ucagaacaaa ugccguucc caga	24
	<210> 788	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 788	
	uaauuuuauug uauaagcuag u	21
	<210> 789	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 789	

	gagcuuauuc auaaaagugc ag	22
	<210> 790	
	<211> 20	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 790	
	agaccauggg uucucauugu	20
	<210> 791	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 791	
	uugugucaau augcgaugau gu	22
	<210> 792	
15	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 792	
	ugucucugcu gggguuucu	19
20	<210> 793	
	<211> 25	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 793	
25	aggcaccagc caggcauugc ucagc	25
	<210> 794	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 794	
	gaagugugcc gugguguguc u	21
	<210> 795	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 795	
	aagccugccc ggcuccucgg g	21
	<210> 796	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 796	
	ugugucacuc gaugaccacu gu	22
	<210> 797	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 797	
	uacgucaucg uugucaucgu ca	22
50	<210> 798	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 798	
55	guugugucag uuuaucaaac	20
	<210> 799	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 799	
	acuuacagac aagagccuug cuc	23
	<210> 800	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 800	

	uggucuagga uuguuggagg ag	22
	<210> 801	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 801	
	gacacgggcg acagcugcgg ccc	23
	<210> 802	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 802	
	cacacacugc aauuacuuuu gc	22
	<210> 803	
15	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 803	
	aggcugcggg auucaggac	19
20	<210> 804	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 804	
25	uaaaucccau ggugccuucu ccu	23
	<210> 805	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 805	
	aaacuacuga aaaucaaga u	21
	<210> 806	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 806	
	guucaaaucc agaucuauaa c	21
	<210> 807	
	<211> 25	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 807	
	agggguggug uugggacagc uccgu	25
	<210> 808	
45	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 808	
	aggguguuuc ucucaucucu	20
50	<210> 809	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 809	
55	ugagcuaaau gugugcuggg a	21
	<210> 810	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 810 23	
	gcgaggaccc cucggggucu gac	23
	<210> 811	
	<211> 25	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 811	

	gcugggcagg gcuucugagc uccuu	25
	<210> 812	
	<211> 20	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 812	
	aggaauguuc cuucuuugcc	20
	<210> 813	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 813	
	gaacgccugu ucuugccagg ugg	23
	<210> 814	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 814	
	uccgagccug ggucuccuc uu	22
20	<210> 815	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 815	
25	gggggucccc ggugcucgga uc	22
	<210> 816	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 816	
	agucuuugga ggguuugagc ag	22
	<210> 817	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 817	
	acucaaaacc cuucagugac uu	22
	<210> 818	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 818 22	
	agacuuccca uuugaaggug gc	22
	<210> 819	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 819 23	
	aaacucuacu uguccuucug agu	23
50	<210> 820	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 820 24	
55	gaccuggaca uguuugugcc cagu	24
	<210> 821	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 821	
	auaggauag auauagaaau	20
	<210> 822	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 822 21	

	ggcuagcaac agcgcuuacc u	21
	<210> 823	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 823 21	
	acagucugcu gagguuggag c	21
	<210> 824	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 824	
	aucuccuugca ggggcuguug ggu	23
	<210> 825	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 825	
	cacaagguau ugguuuuacc u	21
20	<210> 826	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 826	
25	uaguaccagu accuuguguu ca	22
	<210> 827	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 827	
	aggggggaaag uucuauaguc c	21
	<210> 828	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 828	
	gacuauagaa cuuuccccu ca	22
	<210> 829	
	<211> 19	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 829	
	agcugucuga aaaugucuu	19
	<210> 830	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 830	
	gugagucucu aagaaaagag ga	22
50	<210> 831	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 831	
55	ucuaguaaga guggcagucg a	21
	<210> 832	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 832	
	augcugacau auuuacuaga gg	22
	<210> 833	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 833	

	uggguuuacg uugggagaac u	21
	<210> 834	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 834	
	guucucccaa cguaagccca gc	22
	<210> 835	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 835	
	aguauucugu accaggaag gu	22
	<210> 836	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 836	
	agaccuggcc cagaccucag c	21
20	<210> 837	
	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 837	
25	gugucugcuu ccugugga	19
	<210> 838	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 838	
	cuaauaguau cuaccacaau aaa	23
	<210> 839	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 839	
	aaccagcacc ccaacuuugg ac	22
	<210> 840	
	<211> 23	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 840	
	acuugggcac ugaacaaug ucc	23
	<210> 841	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 841	
	ugugcuugcu cgucccgccc gca	23
50	<210> 842	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 842	
55	acugggggcu uucgggcucu gcgu	24
	<210> 843	
	<211> 25	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 843	
	agggaucgcg ggcggguggc ggccu	25
	<210> 844	
	<211> 23	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 844	

	aucgcugcgg uugcgagcgc ugu	23
	<210> 845	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 845	
	augauccagg aaccugccuc u	21
	<210> 846	
	<211> 24	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 846	
	aaagacauag gauagaguca ccuc	24
	<210> 847	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 847	
	guccucucc aaaugugucu ug	22
20	<210> 848	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 848	
25	acuugaugc uagcucaggu ag	22
	<210> 849	
	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 849	
	aguguggcuu ucuagagc	19
	<210> 850	
	<211> 19	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 850	
	ucuaggcugg uacugcuga	19
	<210> 851	
	<211> 19	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 851	
	aagcagcugc cucugaggc	19
	<210> 852	
45	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 852	
	guggcugcac ucacuuccu c	21
50	<210> 853	
	<211> 19	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 853	
55	aagugucag ggcacuggu	19
	<210> 854	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 854	
	aaaccugugu uguucaagag uc	22
	<210> 855	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 855	

	aggaggcagc gcucucagga c	21
	<210> 856	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 856	
	uuuaggauaa gcuugacuuu ug	22
	<210> 857	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 857	
	aauggcgcca cuagguugu g	21
	<210> 858	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 858	
	guguugaaac aaucucuacu g	21
20	<210> 859	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 859	
25	uaugucugcu gaccaucacc uu	22
	<210> 860	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 860	
	uggugggccg cagaacaugu gc	22
	<210> 861	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 861	
	auaaauacaug guuaaccucu uu	22
	<210> 862	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 862	
	aaauuuauac agucaaccuc u	21
	<210> 863	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 863	
	ggcagguucu caccucucu agg	23
50	<210> 864	
	<211> 25	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 864	
55	ggcggagga aguagguccg uuggu	25
	<210> 865	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 865	
	cuugguucag ggagguucc ca	22
	<210> 866	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 866	

	uaccgauugc auaucggagu ug	22
	<210> 867	
	<211> 24	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 867	
	ugccuggguc ucuggccugc gcgu	24
	<210> 868	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 868	
	ucccacguug uggcccagca g	21
	<210> 869	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 869	
	aggcggggcg cgcgggacc gc	22
20	<210> 870	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 870	
25	gguggcccgg ccgugccuga gg	22
	<210> 871	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 871	
	uauucauuua uccccagccu aca	23
	<210> 872	
	<211> 24	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 872	
	acuggcuagg gaaaaugauu ggau	24
	<210> 873	
	<211> 20	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 873	
	accaggaggc ugaggcccu	20
	<210> 874	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 874	
	ugucacucgg cucggcccac uac	23
50	<210> 875	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 875	
55	uccgguucuc agggcuccac c	21
	<210> 876	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 876	
	aggaagcccu ggaggggcug gag	23
	<210> 877	
	<211> 23	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 877	

	uggugcggag agggcccaca gug	23
	<210> 878	
	<211> 20	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 878	
	cuguaugccc ucaccgcuca	20
	<210> 879	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 879	
	uggaagacua gugauuuugu ugu	23
	<210> 880	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 880	
20	caacaaauca cagucugcca ua	22
	<210> 881	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 881	
25	caacaaaucc cagucuaccu aa	22
	<210> 882	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 882	
	aaggagcuua caaucuagcu ggg	23
	<210> 883	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 883	
	caacuagacu gugagcuucu ag	22
	<210> 884	
	<211> 17	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 884	
	ucucgcuggg gccucca	17
	<210> 885	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 885	
50	ugcggggcua gggcuaacag ca	22
	<210> 886	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 886	
55	cuguugccac uaaccucaac cu	22
	<210> 887	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 887	
	uuugugaccu gguccacuaa cc	22
	<210> 888	
	<211> 20	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 888 20	

