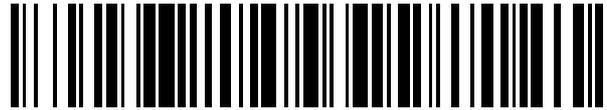


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 970**

21 Número de solicitud: 201730635

51 Int. Cl.:

**C12N 15/11** (2006.01)

**A61K 31/7105** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**24.04.2017**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**07.11.2018**

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE GRANADA (50.0%)  
HOSPITAL REAL. AVDA. DEL HOSPICIO S/N  
18071 GRANADA ES y  
BIOLOGY CENTRE OF THE CZECH ACADEMY OF  
SCIENCES (50.0%)**

72 Inventor/es:

**HACKENBERG, Michael y  
KOTSYFAKIS, Michail**

54 Título: **COMPOSICIÓN QUE COMPRENDE miRNAs PARA SU USO COMO MEDICAMENTO**

57 Resumen:

Composición que comprende miRNAs para su uso como medicamento.

La presente invención proporciona una composición que comprende al menos un oligonucleótido derivado de miRNAs de saliva de la garrapata *Ixodes ricinus*. Dicha composición es útil como método de tratamiento de un trastorno seleccionado entre cánceres, enfermedades inflamatorias, alergias, dermatitis atópica, lupus, asma, dolor crónico, trastornos relacionados con el ritmo circadiano, enfermedades metabólicas, diabetes, glaucoma, hepatitis, enfermedades cardiovasculares, Parkinson, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas y epilepsia.

**ES 2 688 970 A1**

## DESCRIPCIÓN

### COMPOSICIÓN QUE COMPRENDE miRNAs PARA SU USO COMO MEDICAMENTO

#### 5 SECTOR DE LA TÉCNICA

[0001] La presente invención se refiere a miRNAs aislados de la saliva de la garrapata *Ixodes ricinus* y combinaciones de los mismos, que muestran un efecto significativo en vías de señalización relevantes en particular para el tratamiento de cánceres, enfermedades  
10 inflamatorias, trastornos relacionados con el ritmo circadiano, epilepsia y otros trastornos.

#### ESTADO DE LA TÉCNICA

[0002] Un microRNA (abreviado como “miRNA”) es una pequeña molécula de ARN no  
15 codificante que se encuentra tanto en plantas como en animales, y que, a veces, ejerce una función relacionada con la regulación post-transcripcional de la expresión génica degradando ciertas RNAm o impidiendo su traducción. Mientras que la mayoría de miRNAs se encuentran dentro de la célula, algunos miRNAs, comúnmente conocidos como miRNAs circulantes o extracelulares, también se han encontrado en el espacio extracelular, incluyendo  
20 diversos fluidos biológicos y medios de cultivo celular.

[0003] Las garrapatas del genero *Ixodes* son importantes vectores de enfermedades que transmiten patógenos que causan varias enfermedades humanas incluyendo la enfermedad de Lyme y la encefalitis transmitida por garrapatas. Las glándulas salivales y la saliva son  
25 vitales para el éxito biológico de las garrapatas y son una importante vía de transmisión de patógenos. Las glándulas salivales de la garrapata experimentan un notable crecimiento y diferenciación durante el período de alimentación de sangre, y la composición de la saliva incluye muchos componentes diseñados para influir en el huésped. Aún no se han descrito miRNAs en las garrapatas de *Ixodes ricinus*.

30

[0004] Recientemente, los miRNAs han llamado la atención como potenciales dianas terapéuticas. Sus funciones reguladoras de la expresión génica los convierten en una diana ideal para el tratamiento de enfermedades genéticas caracterizadas por la desregulación de diferentes genes. Hasta la fecha, varios miRNAs (predominantemente miRNAs humanos) han

sido identificados como dianas potenciales para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, diferentes tipos de cáncer, enfermedades metabólicas, hepatitis, aterosclerosis, insuficiencia cardíaca y diabetes. Sin embargo, estos miRNAs son miRNA humanos y sirven como objetivo para el tratamiento. Los paradigmas de tratamiento sugeridos hasta el momento implican la administración de sustancias que afectan la cantidad o función de los propios miRNAs del organismo, incluyendo la administración de secuencias que imitan los propios miRNAs del organismo en enfermedades causadas por la infraexpresión de estos miRNAs (Ajay Francis Christopher et al.: *Perspect Clin Res.* 2016 Apr-Jun; 7(2): 68–74; Eva van Rooij and Sakari Kauppinen, *EMBO Mol Med.* 2014 Jul; 6(7): 851–864).

10

### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0005] La presente invención se basa en un descubrimiento reciente que demuestra que los miRNAs presentes en la saliva de *Ixodes ricinus* regulan genes codificantes en mamíferos biológicamente activos (en particular humanos) y por tanto mediante la regulación de la expresión de estas proteínas se regulan también las vías de señalización en las que dichas proteínas participan.

15

La desregulación de estas vías de señalización desempeña un papel clave en muchas enfermedades de mamíferos (en particular humanos). La presente invención abre así un nuevo paradigma para el tratamiento de enfermedades de mamíferos que implican desregulación de la expresión génica, incluyendo la administración terapéutica de miRNAs que ocurren naturalmente en organismos no mamíferos, tales como garrapatas.

20

[0006] La presente invención proporciona así una composición que comprende al menos un oligonucleótido derivado de un miRNA obtenido de la saliva de la garrapata de *Ixodes ricinus*, seleccionado dicho oligonucleótido del grupo que comprende:

25

- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO: 1),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p, SEQ ID NO. 2),

30

- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGA CTAGATCCACACTCATCCA (iri-miR-279<sup>a</sup>-3p, SEQ ID NO. 3),
- 5 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p, SEQ ID NO. 4),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p, SEQ ID NO. 5),
- 10 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p, SEQ ID NO. 6),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p, SEQ ID NO. 7),
- 15 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p, SEQ ID NO. 8),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p, SEQ ID NO. 9),
- 20 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p, SEQ ID NO. 10),
- 25 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p, SEQ ID NO. 11),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p, SEQ ID NO. 12),
- 30 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p, SEQ ID NO. 13),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CTGGTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p, SEQ ID NO. 14),
- 35

- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia GCTGTACAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p, SEQ ID NO. 15),
- 5 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p, SEQ ID NO. 16),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p, SEQ ID NO. 17),
- 10 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGGAAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p, SEQ ID NO. 19),
- 15 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p, SEQ ID NO. 20),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p, SEQ ID NO. 21).

[0007] Preferiblemente, la composición de la presente invención comprende al menos dos, o al menos tres, o al menos cuatro oligonucleótidos seleccionados del grupo de oligonucleótidos de la invención, derivados de los miRNAs obtenidos de la saliva de la garrapata *Ixodes ricinus*, según se enumera en el párrafo [0006].

[0008] Preferiblemente, la composición de la presente invención comprende al menos un oligonucleótido seleccionado del grupo que comprende:

- 30 - un oligonucleótido que tiene la secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TGACTAGATCCCACTCATCCA (iri-miR-279a-3p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p),
- 5 - un oligonucleótido que tiene la secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p),
- 10 - un oligonucleótido que tiene la secuencia TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p),
- 15 - un oligonucleótido que tiene la secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia CTGGTTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p),
- 20 - un oligonucleótido que tiene la secuencia GCTGTCAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p),
- 25 - un oligonucleótido que tiene la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TGGAAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-30 5p).