	cggcucuggg ucuguggga	20
	<210> 889	
	<211> 21	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 889	
	uggaggagaa ggaaggugau g	21
	<210> 890	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 890	
	acuccagccc cacagccuca gc	22
	<210> 891	
15	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 891	
	ucugcucuaa cccaugguu ucu	23
20	<210> 892	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 892	
25	ugcaccaugg uugucugagc aug	23
	<210> 893	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 893	
	cugggaucuc cggggucuug guu	23
	<210> 894	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 894	
	ugagaccucu gguucugag cu	22
	<210> 895	
	<211> 23	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 895	
	uccaguacca cgugucaggg cca	23
	<210> 896	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 896	
	caguaacaaa gauucauccu ugu	23
50	<210> 897	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 897	
55	gcaggaacuu gugagucucc u	21
	<210> 898	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 898	
	cugcccuggc cggaggacc ga	22
	<210> 899	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 899	

	ccuggaaaca cugagguugu g	21
	<210> 900	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 900	
	uauaccucag uuuuaucagg ug	22
	<210> 901	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 901	
	uggugguuua caaaguaauu ca	22
	<210> 902	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 902	
	uggauuucu ugugaucac ca	22
20	<210> 903	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 903	
25	guagaggaga uggcgcaggg	20
	<210> 904	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 904	
	uccucuucuc ccuccucca g	21
	<210> 905	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 905	
	aggcagcggg guguagugga ua	22
	<210> 906	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 906	
	uccauuacac uaccugccu cu	22
	<210> 907	
45	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 907	
	cgcgggugcu uacugacccu u	21
50	<210> 908	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 908	
55	cgggucggag uuagcucaag cgg	23
	<210> 909	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 909	
	gugaacgggc gccaucccga gg	22
	<210> 910	
	<211> 21	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 910	

	uacucaaaaa gcugucaguc a	21
	<210> 911	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 911	
	gacugacacc ucuuugggug aa	22
	<210> 912	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 912	
	uuaauaucgg acaaccauug u	21
	<210> 913	
15	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 913	
	uacuuggaaa ggcaucaguu g	21
20	<210> 914	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 914	
25	ugcaacgaac cugagccacu ga	22
	<210> 915	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 915	
	ugcaacuac cugagucuu ga	22
	<210> 916	
	<211> 21	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 916	
	cacugugucc uuucgcgua g	21
	<210> 917	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 917	
	cacuggcucc uuucgggua ga	22
	<210> 918	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 918	
	ucuuugguua ucuagcagua uga	23
50	<210> 919	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 919	
55	auaaagcuag auaacgaaa gu	22
	<210> 920	
	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 920	
	ggggagcugu ggaagcagua	20
	<210> 921	
	<211> 25	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 921	

	cuagugaggg acagaaccag gauuc	25
	<210> 922	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 922	
	gcagcagaga auaggacuac guc	23
	<210> 923	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 923	
	gucagcggag gaaaagaac u	21
	<210> 924	
15	<211> 20	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 924	
	agagucuugu gaugucuugc	20
20	<210> 925	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 925	
25	uauugcacuu gucccggccu gu	22
	<210> 926	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 926	
	agguugggau cgguugcaau gcu	23
	<210> 927	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 927	
	ggguggggau uuguugcauu ac	22
	<210> 928	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 928	
	uauugcacuc gucccggccu cc	22
	<210> 929	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 929	
	agggacggga cgcgugcag ug	22
50	<210> 930	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 930	
55	caaagugcug uucgucagg uag	23
	<210> 931	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 931	
	acugcugagc uagcacuucc cg	22
	<210> 932	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 932	

	ugugcgcagg gagaccucuc cc	22
	<210> 933	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 933	
	ugucuacuac uggagacacu gg	22
	<210> 934	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 934	
	ccaguuaccg cuuccgcuac cgc	23
	<210> 935	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 935	
	acaguagagg gaggaaucgc ag	22
20	<210> 936	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 936	
25	auccgcgcuc ugacucucug cc	22
	<210> 937	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 937	
	ugcccuuaaa ggugaaccca gu	22
	<210> 938	
	<211> 24	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 938	
	uggggagcug aggcucuggg ggug	24
	<210> 939	
	<211> 21	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 939	
	aaggcagggc ccccgucucc c	21
	<210> 940	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 940	
	cacccggcug ugugcacaug ugc	23
50	<210> 941	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 941	
55	ucuucucugu uuuggccaug ug	22
	<210> 942	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
60	<400> 942	
	cugacuguug ccguccucca g	21
	<210> 943	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Homo sapiens	
	<400> 943	

	aaauuauugu acaucggaug ag	22
	<210> 944	
	<211> 22	
	<212> ARN	
5	<213> Homo sapiens	
	<400> 944	
	uucaacgggu auuuauugag ca	22
	<210> 945	
	<211> 23	
10	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 945	
	uuuggcacua gcacauuuuu gcu	23
	<210> 946	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 946	
	aaucaugugc agugccaaua ug	22
20	<210> 947	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 947	
25	ugagguagua aguuguauug uu	22
	<210> 948	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
30	<400> 948	
	aacccguaga uccgaucuug ug	22
	<210> 949	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Homo sapiens	
	<400> 949	
	caagcucgcu ucuauugguc ug	22
	<210> 950	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 950	
	cacccguaga accgaccuug cg	22
	<210> 951	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 951	
	caagcucgug ucugugguc cg	22
50	<210> 952	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Virus del herpes simple 1	
	<400> 952	
55	uggaaggacg ggaaguggaa g	21
	<210> 953	
	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Virus del herpes simple 1	
60	<400> 953	
	ccugagccag ggacgaguc gacu	24
	<210> 954	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Virus del herpes simple 1	
	<400> 954	

	ucgcacgcgc cggcacaga cu	22
	<210> 955	
	<211> 20	
	<212> ARN	
5	<213> Virus del herpes simple 1	
	<400> 955	
	cugggacugu gcgguugga	20
	<210> 956	
	<211> 22	
10	<212> ARN	
	<213> Virus del herpes simple 1	
	<400> 956	
	cuugccuguc uaacucgcu gu	22
	<210> 957	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus del herpes simple 1	
	<400> 957	
	gguagaguuu gacaggaag ca	22
20	<210> 958	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Virus del herpes simple 1	
	<400> 958	
25	gucagagauc caaacccucc gg	22
	<210> 959	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Virus del herpes simple 1	
30	<400> 959	
	cacuucccggu ccuuccaucc c	21
	<210> 960	
	<211> 23	
	<212> ARN	
35	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 960	
	auuacaggaa acugggugua agc	23
	<210> 961	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 961	
	uaguguuguc cccccgagug gc	22
	<210> 962	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 962	
	ugguguuguc cccccgagug gc	22
50	<210> 963	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 963	
55	uuauugcuua gccugugucc ga	22
	<210> 964	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
60	<400> 964	
	accaggccac cauuccuc cg	22
	<210> 965	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 965	

	aacuguaguc cgggucgauc ug	22
	<210> 966	
	<211> 23	
	<212> ARN	
5	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 966	
	ucacauucug aggacggcag cga	23
	<210> 967	
	<211> 21	
10	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 967	
	ucgcgguac agaaugugac a	21
	<210> 968	
15	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 968	
	uagaauucug aggccuagcu ga	22
20	<210> 969	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 969	
25	agcuaaacg caguacucua gg	22
	<210> 970	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
30	<400> 970	
	uaggaugccu ggaacuugcc gg	22
	<210> 971	
	<211> 22	
	<212> ARN	
35	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 971	
	ugaugguuuu cgggcuguug ag	22
	<210> 972	
	<211> 22	
40	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 972	
	ccagcagcac cuaaucauc gg	22
	<210> 973	
45	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 973	
	ugaucccaug uugcuggcgc u	21
50	<210> 974	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 974	
55	uaggcgcgac ugagagagca cg	22
	<210> 975	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
60	<400> 975	
	cuggguauac gcagcugcgu aa	22
	<210> 976	
	<211> 22	
	<212> ARN	
65	<213> Herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi	
	<400> 976	

	acccagcugc guaaacccc cu	22
	<210> 977	
	<211> 14	
	<212> ADN	
5	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
10	<222> (1)..(14)	
	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato,	
	<400> 977	
	cacgattagc atta 14	
	<210> 978	
15	<211> 6	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
20	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(6)	
	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato,	
	<400> 978	
25	gcatta	6
	<210> 979	
	<211> 7	
	<212> ADN	
	<213> artificial	
30	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(7)	
35	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato,	
	<400> 979	
	agcatta	7
	<210> 980	
	<211> 10	
40	<212> ADN	
	<213> artificial	
	<220>	
	<223> Oligómero de LNA	
	<220>	
45	<221> misc_feature	
	<222> (1)..(10)	
	<223> LNA completo y enlaces fosforotioato,	
	<400> 980	
	attagcatta	10
50		

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Un oligómero de una longitud de 7-10 bases nucleotídicas, que comprende una secuencia de bases nucleotídicas contigua de 7-10 bases nucleotídicas, en el que al menos el 70 % de las unidades de bases nucleotídicas del oligómero son unidades de bases nucleotídicas de ácido nucleico bloqueado (LNA) y en el que el oligómero comprende al menos un enlace fosforotioato y en el que el oligómero es para uso en la reducción de la cantidad eficaz de un microARN diana en una célula u organismo.
- 10 2. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 1, en el que al menos el 75 % de los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de bases nucleotídicas de la secuencia de bases nucleotídicas contigua son enlaces internucleosídicos fosforotioato.
- 15 3. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 1, en el que todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de bases nucleotídicas de la secuencia de bases nucleotídicas contigua son enlaces internucleosídicos fosforotioato.
- 20 4. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende una unidad de LNA en el extremo 3' y una unidad de LNA en el extremo 5'.
- 25 5. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que todas las unidades de bases nucleotídicas de la secuencia de bases nucleotídicas contigua son unidades de bases nucleotídicas de LNA.
6. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que la secuencia de bases nucleotídicas contigua comprende una secuencia que es complementaria a la secuencia semilla de una secuencia de microARN de mamífero, humano o viral.
- 30 7. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el oligómero consiste en una secuencia de bases nucleotídicas contigua de 7 bases nucleotídicas de LNA, en el que todos los enlaces internucleosídicos son fosforotioato.
- 35 8. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el oligómero consiste en una secuencia de bases nucleotídicas contigua de 8 bases nucleotídicas de LNA, en el que todos los enlaces internucleosídicos son fosforotioato.
- 40 9. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que el oligómero consiste en una secuencia de bases nucleotídicas contigua de 9 bases nucleotídicas de LNA, en el que todos los enlaces internucleosídicos son fosforotioato.
- 45 10. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que el oligómero consiste en una secuencia de bases nucleotídicas contigua de 10 bases nucleotídicas de LNA, en el que todos los enlaces internucleosídicos son fosforotioato.
11. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso como medicamento.
12. Un procedimiento *in vitro* para reducir la cantidad eficaz de un microARN diana en una célula, que comprende administrar una composición que comprende el oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10 para reducir la cantidad eficaz del microARN en la célula.