[0009] Preferiblemente, la composición de la presente invención comprende al menos dos, o al menos tres, o al menos cuatro oligonucleótidos seleccionados del grupo de oligonucleótidos que corresponden a miRNAs obtenidos de la saliva de la garrapata *Ixodes ricinus*, según se enumera en el párrafo [0008].

[0010] En una realización preferida, la composición de la presente invención comprende al menos dos o al menos tres oligonucleótidos seleccionados del grupo que consiste en:

- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TAATACTGTCAGGTAAGATGTC (iri-miR-8-3p),
- 5 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGA TAGATCCACACTCATCCA (iri-miR-279a-3p),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 10 95% de similitud con la secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p);

O seleccionados del grupo compuesto por:

- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 15 95% de similitud con la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p),
- 20 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p);

O seleccionados del grupo compuesto por:

- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 25 95% de similitud con la secuencia TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p),
- 30 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p);

O seleccionados del grupo compuesto por:

- 35 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p),

- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CTGGTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p),
- Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia GCTGTACAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p),
- 5 - Un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p);

O seleccionados del grupo compuesto por:

- 10 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos
- 15 95% de similitud con la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p);

O seleccionados del grupo compuesto por:

- 20 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p),
- 25 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p);

- 30 Y opcionalmente al menos una secuencia adicional seleccionada del grupo definido anteriormente en el párrafo [0006].

[0011] Más preferiblemente, la composición de la presente invención comprende al menos dos o al menos tres oligonucleótidos seleccionados del grupo compuesto por:

- 35 - un oligonucleótido que tiene la secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TGACTAGATCCCACTCATCCA (iri-miR-279a-3p),

5 - un oligonucleótido que tiene la secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p);

O seleccionados del grupo compuesto por:

- un oligonucleótido que tiene la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p),

10 - un oligonucleótido que tiene la secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p),

15 - un oligonucleótido que tiene la secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p);

O seleccionados del grupo compuesto por:

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p),

20 - un oligonucleótido que tiene la secuencia AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p);

25 O seleccionados del grupo compuesto por:

- un oligonucleótido que tiene la secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia CTGGTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p),

30 - un oligonucleótido que tiene la secuencia GCTGTCAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p);

O seleccionados del grupo compuesto por:

35 - un oligonucleótido que tiene la secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TAATACTGTCAGGTAAGATGTC (iri-miR-8-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),
- 5 - un oligonucleótido que tiene la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p);

O seleccionados del grupo compuesto por:

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),
- 10 - un oligonucleótido que tiene la secuencia TGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-15 2001-5p);

Y opcionalmente al menos una secuencia adicional seleccionada del grupo definido anteriormente en el párrafo [0008].

[0012] En una representación más preferida, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TAATACTGTCAGGTAAGATGTC (iri-miR-8-3p),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p),
- 25 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGACTAGATCCCACTCATCCA (iri-miR-279a-3p),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p).

[0013] Más preferiblemente, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TAATACTGTCAGGTAAGATGTC (iri-miR-8-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p),
- 35 - un oligonucleótido que tiene la secuencia TGACTAGATCCCACTCATCCA (iri-miR-279a-3p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p),

[0014] En otra realización preferida, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p).

[0015] Más preferiblemente, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido que tiene la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p).

[0016] En otra realización aún más preferida, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p).

[0017] Más preferiblemente, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p),

5 - un oligonucleótido que tiene la secuencia AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p).

10 [0018] En otra realización preferida adicional, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p),

15 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CTGGTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia GCTGTCAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p).

20

[0019] Más preferiblemente, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido que tiene la secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p),

25 - un oligonucleótido que tiene la secuencia CTGGTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p),

- un oligonucleótido que tiene la secuencia GCTGTCAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p),

30 - un oligonucleótido que tiene la secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p).

[0020] En otra realización aún más preferida, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p),

35

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),
- 5 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p).

[0021] Más preferiblemente, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- 10 - un oligonucleótido que tiene la secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p).

15

[0022] En aún otra realización preferida, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),
- 20 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia TGGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95% de similitud con la secuencia AGATATGTTTGTATTTCTTGGTT (iri-miR-190-5p),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos
- 25 95% de similitud con la secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p).

[0023] Más preferiblemente, la composición de la presente invención comprende los siguientes oligonucleótidos:

- un oligonucleótido que tiene la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),
- 30 - un oligonucleótido que tiene la secuencia TGGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia AGATATGTTTGTATTTCTTGGTT (iri-miR-190-5p),
- un oligonucleótido que tiene la secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p).

35

[0024] La diferencia del 10% (es decir, una similitud de secuencia del 90%) en la secuencia de los oligonucleótidos de la invención puede darse acortando o extendiendo la secuencia, o mediante mutaciones puntuales. Más preferiblemente, las secuencias de los oligonucleótidos de la invención tienen al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%,  
5 al menos el 95%, al menos el 96%, o al menos el 97%, o al menos el 98%, o al menos 99% de similitud con las secuencias listadas. Las diferencias correspondientes en las secuencias oligonucleotídicas se pueden lograr acortando o extendiendo la secuencia, o mediante mutaciones puntuales.

10 [0025] Los oligonucleótidos de la presente invención pueden obtenerse por métodos estándar bien conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante métodos de síntesis en fase sólida o por métodos de bioproducción.

[0026] Debe entenderse que las composiciones definidas que comprenden al menos uno, al  
15 menos dos, al menos tres, o al menos cuatro oligonucleótidos", también pueden comprender adicionalmente otros oligonucleótidos seleccionados del grupo definido en el párrafo [0006] o en el párrafo [0008], o cualquier otro oligonucleótido o sustancia, preferiblemente sustancias farmacéuticamente aceptables.

20 [0027] Las composiciones de la presente invención pueden comprender además sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables. Las composiciones líquidas comprenden preferiblemente agentes auxiliares farmacéuticamente aceptables seleccionados entre disolventes, conservantes, estabilizantes, emulsionantes, agentes solubilizantes, sustancias reguladoras de la viscosidad, sales y tampones. Las composiciones sólidas comprenden  
25 preferiblemente agentes auxiliares farmacéuticamente aceptables seleccionados de entre los vehículos, cargas, aglutinantes, desintegrantes, reguladores de flujo, lubricantes, auxiliares de granulación, conservantes y estabilizantes. Las composiciones se preparan por métodos conocidos en el estado de la técnica, tales como mezcla, liofilización, granulación, formación de comprimidos, etc.

30 [0028] En el marco de la presente invención, se observó que las garrapatas usan exosomas para administrar los miRNA presentes en la saliva al organismo huésped. Por lo tanto, en una realización preferida, la composición de la presente invención comprende también componentes que forman los liposomas. Dicha composición comprende entonces las  
35 secuencias de oligonucleótidos en forma de liposomas y es útil para administrar las secuencias de oligonucleótidos con una mejor biodisponibilidad.

[0029] Los liposomas son vesículas que tienen al menos una bicapa lipídica. Están típicamente compuestas por un núcleo que en la presente invención contiene las secuencias de oligonucleótidos y opcionalmente sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables y al menos una bicapa lipídica que comprende típicamente fosfolípidos u otras sustancias lipídicas anfipáticas, es decir, sustancias lipídicas que comprenden una cabeza hidrófila y una cola hidrófoba. Los liposomas se producen típicamente sonicando una dispersión que comprende los compuestos a encapsular y sustancias lipídicas anfipáticas, mediante extrusión o secado por pulverización.

10

[0030] En el marco de la presente invención, se exploró la interacción de los miRNA aislados de la saliva de la garrapata *Ixodes ricinus* con la regulación de la expresión génica de proteínas que participan en vías de señalización implicadas en la progresión o regulación de trastornos de salud de mamíferos (en particular humanos). Se encontró que los miRNAs obtenidos de la saliva de la garrapata *Ixodes ricinus* afectan a las vías de señalización, y en combinaciones de al menos dos, al menos tres o al menos cuatro miRNAs los oligonucleótidos interactúan sinérgicamente para regular las vías de señalización. Se encontró que las vías de señalización comprenden genes con zonas que actúan como diana para los miRNAs, Preferiblemente, las vías de señalización implican a genes que comprenden combinaciones de dianas para los miRNAs. La interacción puede producirse, por ejemplo, mediante el silenciamiento o regulación negativa de la expresión génica de las proteínas que participan en dichas vías de señalización.

15  
20

[0031] Se ha demostrado que los oligonucleótidos de acuerdo con la presente invención y las combinaciones de los mismos regulan la expresión de proteínas que participa en vías de señalización implicadas en la progresión o regulación de trastornos de salud. Por lo tanto, los oligonucleótidos y sus combinaciones son útiles como medicamentos, por ejemplo en la regulación de la homeostasis de un organismo mamífero (en particular humano).

25

[0032] En particular, los oligonucleótidos de acuerdo con la presente invención son útiles en el tratamiento de cánceres, enfermedades inflamatorias, alergias, dermatitis atópica, lupus, asma, dolor crónico, trastornos relacionados con el ritmo circadiano, enfermedades metabólicas, diabetes, glaucoma, hepatitis, tratamiento del dolor, tratamiento local del dolor, enfermedades cardiovasculares, enfermedad de Parkinson, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas y epilepsia. Los oligonucleótidos y / o combinaciones de los mismos, de acuerdo con la presente invención han mostrado una regulación negativa de la expresión

30  
35

génica de proteínas de vías de señalización implicadas en la regulación de estos trastornos, dichas vías de señalización incluyendo las vías siguientes (el número entre paréntesis es el número de identificador (ID) de la vía KEGG ID) que se discuten como ejemplos de vías de señalización que desempeñan papeles clave en diversas enfermedades. Otras vías con regulación negativa participan en la progresión y desarrollo de enfermedades, y el experto no tendría ninguna dificultad para encontrar la información relevante para cada vía en los libros y artículos científicos pertinentes, o utilizando las bases de datos pertinentes, como la base de datos KEGG. La presente invención proporciona además un método de tratamiento de un mamífero que sufre de una enfermedad como diferentes tipos de cánceres, enfermedades inflamatorias, alergias, dermatitis atópica, lupus, asma, dolor crónico, trastornos relacionados con el ritmo circadiano, enfermedades metabólicas, diabetes, glaucoma, hepatitis, enfermedades cardiovasculares, enfermedad de Parkinson, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas y epilepsia. Dicho método comprende una etapa de administración de la composición de la presente invención al mamífero.

15

[0033] Unión gap (4540): Se refiere a un tipo de conexión entre células como las que se basan en la transmisión sináptica eléctrica entre las neuronas. Actúa en enfermedades neurológicas, epilepsia y glaucoma. Además, la capacidad de las proteínas de unión gap para regular las respuestas inmunes, la proliferación celular, la migración, la apoptosis y la carcinogénesis las convierten en dianas terapéuticas atractivas para tratar trastornos inflamatorios y neoplásicos en diferentes sistemas de órganos. Se observan alteraciones en el perfil de la unión gap y en los niveles de expresión en trastornos cutáneos hiperproliferativos, enfermedades vasculares linfáticas, enfermedades pulmonares inflamatorias, lesiones hepáticas y trastornos neoplásicos.

25

[0034] Vía de señalización GnRH (4912): La secreción de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) del hipotálamo actúa sobre su receptor en la pituitaria anterior para regular la producción y liberación de las gonadotropinas, LH y FSH. El GnRHR se acopla a proteínas Gq / 11 para activar la fosfolipasa C que transmite su señal a diacilglicerol (DAG) e inositol 1,4,5-trisfosfatasa (IP3). DAG activa la vía intercelular de proteína quinasa C (PKC) e IP3 estimula la liberación intracelular de calcio. Además de la clásica Gq / 11, el acoplamiento de Gs se observa de vez en cuando de una manera específica de la célula. La señalización aguas abajo de la proteína quinasa C (PKC) conduce a la transactivación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF) y la activación de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), incluyendo la quinasa regulada por una señal extracelular (ERK), quinasa N-terminal Jun (JNK) y p38 MAPK. Las MAPK activas se trasladan al núcleo, dando

35

como resultado la activación de factores de transcripción y la inducción rápida de genes tempranos. Esta vía de señalización está relacionada con el cáncer de mama en las mujeres, la hipertrofia prostática benigna y el carcinoma prostático en los hombres, y la pubertad precoz central en los niños.

5

[0035] Vía de señalización ErbB (4012): La familia ErbB son receptores tirosina quinasa (RTK), que son el enlace entre la unión de ligandos de factores de crecimiento extracelulares y las vías de señalización intracelular que regulan diversas respuestas biológicas, incluyendo proliferación, diferenciación, motilidad celular y supervivencia. La unión del ligando a los cuatro miembros estrechamente relacionados de esta familia de receptores - factor de crecimiento epidérmico de la familia RTK (EGFR, también conocido como ErbB-1 o HER1), ErbB-2 (HER2), ErbB-3 (HER3) y ErbB-4 (HER4) - induce la formación de homo- y heterodímeros y la activación del dominio de quinasa intrínseca, dando como resultado la fosforilación de residuos de tirosina específicos (pY) dentro de la cola citoplásmica. La regulación negativa de la vía ErbB juega un papel clave en el tratamiento del cáncer de mama.

10  
15

[0036] Vía de señalización Fc epsilon RI (4664): Las vías de señalización mediadas por Fc epsilon RI en mastocitos se inician por la interacción de un antígeno con IgE unido al dominio extracelular de la cadena alfa de Fc epsilon RI. Los mastocitos que se activan así liberan gránulos preformados que contienen aminas biógenas (histaminas) y proteoglicanos (heparina). La activación de la fosfolipasa A2 provoca la liberación de lípidos de la membrana seguido del desarrollo de mediadores lipídicos tales como leucotrienos (LTC4, LTD4 y LTE4) y prostaglandinas (especialmente PDG2). También hay secreción de citoquinas, las más importantes de las cuales son TNF-alfa, IL-4 e IL-5. Estos mediadores y citoquinas contribuyen a respuestas inflamatorias y alérgicas, dermatitis atópica y lupus.

20  
25

[0037] Vía de señalización de oxitocina (4921): guarda relación con diabetes, obesidad y enfermedades cardiovasculares. La oxitocina ejerce una amplia variedad de efectos centrales y periféricos. En el sistema cardiovascular, la OTR está asociada con las vías ANP-GMPc y NO-cGMP, que reducen la fuerza y la tasa de contracción y aumentan la vasodilatación.