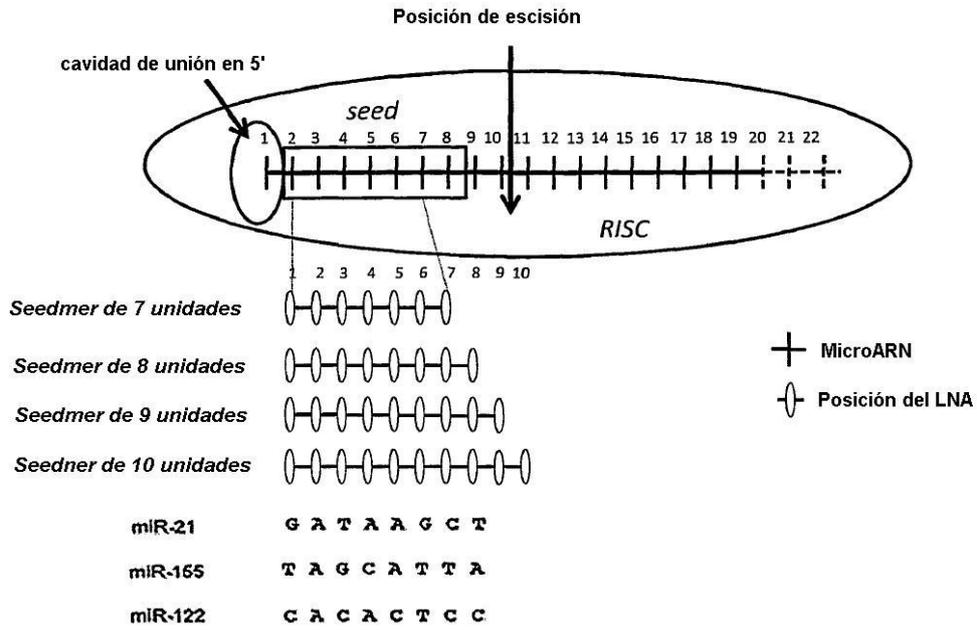


Figura 1

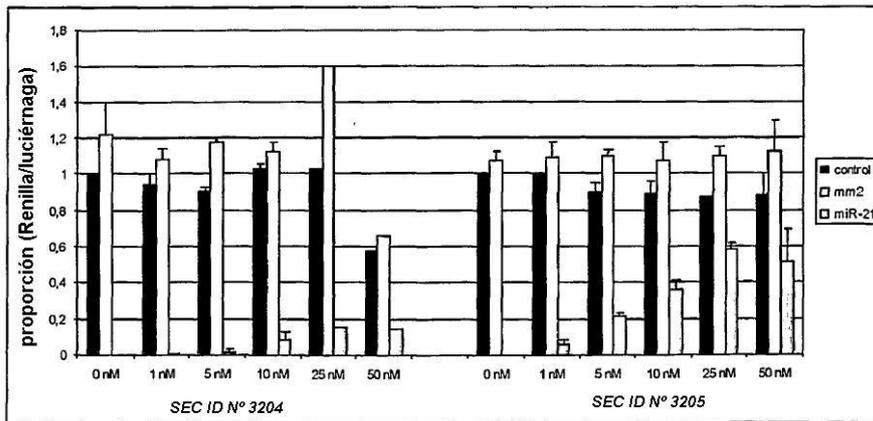


Figura 2

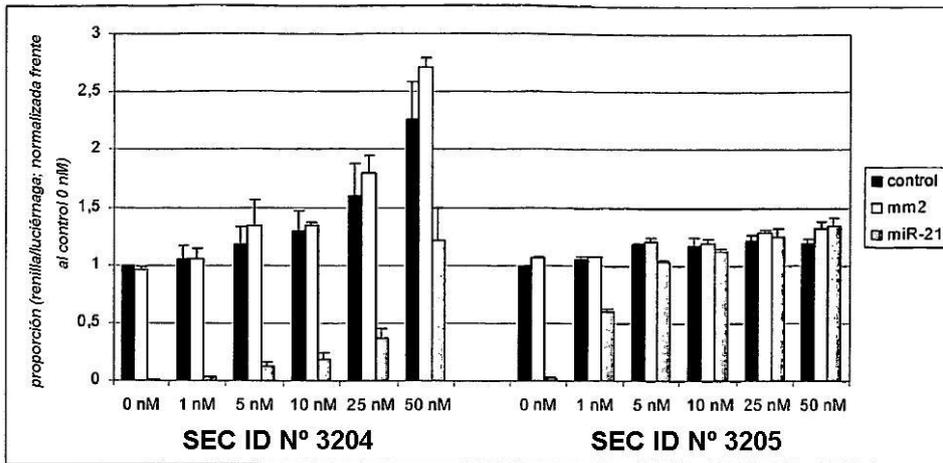


Figura 3

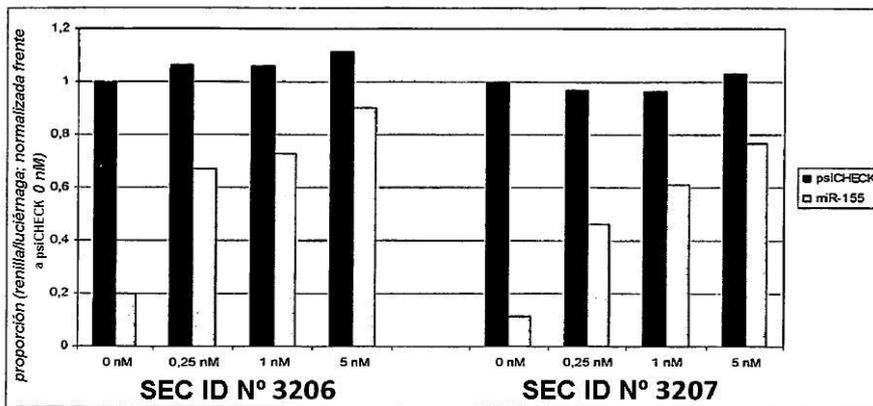


Figura 4

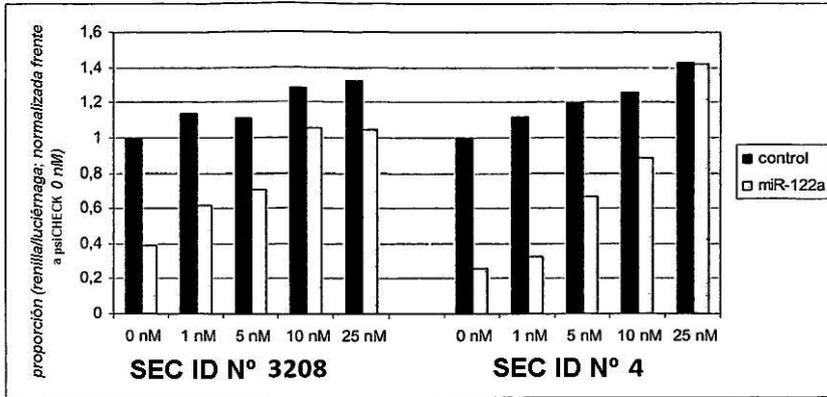


Figura 5

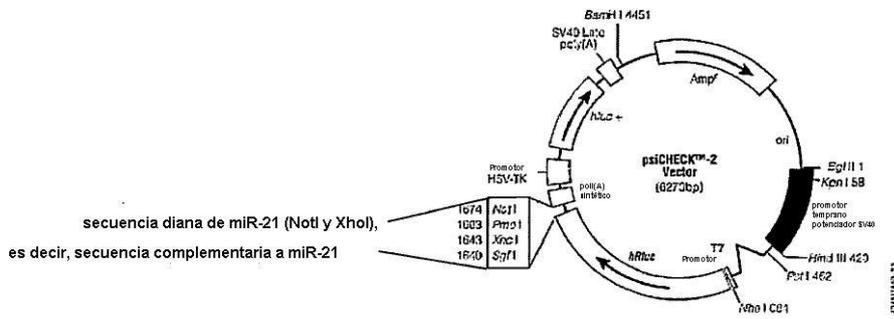


Figura 6

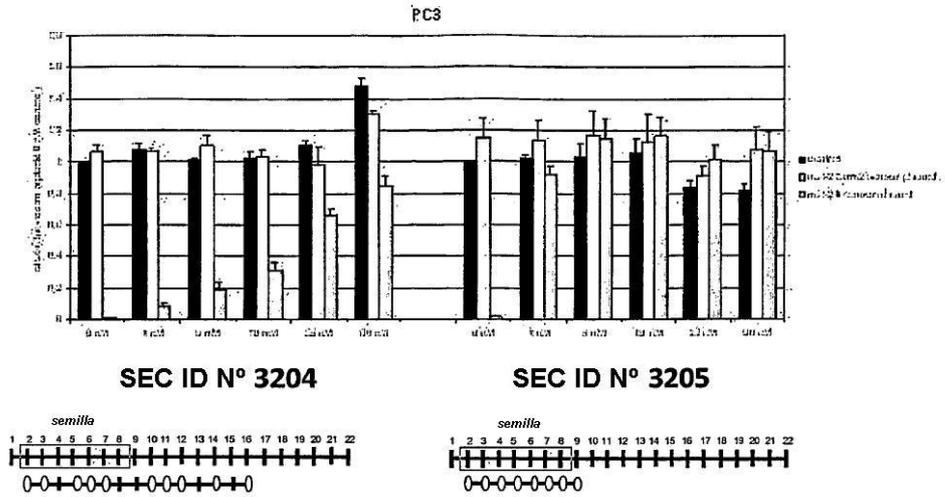


Figura 7

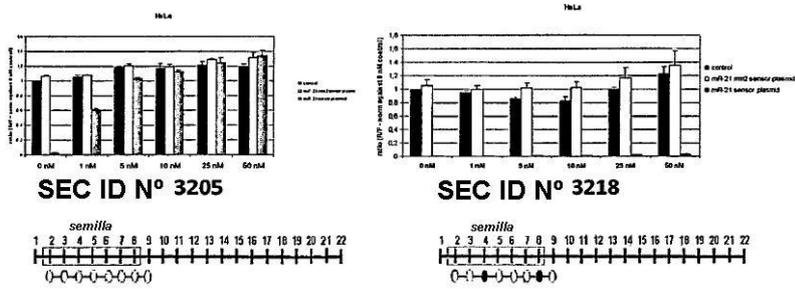


Figura 8

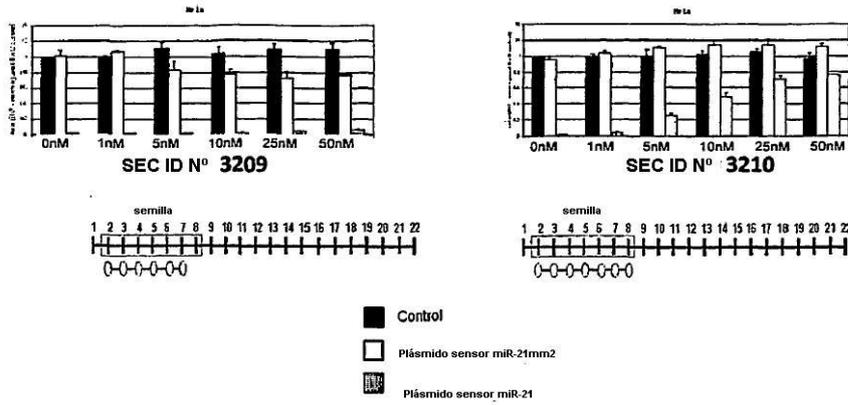


Figura 9

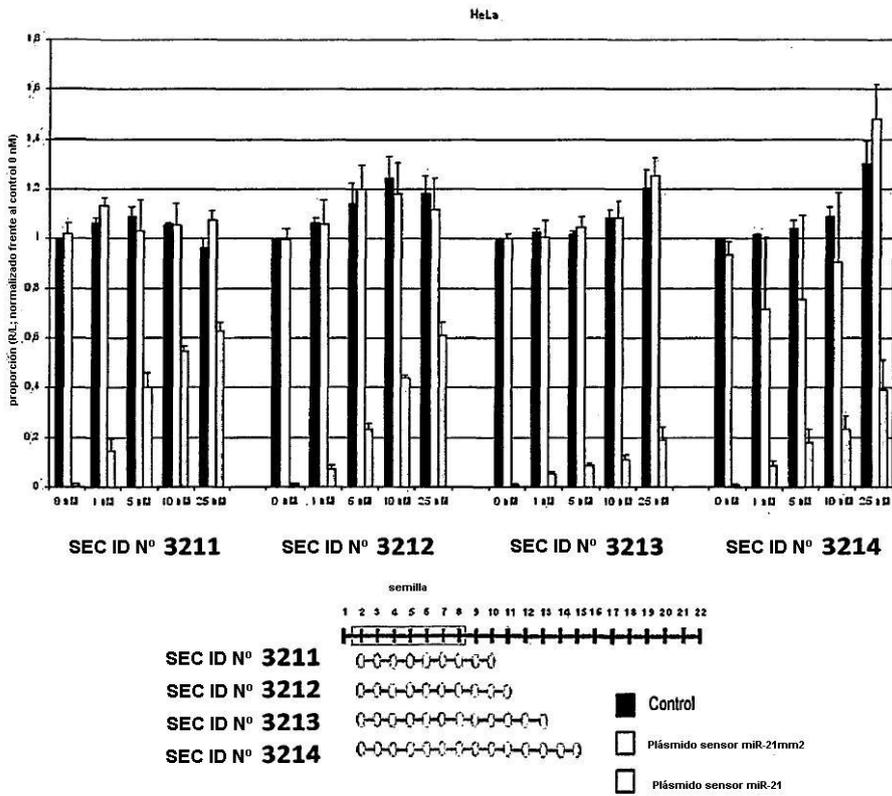


Figura 10