30

[0038] Contracción del músculo liso vascular (4270): La célula vascular del músculo liso (VSMC) es una célula altamente especializada cuya función principal es la contracción. Al contraerse, las CMLV se acortan, disminuyendo así el diámetro de un vaso sanguíneo para regular el flujo sanguíneo y la presión. La vía está indicada en enfermedades

35

cardiovasculares, aneurisma cerebral o enfermedad vascular; Asma, enfermedad funcional gastrointestinal.

5 [0039] Potenciación a largo plazo (4720): La potenciación a largo plazo del hipocampo (LTP), un aumento duradero de la eficacia sináptica, es la base molecular para el aprendizaje y la memoria. También se ha implicado en el dolor crónico y la hipertensión.

10 [0040] La dopamina (DA) es un importante neurotransmisor prototípico que actúa en el cerebro de mamíferos, donde controla una variedad de funciones incluyendo la actividad locomotora, la motivación, la recompensa, el aprendizaje, la memoria, y la regulación endocrina. DA influye en la actividad neuronal, la plasticidad sináptica y el comportamiento. Los D2Rs presinápticamente localizados regulan la síntesis y liberación de DA como principal autoreceptor del sistema dopaminérgico. Esta vía está implicada en la enfermedad de Parkinson, enfermedades del SNC, y la esquizofrenia.

15 [0041] Sinapsis colinérgica (4725): Implica la señalización de acetilcolina que afecta muchas funciones, como el aprendizaje, la memoria, la atención y el control motor.

20 [0042] Vía del cáncer colorrectal (5210): Está implicada en el cáncer colorrectal. Se han identificado dos mecanismos principales de inestabilidad genómica en la progresión esporádica de la vía del CRC. La primera, conocida como inestabilidad cromosómica (CIN), resulta de una serie de cambios genéticos que implican la activación de oncogenes como K-ras e inactivación de TSG (supresores de tumores) como p53, DCC / Smad4 y APC. La segunda, conocida como inestabilidad de microsatélites (MSI), resulta de la inactivación de los genes de reparación de ADN MLH1 y / o MSH2 por hipermetilación de su promotor, y la mutación secundaria de genes con microsatélites codificantes, tales como el receptor II del factor de crecimiento transformante (TGF- RII) y BAX.

30 [0043] Ritmo circadiano (4710): Es una ruta que desempeña un papel clave en el reloj biológico interno, que permite mantener un ritmo de aproximadamente 24 horas en ausencia de señales ambientales. En los mamíferos, el mecanismo del reloj circadiano consiste en bucles de retroalimentación de transcripción-traducción autónoma de células que impulsan patrones de expresión rítmicos de 24 horas de los componentes del reloj de núcleo. El primer bucle de retroalimentación negativa es una transcripción rítmica de los genes del período (PER1, PER2 y PER3) y los genes del criptocromo (CRY1 y CRY2). Las proteínas PER y CRY formen un heterodímero, que actúa sobre el heterodímero CLOCK / BMAL1 para reprimir su

propia transcripción. Las proteínas PER y CRY son fosforiladas por la caseína quinasa épsilon (CKIepsilon), lo que conduce a la degradación y reinicio del ciclo. El segundo bucle es un bucle de retroalimentación positivo impulsado por el heterodímero CLOCK / BMAL1, que inicia la transcripción de genes diana que contienen secuencias potenciadoras cis-reguladoras de E-box.

5

[0044] Arrastre circadiano (4713): Es una propiedad fundamental por la que el periodo del reloj biológico interno es arrastrado por señales exógenas recurrentes, de tal manera que el ritmo endocrino y el de comportamiento del organismo se sincronizan con señales ambientales.

10

[0045] Proteoglicanos en el cáncer (5205): Se ha demostrado que muchos proteoglicanos (PG) en el microambiente tumoral son macromoléculas clave que contribuyen a la biología de varios tipos de cáncer incluyendo proliferación, adhesión, angiogénesis y metástasis, afectando el progreso del tumor. Su infra-regulación (*down-regulation*) contribuye al tratamiento del cáncer.

15

[0046] Hepatitis C (5160): El virus de la hepatitis C (VHC) es la mayor causa de hepatitis crónica. El VHC emplea varias estrategias para perturbar la inmunidad de la célula huésped. Después de la invasión, el genoma de ARN del VHC funciona directamente como un ARN mensajero (ARNm o mRNA) en el citoplasma de la célula huésped y forma complejos de replicación asociados a la membrana junto con proteínas no estructurales. El ARN viral puede desencadenar la vía RIG-I y la producción de interferón durante este proceso. Las proteínas del HCV regulan la respuesta inmune para inhibir la acción del interferón. VHC proteínas y las proteínas NS5A parecen ser las moléculas más importantes con funciones reguladoras que modulan la transcripción, la proliferación celular y la apoptosis.

20

25

[0047] La presente invención comprende además preparaciones que comprenden al menos una composición de la presente invención y al menos otra sustancia farmacéuticamente activa. Tales preparaciones son adecuadas para la administración simultánea o secuencial. Las preparaciones pueden estar en forma de un kit que comprende la composición de la presente invención en una forma de administración, y al menos otra sustancia farmacéuticamente activa en una forma de administración separada.

30

35

Lista de secuencias:

- SEQ ID NO. 1: iri-miR-8-3p  
 SEQ ID NO. 2: iri-miR-317-3p  
 SEQ ID NO. 3: iri-miR-279a-3p  
 SEQ ID NO. 4: iri-miR-bantam-3p  
 5 SEQ ID NO. 5: iri-miR-X1h-5p  
 SEQ ID NO. 6: iri-miR-X1h-3p  
 SEQ ID NO. 7: iri-miR-X17-5p  
 SEQ ID NO. 8: iri-miR-X8-3p  
 SEQ ID NO. 9: iri-miR-5307-5p  
 10 SEQ ID NO. 10: iri-miR-96-3p  
 SEQ ID NO. 11: iri-miR-276-3p  
 SEQ ID NO. 12: iri-miR-71-3p  
 SEQ ID NO. 13: iri-miR-279a-5p  
 SEQ ID NO. 14: iri-miR-bantam-5p  
 15 SEQ ID NO. 15: iri-miR-X26-5p  
 SEQ ID NO. 16: iri-miR-X12-3p  
 SEQ ID NO. 17: iri-miR-8-5p  
 SEQ ID NO. 18: iri-miR-9a-5p  
 SEQ ID NO. 19: iri-miR-1-3p  
 20 SEQ ID NO. 20: iri-miR-190-5p  
 SEQ ID NO. 21: iri-miR-2001-5p

## EJEMPLOS DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION

### 25 **Diseción de tejido de garrapata, extracción del ARN total y secuenciación**

[0048] Se colocaron 1.080 ninfas y 420 adultos (hembras y machos) sobre animales de experimentación para su alimentación. El ARN total se extrajo del tejido combinado diseccionado de garrapatas adultas y garrapatas ninfales que se eliminaban en intervalos de 3 horas hasta un total de 24 horas (ninfas) o 36 horas (adultos) para producir diez muestras:  
 30 cuatro muestras a 0-12h y 12-24h para ninfas Glándulas salivales (SG) e intestinos medios anteriores (MG, del inglés *midgut*. Parte del embrión a partir de la que se desarrollan el intestino medio), respectivamente, y seis muestras a 0-12h, 12-24h, y 24-36h para adultos SG y MG, respectivamente. La saliva de la garrapata fue obtenida como se describe en: (Horká,H., Cerná-Kýcková,K., Skallová,A. and Kopecký,J. (2009) Tick saliva affects both proliferation and  
 35 distribution of *Borrelia burgdorferi* spirochetes in mouse organs and increases transmission of spirochetes to ticks. *Int J Med Microbiol*, **299**, 373–380). Las muestras se prepararon y se

secuenciaron en un Genome Analyzer Iix (Illumina, San Diego, CA) usando un protocolo de secuenciación estándar (longitud máxima de lecturas 36 nt) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las bibliotecas de secuenciación se prepararon de acuerdo con las instrucciones del TrueSeq Small RNA Sample preparation kit (Illumina). Los grupos o *clusters* se generaron utilizando la estación de agrupamiento de Illumina (*Illumina cluster station*). Las imágenes fluorescentes se convirtieron a secuencias utilizando el software de Illumina, Genome Analyzer Pipeline Analysis v1.8.

[0049] Dado que no se han reportado miRNAs en *I. ricinus* anteriormente, hemos utilizado sRNAbench y miRanalyzer para predecir miRNAs de *I. ricinus* utilizando las lecturas combinadas de todas las muestras. En el primer paso, el muestreo de lecturas se tomó de entre todas las muestras experimentales, y sólo se aceptaron predicciones / anotaciones de alta confianza. En una segunda ronda de anotación, se han utilizado sucesivamente las diez muestras para la predicción de miRNAs, eliminando en cada ronda los miRNAs previamente predichos para evitar que fuesen detectados de nuevo.

[0050] También se obtuvieron predicciones de nuevos miRNAs usando como base el genoma de *I. scapularis*. Sin embargo, en algunos casos, la secuencia pre-miRNA de *I. scapularis* no era idéntica a la secuencia de *I. ricinus* dada la divergencia evolutiva entre las dos especies desde su último antecesor común. Sin embargo, se determinó la secuencia madura correcta de *I. ricinus* como una de las secuencias presentes en las lecturas de *I. ricinus*. Por lo tanto, en los casos de variación de secuencia (desemparejamientos) entre la secuencia madura de *I. scapularis* e *I. ricinus*, se ha "corregido" la secuencia de *I. scapularis* reemplazando la secuencia madura con la correcta de *I. ricinus*. En la práctica, esto significa que para algunos nuevos miRNAs predichos en el genoma de *I. scapularis*, la secuencia del pre-miRNA es un híbrido (la secuencia del miRNA maduro siempre es de *I. ricinus* pero la secuencia restante corresponde a *I. scapularis*). Las estructuras secundarias de los nuevos miRNAs fueron predichas utilizando RNAfold y se representan mediante el servidor web 'forna', del paquete ViennaRNA (Lorenz,R., Bernhart,S.H., Höner Zu Siederdisen,C., Tafer,H., Flamm,C., Stadler,P.F. and Hofacker,I.L. (2011) ViennaRNA Package 2.0. *Algorithms Mol Biol*, **6**, 26).

### **miRNA familias y taxonomía**

[0051] Se asignó cada miRNA al nodo taxonómico de su primera aparición (basado en el análisis filogenético). Primero se descargó la base de datos de la taxonomía de NCBI para

generar el linaje completo para cada especie y luego asignamos todos los miRNAs a sus miRNAs putativamente homólogos en miRBase si: i) tienen la misma región semilla siendo definida la semilla como la secuencia comprendida entre los nucleótidos 2-8; ii) el alineamiento global tiene menos de cuatro desemparejamientos. Obsérvese que para todos los nuevos miRNAs, ambos brazos fueron apoyados por lecturas, de modo que definimos el brazo funcional (guía) como el que tiene un mayor número de miRNAs homólogos en miRBase (secuencia más conservada). También tenga en cuenta que para la mayoría de los miRNAs el número de posibles secuencias homologas es muy diferente para las secuencias guía y pasajero.

10

### **Expresión diferencial y normalización**

[0052] Nuestro diseño experimental dio lugar a diferentes posibles comparaciones: i) SG (glándulas salivales) vs. MG (intestino medio anterior) en adultos, ii) SG vs. MG en ninfas, y iii) adultos vs. ninfas en SG. Usamos edgeR para determinar la expresión diferencial entre dos condiciones (Robinson, M.D., McCarthy, D.J. and Smyth, G.K. (2010) edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*, **26**, 139–140).

15

Mediante el módulo de expresión diferencial del sRNAbench, se ha generado una matriz de expresión que contiene los recuentos de lecturas sin normalizar, formato obligatorio de entrada del edgeR para obtener los miRNAs diferencialmente expresados.

20

EdgeR normaliza los datos utilizando el método *Trimmed Mean of M-values* (TMM). También se generó una matriz de expresión con valores normalizados (Lecturas por millón o RPM, del inglés "*Reads Per Million*" ) utilizando el método de "asignación única" (*'single assignment'*) de sRNAbench. Como resultado, se asigna las lecturas que mapean a varias secuencias de referencia solamente a la más expresada. Los valores RPM se obtuvieron dividiendo el recuento de lecturas de un miRNA por el número total de lecturas asignadas a la biblioteca de miRNA. Finalmente, los miRNAs posiblemente regulados en función del tiempo de alimentación se definieron como: a) al menos una diferencia de un factor dos entre los valores de expresión a las 12h y 36h; Y b) un valor de RPM a las 24 horas situado en medio.

25

[0053] De los sesenta y siete miRNAs diferentes (secuencias únicas del miRNA guía) detectados, los 20 miRNAs más expresados en SG y saliva fueron seleccionados para la presentación de la estructura secundaria.

30

### **Predicción de dianas de los miRNAs de la garrapata y análisis funcional "in silico"**

35

[0054] Para predecir los genes del huésped regulados por los miRNAs de la garrapata, se utilizaba TargetSpy (Sturm,M., Hackenberg,M., Langenberger,D. and Frishman,D. (2010) TargetSpy: a supervised machine learning approach for microRNA target prediction. BMC Bioinformatics, 11, 292), MIRANDA ( John,B., Enright,A.J., Aravin,A., Tuschl,T., Sander,C. and Marks,D.S. (2004) Human MicroRNA targets. PLoS Biol, 2, e363), y PITA (Kertesz,M., lovino,N., Unnerstall,U., Gaul,U. and Segal,E. (2007) The role of site accessibility in microRNA target recognition. Nat Genet, 39, 1278–1284) implementados en el programa miRNAconsTarget de la colección sRNAtoolbox (Rueda,A., Barturen,G., Lebrón,R., Gómez-Martín,C., Alganza,Á., Oliver,J.L. and Hackenberg,M. (2015) sRNAtoolbox: an integrated collection of small RNA research tools. Nucleic Acids Res, 43, W467–73).