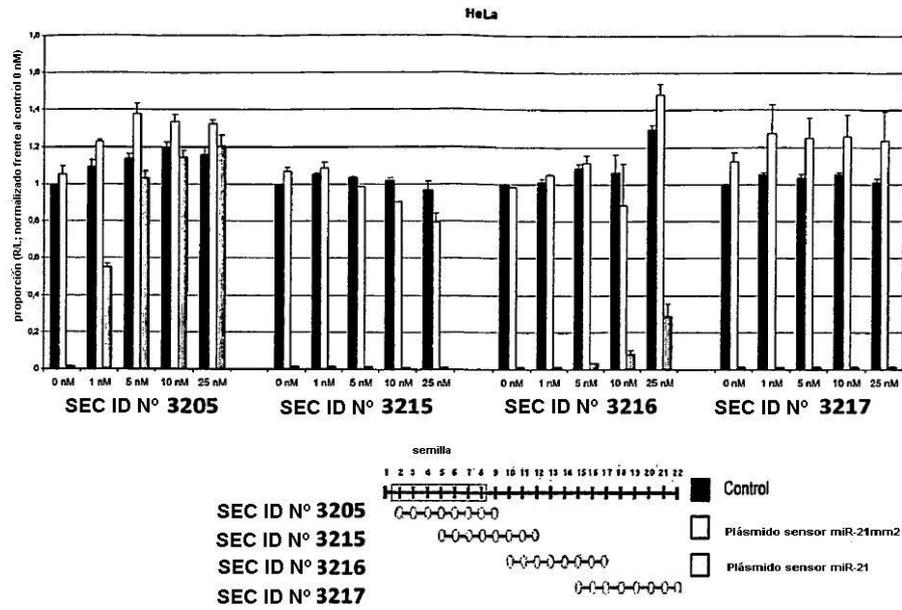


Figura 11

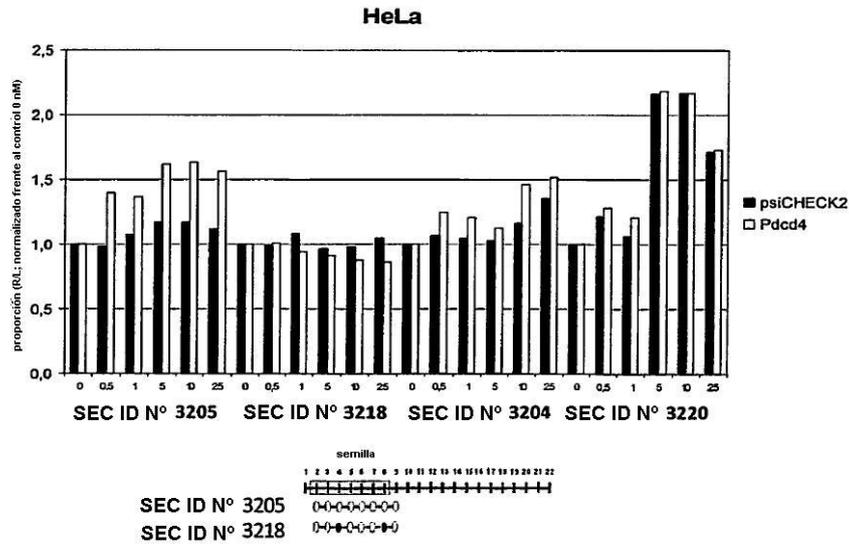


Figura 12

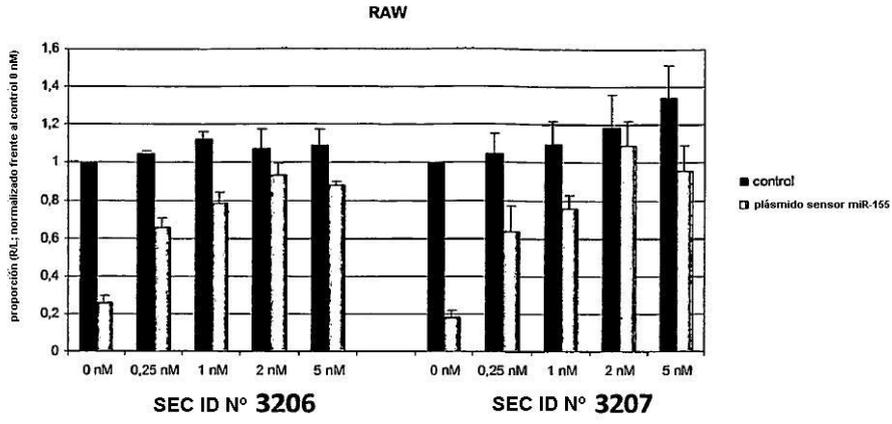


Figura 13

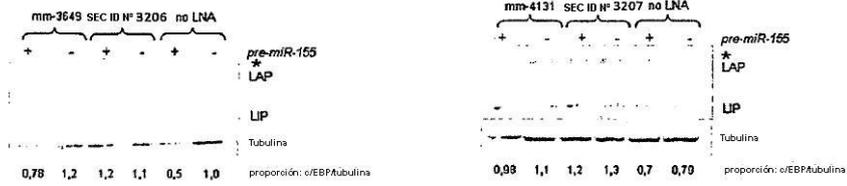
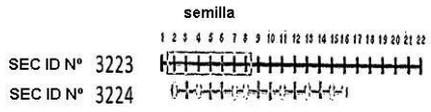
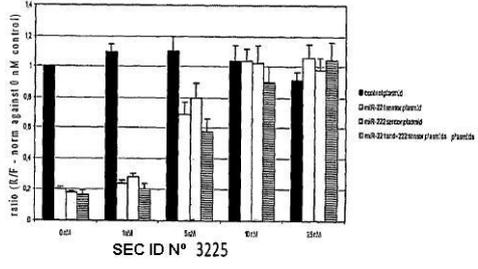
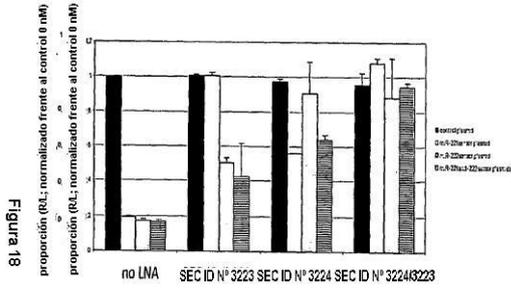


Figura 14







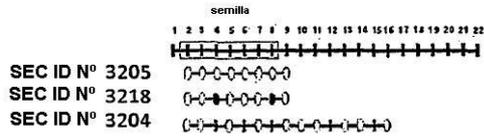
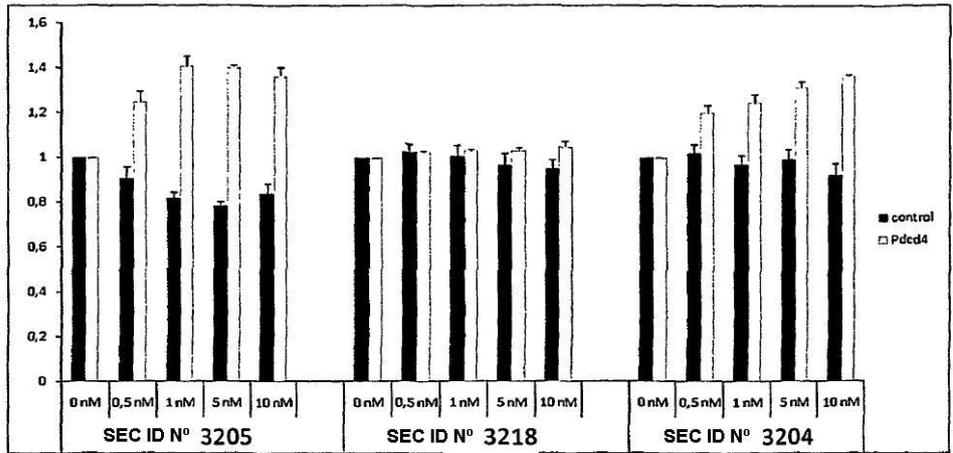
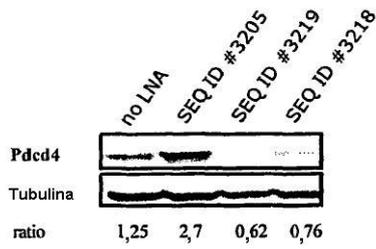


Figura 21



SEC ID N° 3205      5'- GATAAGCT - 3'