Para los siguientes análisis sólo se emplearon interacciones entre ARNm y miRNA predichas por todos (los tres) programas. La predicción de las dianas produce un alto número de falsos positivos pero información filogenética y efectos combinatorias pueden reducir este número (Min,H. and Yoon,S. (2010) Got target? Computational methods for microRNA target prediction and their extension. *Exp Mol Med*, **42**, 233–244). No se puede suponer que las dianas de los miRNA de la garrapata se encuentran conservadas en el huésped (debido a procesos adaptativos entre la garrapata y el huésped o “*tick-host adaptations*”), por lo que se aplicaron solamente los efectos combinatorios para mejorar la calidad de la predicción. Como resultado, se analizó el efecto de conjuntos compuestos por cuatro miRNAs, teniendo en cuenta solamente los transcritos regulados por al menos 3 de los 4 miRNAs. Los conjuntos de genes que cumplen con los requisitos enumerados arriba, fueron analizados funcionalmente mediante el servidor web STRING (Franceschini,A., Szklarczyk,D., Frankild,S., Kuhn,M., Simonovic,M., Roth,A., Lin,J., Minguez,P., Bork,P., Mering,C. von, et al. (2013) STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration. Nucleic Acids Res, 41, D808–15). Para cumplir con el formato de entrada los nombres de los transcritos fueron convertidos primero a los nombres de la proteínas mediante la herramienta ‘Retrieve/ID mapping’ (UniProt consortium (Apweiler,R., Bairoch,A., Wu,C.H., Barker,W.C., Boeckmann,B., Ferro,S., Gasteiger,E., Huang,H., Lopez,R., Magrane,M., et al. (2004) UniProt: the Universal Protein knowledgebase. Nucleic Acids Res, 32, D115–9)). Las redes de interacción entre los genes regulados y las rutas KEGG estadísticamente significativas fueron extraídas de la salida de STRING.

[0055] Las interacciones identificadas y resultados de los análisis funcionales se muestran en las tablas siguientes:

A) Un conjunto de cuatro miRNAs (Tabla 1):  
GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p),

CTGGTTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p),

GCTGTCAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p),

ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p).

5

ID de la vía	Descripción de la vía	Conteo de genes observados	tasa de falso descubrimiento	proteínas coincidentes en la red (labels)
4722	Vía de señalización de neurotrofinas	12	5,94E-07	Camk2d, Camk4, Frs2, Mapk10, Ntrk2, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Sort1, Sos1, Traf6, Ywhae
4012	Vía de señalización de ErbB	9	2,18E-05	Abl2, Camk2d, Ereg, Mapk10, Nrg3, Pik3ca, Pik3r1, Prkca, Sos1
4068	Vía de señalización de FoxO	9	0,000707	Homer2, Mapk10, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Prkaa2, Setd7, Smad2, Sos1
5205	Proteoglicanos en cáncer	11	0,000909	Arhgef12, Camk2d, Fgf12, Frs2, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Prkca, Smad2, Sos1, Timp3
4664	Vía de señalización de Fc epsilon RI	6	0,00258	Mapk10, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Prkca, Sos1
4960	Aldosterone-regulated sodium reabsorption	5	0,00258	Atp1b4, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Prkca
5160	Hepatitis C	8	0,00258	Cldn1, Cldn19, Mapk10, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Sos1, Traf6
4919	Vía de señalización de hormonas Tiroideas	7	0,00619	Atp1b4, Ncoa2, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Prkca, Thrb

5223	Células no pequeñas de cáncer de pulmón	5	0,00619	Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Prkca, Sos1
5214	Glioma	5	0,00847	Camk2d, Pik3ca, Pik3r1, Prkca, Sos1
4014	Vía de señalización de Ras	9	0,00901	Abl2, Fgf12, Gng4, Kitl, Mapk10, Pik3ca, Pik3r1, Prkca, Sos1
4150	Vía de señalización de mTOR	5	0,00901	Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Prkaa2, Prkca
4910	Vía de señalización de Insulina	7	0,00933	Mapk10, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Prkaa2, Rhoq, Sos1
4261	Señalización adrenérgica en cardiomiocitos	7	0,0108	Atp1b4, Atp2b2, Camk2d, Pik3ca, Pik3r1, Prkca, Slc8a1
4151	Vía de señalización de PI3K-Akt	11	0,0124	Fgf12, Gng4, Itga4, Kitl, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Prkaa2, Prkca, Sos1, Ywhae
4725	Sinapsis colinérgica	6	0,0144	Camk2d, Camk4, Gng4, Pik3ca, Pik3r1, Prkca
4921	Vía de señalización de Oxitocina	7	0,0149	Camk2d, Camk4, Mylk4, Pik3ca, Pik3r1, Prkaa2, Prkca
4510	Adhesión focal	8	0,0166	Itga4, Mapk10, Mylk4, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Prkca, Sos1
4978	Absorción Mineral	4	0,0166	Atp1b4, Slc31a1, Slc8a1, Steap2
4022	Vía de señalización de cGMP-PKG	7	0,0187	Atp1b4, Atp2b2, Mylk4, Pde5a, Pik3ca, Pik3r1, Slc8a1

4670	Migración transendotelial de leucocitos	6	0,0187	Cldn1, Cldn19, Itga4, Pik3ca, Pik3r1, Prkca
4912	Vía de señalización de GnRH	5	0,0202	Camk2d, Map3k2, Mapk10, Prkca, Sos1
5213	Cáncer de endometrior	4	0,0202	Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Sos1
4710	Ritmo circadiano	3	0,0345	Clock, Prkaa2, Rorb
4620	Vía de señalización del receptores tipo tipo Toll (o <i>Toll-like receptor</i> , TLRs)	5	0,0367	Mapk10, Pik3ca, Pik3r1, Tirap, Traf6
4010	Vía de señalización de MAPK	8	0,0368	Fgf12, Map3k2, Mapk10, Ntrk2, Prkca, Sos1, Taok1, Traf6
5142	Enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis Americana)	5	0,0368	Mapk10, Pik3ca, Pik3r1, Smad2, Traf6
5210	Cáncer Colorrectal	4	0,0368	Mapk10, Pik3ca, Pik3r1, Smad2
5212	Cáncer de Páncreas	4	0,0369	Mapk10, Pik3ca, Pik3r1, Smad2
5200	Vías de señalización en cancer	9	0,045	Fgf12, Kitl, Mapk10, Pik3ca, Pik3r1, Prkca, Smad2, Sos1, Traf6
4971	Secreción de ácido gástrico	4	0,0465	Atp1b4, Camk2d, Mylk4, Prkca
5145	Toxoplasmosis	5	0,0465	Mapk10, Pdpk1, Pik3ca, Pik3r1, Traf6
4810	Regulación de citoesqueleto de	7	0,0475	Arhgef12, Fgf12, Itga4, Mylk4, Pik3ca, Pik3r1, Sos1

	actina ( <i>actin cytoskeleton</i> )			
4662	Vía de señalización de receptor de células B	4	0,048	Ifitm1, Pik3ca, Pik3r1, Sos1

Tabla 1. Interacciones y resultados del análisis funcional. Conjunto A.

B) Un conjunto de cuatro miRNAs (Tabla 2):

GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p),

5 CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p),

CCCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p),

CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p)

ID de la vía	Descripción de la vía	Conteo de genes observados	tasa de falso descubrimiento	proteínas coincidentes en la red (labels)
4720	Potenciación a largo plazo	5	0,00398	Camk4, Gnaq, Gria1, Nras, Rps6ka3
4725	Sinapsis colinérgica	5	0,0336	Camk4, Gnaq, Kcnj3, Kcnq2, Nras

Tabla 2. Interacciones y resultados del análisis funcional. Conjunto B.

10

C) Un conjunto de cuatro miRNAs (Tabla 3):

TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p),

AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p),

TAGGAACCTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p),

15 TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p).

ID de la vía	Descripción de la vía	Conteo de genes observados	tasa de falso descubrimiento	proteínas coincidentes en la red (labels)

4720	Potenciación a largo plazo	7	0,0172	Adcy1, Braf, Cacna1c, Camk4, Grm5, Itpr2, Prkcb
4022	Vía de señalización de cGMP-PKG	10	0,0271	Adcy1, Atp2b4, Cacna1c, Creb1, Gucy1a2, Irs1, Itpr2, Pik3ca, Pik3r1, Slc8a1
4723	Señalización de endocannabinoides retrógrados	8	0,0271	Adcy1, Cacna1c, Gabra4, Gabrb2, Grm5, Itpr2, Mapk10, Prkcb
4725	Sinapsis colinérgica	8	0,0271	Adcy1, Cacna1c, Camk4, Creb1, Itpr2, Pik3ca, Pik3r1, Prkcb
5206	MicroARNs en cancer	9	0,0271	Fzd3, Gls, Irs1, Mdm4, Prkcb, Rdx, Slc7a1, Tgfb2, Zeb2
5210	Cáncer colorrectal	6	0,0271	Braf, Dcc, Mapk10, Pik3ca, Pik3r1, Tgfb2
4915	Vía de señalización de estrógenos	7	0,0322	Adcy1, Creb1, Esr1, Itpr2, Pik3ca, Pik3r1, Sp1
4921	Vía de señalización de oxitocina	9	0,0322	Adcy1, Cacna1c, Camk1d, Camk4, Gucy1a2, Itpr2, Pik3ca, Pik3r1, Prkcb
5205	Proteoglicanos en cánver	11	0,0322	Braf, Cblb, Esr1, Fzd3, Itpr2, Pik3ca, Pik3r1, Prkcb, Rdx, Tgfb2, Wnt5a
4930	Diabetes mellitus Tipo II	5	0,0343	Cacna1c, Irs1, Mapk10, Pik3ca, Pik3r1
4068	Vía de señalización de FoxO	8	0,041	Braf, Homer2, Irs1, Mapk10, Pik3ca, Pik3r1, Rag1, Tgfb2

Tabla 3. Interacciones y resultados del análisis funcional. Conjunto C.

D) Un conjunto de cuatro miRNAs (Tabla 4):

TAATACTGTCAGGTAAGATGTC (iri-miR-8-3p),

5 TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p),

TGACTAGATCCCACTCATCCA (iri-miR-279a-3p),

TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p).

<b>ID de la vía</b>	<b>Descripción de la vía</b>	<b>Conteo de genes observados</b>	<b>tasa de falso descubrimiento</b>	<b>proteínas coincidentes en la red (labels)</b>
4540	Unión Gap	10	0,00136	Adcy1, Gnaq, Gucy1a2, Map3k2, Prkacb, Prkca, Prkcb, Prkg1, Sos1, Tjp1
4912	Vía de señalización de GnRH	10	0,00136	Adcy1, Gnaq, Map2k4, Map3k2, Mapk10, Mapk8, Prkacb, Prkca, Prkcb, Sos1
4012	Vía de señalización de ErbB signaling pathway	9	0,00435	Braf, Gsk3b, Map2k4, Mapk10, Mapk8, Pik3ca, Prkca, Prkcb, Sos1
4664	Vía de señalización de Fc epsilon RI signaling pathway	8	0,00435	Map2k4, Mapk10, Mapk8, Pik3ca, Prkca, Prkcb, Prkce, Sos1
4921	Vía de señalización de oxitocina	12	0,00435	Adcy1, Camk1d, Camk4, Eef2k, Gnaq, Gucy1a2, Pik3ca, Prkacb, Prkca, Prkcb, Rgs2, Rock2
4270	Contracción del músculo blando vascular	10	0,00808	Adcy1, Braf, Gnaq, Gucy1a2, Prkacb, Prkca, Prkcb, Prkce, Prkg1, Rock2
4720	Potenciación a largo plazo	7	0,00815	Adcy1, Braf, Camk4, Gnaq, Prkacb, Prkca, Prkcb
4728	Sinapsis dopaminérgica	10	0,00815	Clock, Gnal, Gnaq, Gsk3b, Kif5c, Mapk10, Mapk8, Prkacb, Prkca, Prkcb
5210	Cáncer colorrectal	7	0,00887	Braf, Dcc, Gsk3b, Mapk10, Mapk8, Pik3ca, Smad2
4750	Regulación mediada	9	0,0155	Adcy1, Gnaq, Mapk10, Mapk8, Pik3ca, Prkacb, Prkca, Prkcb, Prkce

	mediante inflamación de los canales TRP			
4916	Melanogénesis	8	0,0155	Adcy1, Ednrb, Fzd3, Gnaq, Gsk3b, Prkacb, Prkca, Prkcb
4970	Secreción salivar	7	0,0155	Adcy1, Gnaq, Gucy1a2, Prkacb, Prkca, Prkcb, Prkg1
5206	MicroARNs en cancer	10	0,0155	Bcl2l11, Dnmt3a, Fzd3, Igf2bp1, Mdm4, Prkca, Prkcb, Prkce, Pten, Sos1
5223	Células no pequeñas de pulmón	6	0,0155	Braf, Pik3ca, Prkca, Prkcb, Rxra, Sos1
4360	Guía axonal	9	0,0174	Dcc, Gsk3b, Plxna2, Plxna4, Rock2, Sema3a, Sema5a, Unc5c, Unc5d
4510	Adhesión focal	12	0,0174	Braf, Cav2, Gsk3b, Mapk10, Mapk8, Pik3ca, Prkca, Prkcb, Pten, Rock2, Sos1, Xiap
4723	Señalización de endocannabinoides retrógrados	8	0,0174	Adcy1, Gabrb2, Gnaq, Mapk10, Mapk8, Prkacb, Prkca, Prkcb
4730	Depresión a largo plazo	6	0,0174	Braf, Gnaq, Gucy1a2, Prkca, Prkcb, Prkg1
5142	Enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis Americana)	8	0,0174	Adcy1, Gnal, Gnaq, Map2k4, Mapk10, Mapk8, Pik3ca, Smad2
5214	Glioma	6	0,0174	Braf, Pik3ca, Prkca, Prkcb, Pten, Sos1
4150	Vía de señalización de mTOR	6	0,0198	Braf, Pik3ca, Prkca, Prkcb, Pten, Rictor