SEC ID N° 3219      5'- CGTAATGA - 3'

SEC ID N° 3218      5'- GGTAAACT - 3'

Figura 22

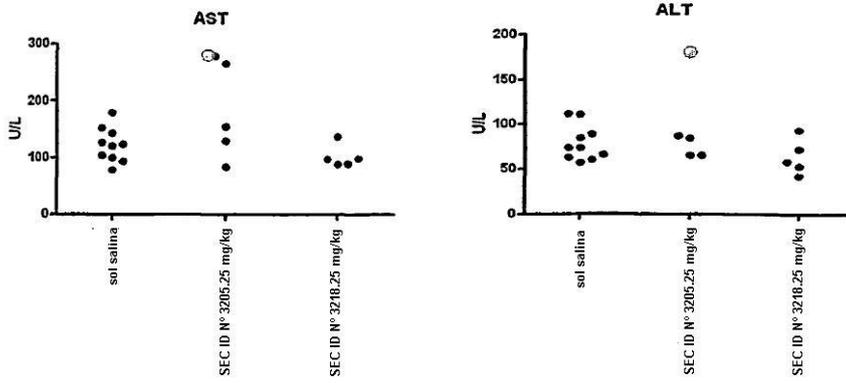


Figura 23

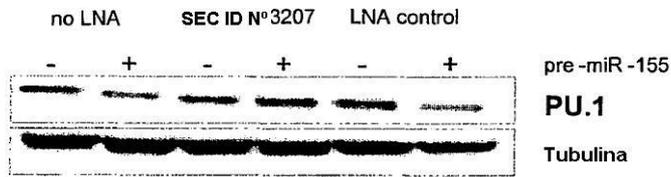
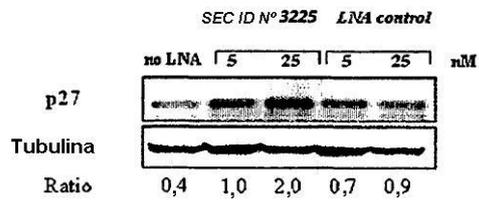


Figura 24



SEC ID N° 3225      5'- ATGTAGC -3'  
 LNA control      5'- GTAGACT -3'

Figura 25

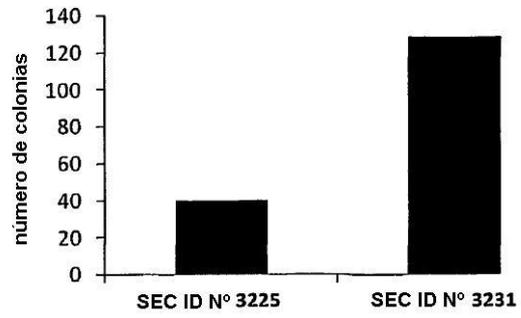


Figura 26

Nombre	secuencia de miARN maduro	S (2-8)	ES (2-9)	NE (9-16)	Total (2-16)
let-7a	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	N/A	N/A	N/A	N/A
let-7b	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGUU	0	0	0	0
let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGUU	0	0	0	0
let-7d	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	0	0	1	1
let-7e	UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU	0	1	0	1
let-7f	UGAGGUAGUAGUUGUAUAGUU	0	0	1	1
let-7g	UGAGGUAGUAGUUGUAGAGUU	0	0	1	1
let-7i	UGAGGUAGUAGUUGUGCUUU	0	0	1	1
miR-98	UGAGGUAGUAGUUGUAUUGUU	0	0	1	1

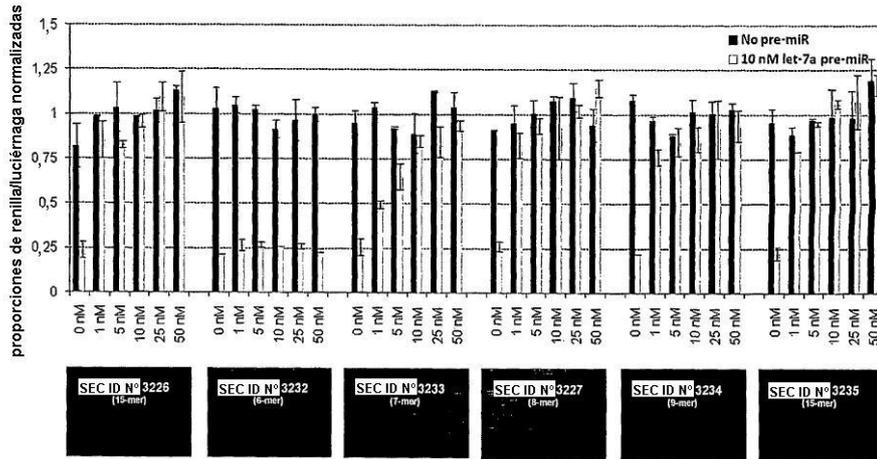
Número	Compuesto	Secuencia (5' a 3') <sup>a</sup>	Longitud (nt)	Diana(s) complementarias
1.	SEC ID Nº3226	A-C-a-A-c-C-T-a-c-T-a- C-c-T-C	15	let-7a/b/c
2.	SEC ID Nº3236	G-C-a-A-c-C-T-a-c-T-a- C-c-T-C	15	let-7d
3.	SEC ID Nº3237	A-C-a-A-c-C-T-c-c-T-a- C-c-T-C	15	let-7e
4.	SEC ID Nº3238	A-C-a-A-a-C-T-a-c-T-a- C-c-T-C	15	let-7g/i
5.	SEQ ID Nº3239	C-T-A-C- C-T-C	7	todos los miembros
6.	SEC ID Nº3240	C-T-A-A- C-T-C	7	ninguna
7.	SEQ ID Nº3227	A-C-T-A-C- C-T-C	8	todas excepto let-7e
8.	SEC ID Nº3232	T-A-C- C-T-C	6	todos los miembros
9.	SEC ID Nº3234	T-N <sub>1</sub> -C-T-A-C- C-T-C	9	todos los miembros <sup>b</sup>
10.	SEC ID Nº3235	T-N <sub>2</sub> -C-T-A-C- C-T-C	9	todos los miembros <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Las letras en mayúscula y minúscula indican LNA y ADN, respectivamente.

<sup>b</sup> Los de 9 unidades están dirigidos en teoría a todos los miembros, ya que contienen 2 entidades químicas de hibridación universal en su 2ª posición.

Figura 27

Figura 28



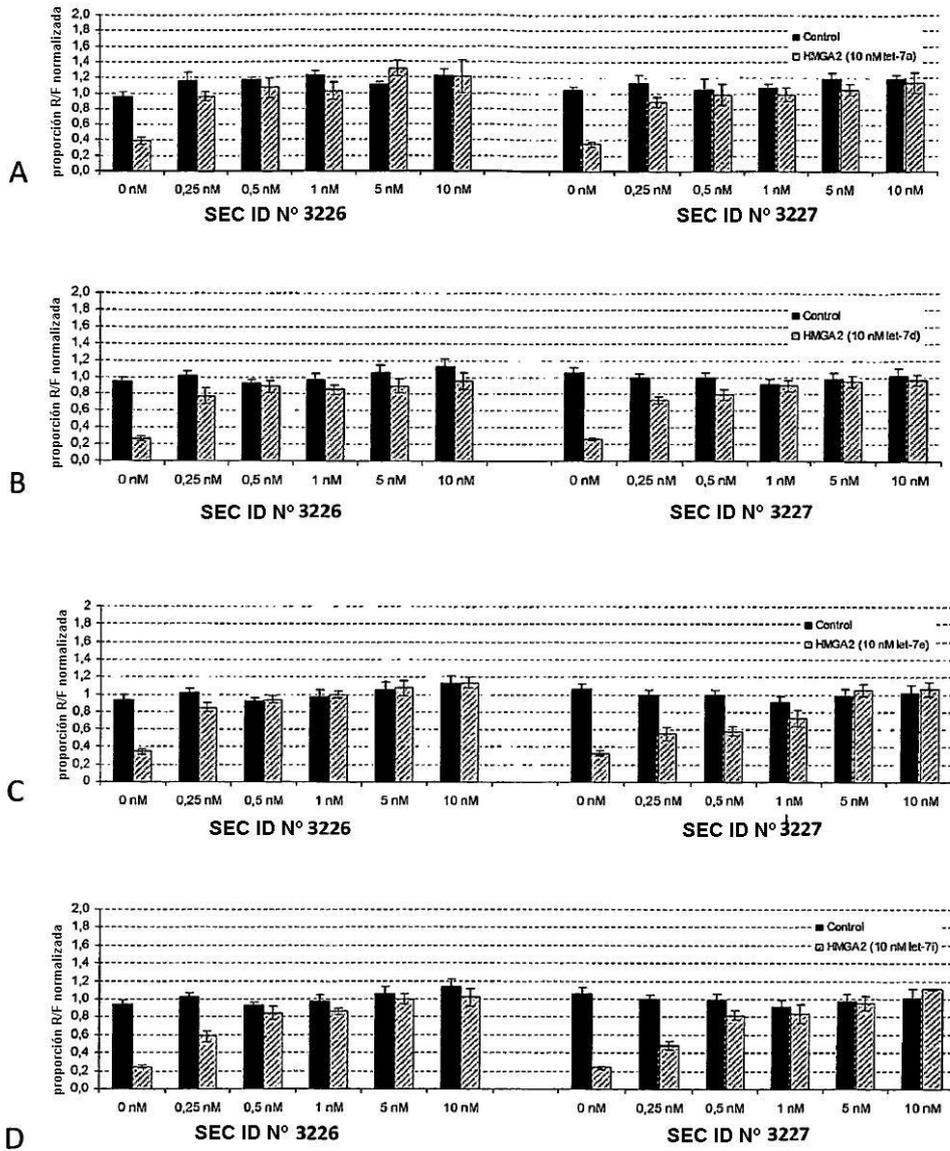


Figura 29

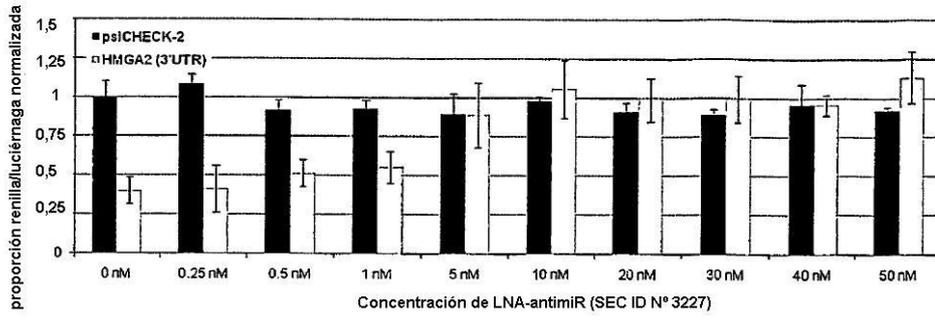


Figura 30

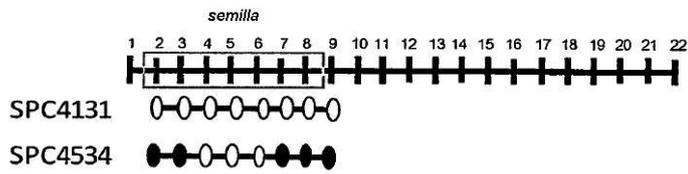
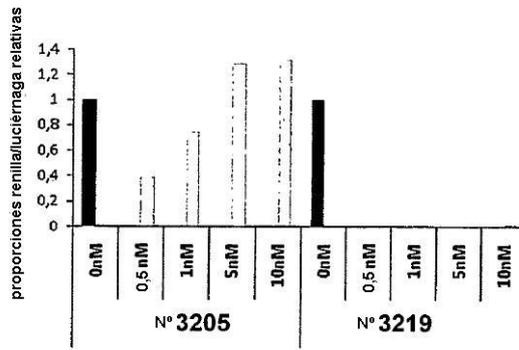


Figura 31

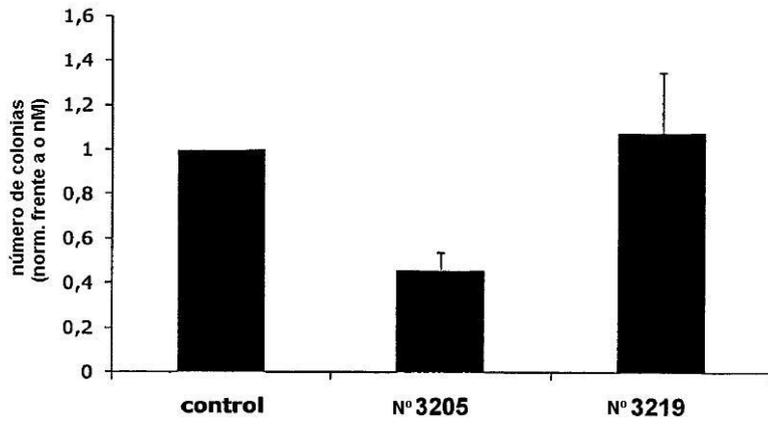


Figura 32

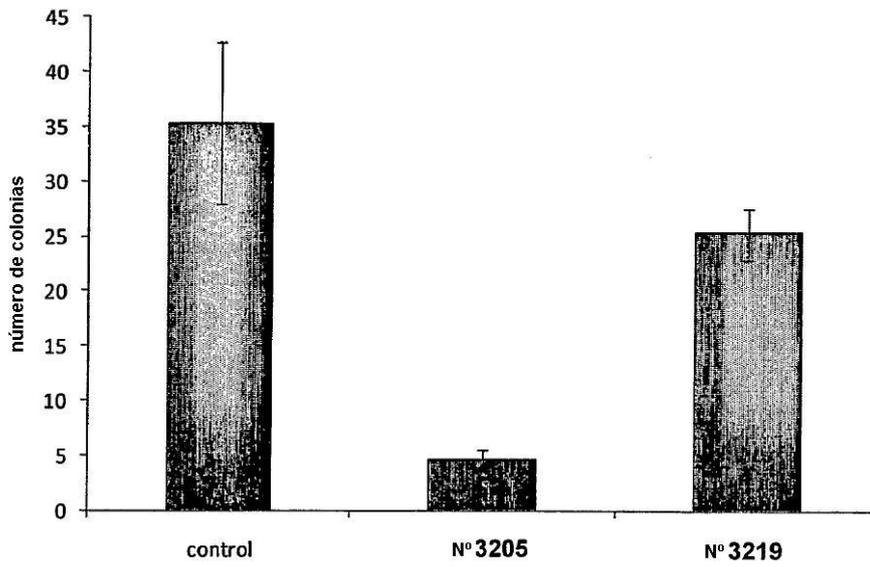
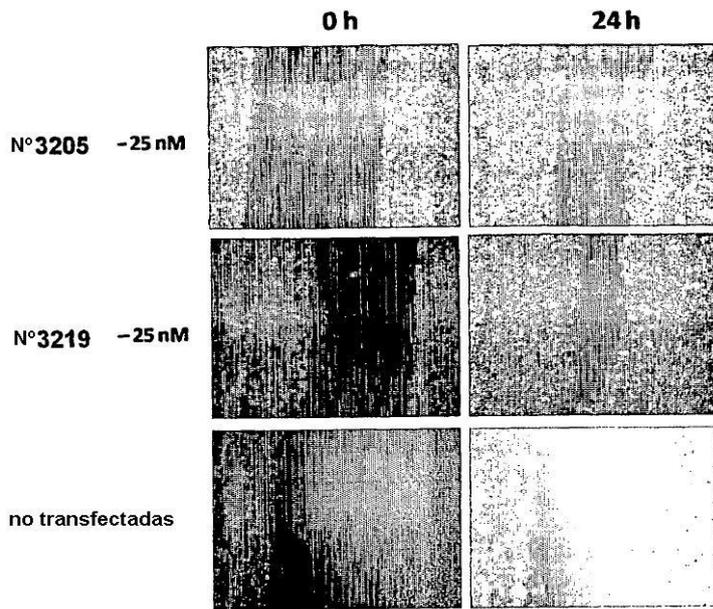
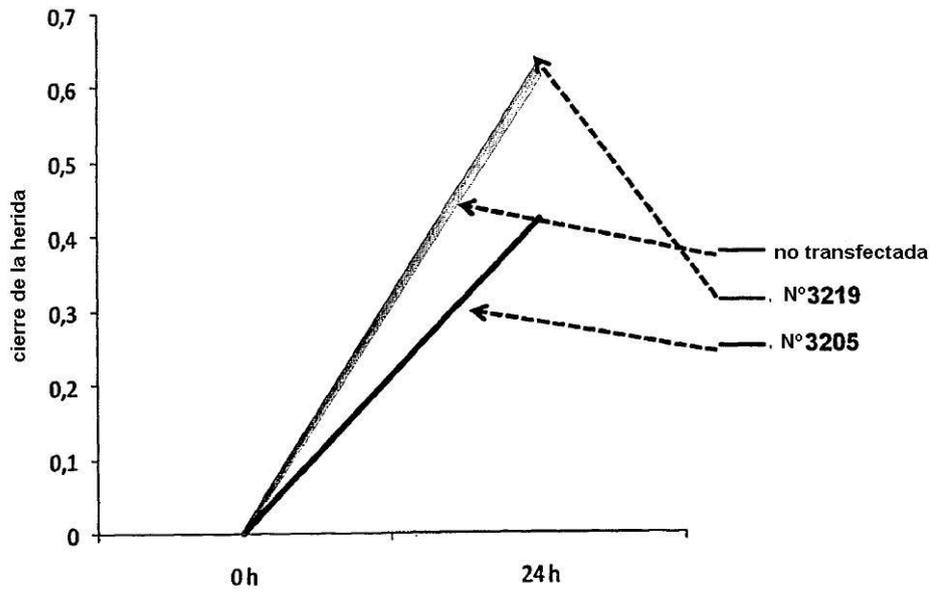


Figura 33

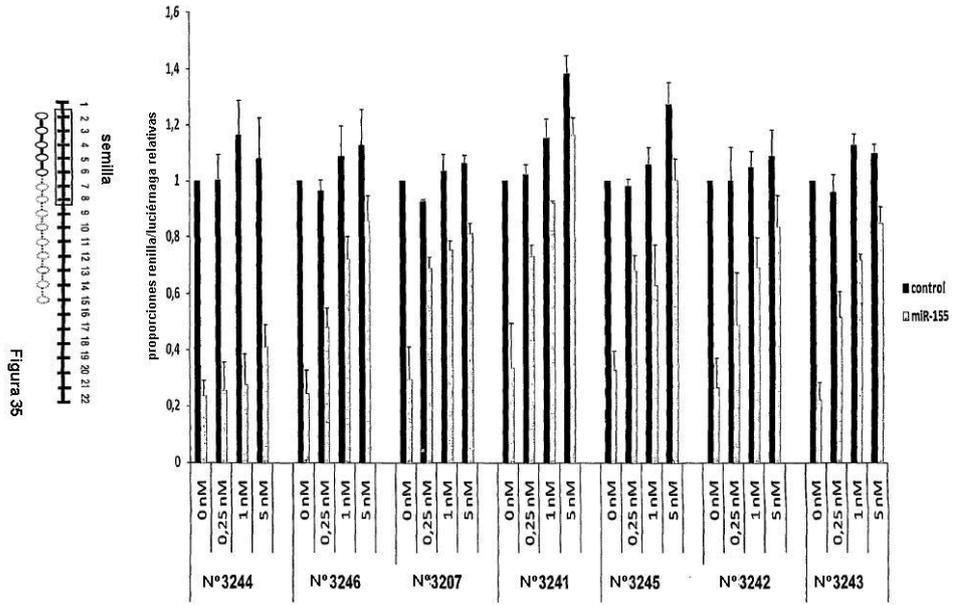


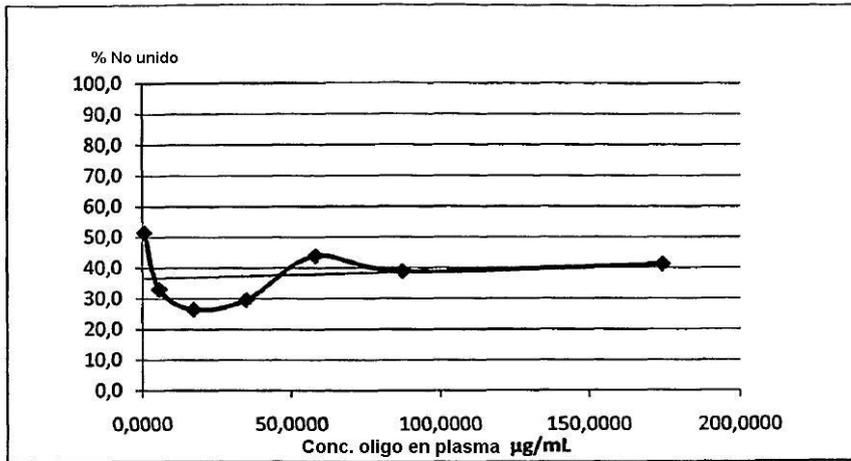
(A)



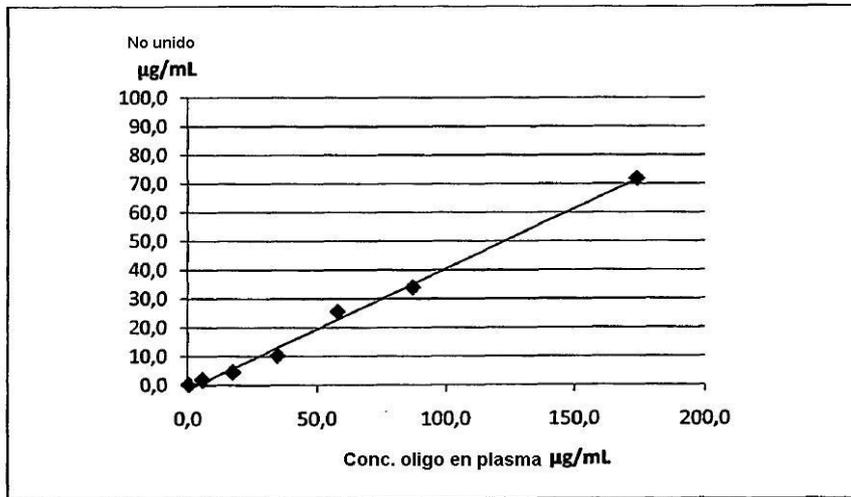
(B)

Figura 34A y B





A)



B)

Figura 36

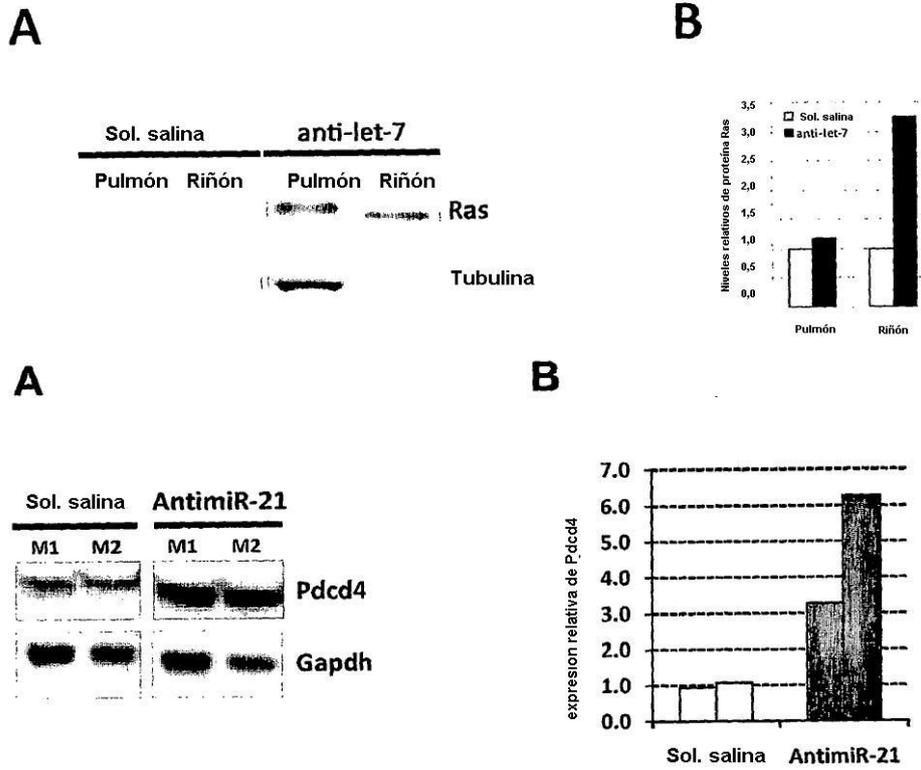


Figura 37