4068	Vía de señalización de FoxO	9	0,0207	Bcl2l11, Braf, Fbxo32, Mapk10, Mapk8, Pik3ca, Pten, Smad2, Sos1
4914	Maduración de oocitos mediada por progesterona	7	0,0211	Adcy1, Braf, Mapk10, Mapk8, Pgr, Pik3ca, Prkacb
4010	Vía de señalización de MAPK	13	0,0224	Braf, Elk4, Map2k4, Map3k2, Mapk10, Mapk8, Ntrk2, Prkacb, Prkca, Prkcb, Rasa2, Sos1, Taok1
4022	Vía de señalización de cGMP-PKG	10	0,0227	Adcy1, Ednrb, Gnaq, Gucy1a2, Pik3ca, Prkce, Prkg1, Rgs2, Rock2, Slc8a1
4724	Sinapsis Glutamatérgica	8	0,0227	Adcy1, Gnaq, Prkacb, Prkca, Prkcb, Slc1a2, Slc38a1, Slc38a2
4727	Sinápsis GABAérgica	7	0,0227	Adcy1, Gabrb2, Prkacb, Prkca, Prkcb, Slc38a1, Slc38a2
4310	Vía de señalización de Wnt	9	0,0231	Fzd3, Gsk3b, Mapk10, Mapk8, Prkacb, Prkca, Prkcb, Rock2, Tbl1xr1
5200	Vías de señalización en cáncer	15	0,0231	Braf, Dcc, Fzd3, Gsk3b, Mapk10, Mapk8, Pik3ca, Prkca, Prkcb, Pten, Runx1, Rxra, Smad2, Sos1, Xiap
4722	Vía de señalización de neurotrofinas	8	0,0254	Braf, Camk4, Gsk3b, Mapk10, Mapk8, Ntrk2, Pik3ca, Sos1
4713	Arrastre Circadiano	7	0,0262	Adcy1, Gnaq, Gucy1a2, Prkacb, Prkca, Prkcb, Prkg1
5166	Infección por HTLV-I	13	0,0279	Adcy1, Elk4, Fzd3, Gsk3b, Il2ra, Map2k4, Mapk8, Myb, Pik3ca, Prkacb, Smad2, Trp53inp1, Xiap
4020	Vía de señalización del Calcio	10	0,0294	Adcy1, Camk4, Ednrb, Gnal, Gnaq, Pde1c, Prkacb, Prkca, Prkcb, Slc8a1

5213	Cáncer de endometrio	5	0,0307	Braf, Gsk3b, Pik3ca, Pten, Sos1
4917	Vía de señalización de prolactina	6	0,0318	Gsk3b, Mapk10, Mapk8, Pik3ca, Prlr, Sos1
4961	Reabsorción de calico regulada por factores endocrinos y otros factores	5	0,0402	Gnaq, Prkacb, Prkca, Prkcb, Slc8a1

Tabla 4. Interacciones y resultados del análisis funcional. Conjunto D.

E) Un conjunto de cuatro miRNAs (Tabla 5):

CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p),

5 TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p),

TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),

GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p).

ID de la vía	Descripción de la vía	Conteo de genes observados	tasa de falso descubrimiento	proteínas coincidentes en la red (labels)
4360	Guía axonal	11	0,0125	Cxcl12, Pak3, Plxna4, Rgs3, Robo2, Sema3a, Sema3d, Sema5a, Srgap3, Unc5c, Unc5d
4070	Sistema de señalización de fosfatidilinositol	8	0,0129	Impad1, Inpp4b, Pik3ca, Pikfyve, Prkca, Prkcb, Pten, Synj1
4720	Potenciación a largo plazo	7	0,0129	Adcy1, Braf, Camk4, Gnaq, Grm5, Prkca, Prkcb
4730	Depresión a largo plazo	7	0,0129	Braf, Gna13, Gnaq, Gucy1a2, Prkca, Prkcb, Prkg1

4540	Unión Gap	8	0,0148	Adcy1, Gnaq, Grm5, Gucy1a2, Map3k2, Prkca, Prkcb, Prkg1
4725	Sinapsis colinérgica	9	0,0148	Adcy1, Bcl2, Camk4, Gnaq, Kcnj2, Kcnj3, Pik3ca, Prkca, Prkcb
4713	Arrastre Circadiano	8	0,0194	Adcy1, Gnaq, Gria4, Gucy1a2, Kcnj3, Prkca, Prkcb, Prkg1
4723	Sñalización de endocannabinoides retrógrados	8	0,0313	Adcy1, Gabrb2, Gnaq, Gria4, Grm5, Kcnj3, Prkca, Prkcb
562	Metabolismo del Inositol fosfato	6	0,0366	Impad1, Inpp4b, Pik3ca, Pikfyve, Pten, Synj1
4012	Vía de señalización de ErbB	7	0,0366	Abl2, Braf, Crk, Pak3, Pik3ca, Prkca, Prkcb
4724	Sinapsis glutamatérgica	8	0,0442	Adcy1, Gnaq, Gria4, Grm5, Kcnj3, Prkca, Prkcb, Slc38a1
4064	Vía de señalización de NF-kappa B	7	0,0456	Bcl2, Cxcl12, Ikbkg, Map3k7, Prkcb, Tab3, Xiap

Tabla 5. Interacciones y resultados del análisis funcional. Conjunto E.

F) Un conjunto de cuatro miRNAs (Tabla 6):

TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p),

5 TGGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p),

AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p),

TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p).

ID de la vía	Descripción de la vía	Conteo de genes observados	tasa de falso descubrimiento	proteínas coincidentes en la red (labels)
4710	Ritmo circadiano	5	0,0116	Clock, Creb1, Prkaa2, Rora, Rorb

Tabla 6. Interacciones y resultados del análisis funcional. Conjunto F.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición que comprende al menos un oligonucleótido derivado de miRNAs obtenidos de la saliva de la garrapata *Ixodes ricinus*, siendo seleccionado dicho oligonucleótido del grupo que comprende:
- 5
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO. 1),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p, SEQ ID NO. 2),
  - 10 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGACTAGATCCCACTCATCCA (iri-miR-279a-3p, SEQ ID NO. 3),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p, SEQ ID NO. 4),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p, SEQ ID NO. 5),
  - 15 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p, SEQ ID NO. 6),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p, SEQ ID NO. 7),
  - 20 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p, SEQ ID NO. 8),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p, SEQ ID NO. 9),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p, SEQ ID NO. 10),
  - 25 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p, SEQ ID NO. 11),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p, SEQ ID NO. 12),
  - 30 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p, SEQ ID NO. 13),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CTGGTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p, SEQ ID NO. 14),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GCTGTCAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p, SEQ ID NO. 15),
  - 35

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p, SEQ ID NO. 16),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p, SEQ ID NO. 17),
- 5 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p, SEQ ID NO. 19),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia  
10 AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p, SEQ ID NO. 20),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p, SEQ ID NO. 21).

2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos dos, o al  
15 menos tres, o al menos cuatro oligonucleótidos derivados de miRNAs de saliva de la garrapata *Ixodes ricinus*.

3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende al menos un  
oligonucleótido de miRNA de saliva de la garrapata *Ixodes ricinus* seleccionado del grupo que  
20 comprende:

- un oligonucleótido con secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO. 1),
- un oligonucleótido con secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p, SEQ ID NO. 2),
- 25 - un oligonucleótido con secuencia TGACTAGATCCCACTCATCCA (iri-miR-279a-3p, SEQ ID NO. 3),
- un oligonucleótido con secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p, SEQ ID NO. 4),
- un oligonucleótido con secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p, SEQ  
30 ID NO. 5),
- un oligonucleótido con secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p, SEQ ID NO. 6),
- un oligonucleótido con secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p, SEQ ID NO. 7),
- 35 - un oligonucleótido con secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p, SEQ ID NO. 8),

- un oligonucleótido con secuencia TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p, SEQ ID NO. 9),
- un oligonucleótido con secuencia AAAAATTGTGGTAGTGTCAAGC (iri-miR-96-3p, SEQ ID NO. 10),
- 5 - un oligonucleótido con secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p, SEQ ID NO. 11),
- un oligonucleótido con secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p, SEQ ID NO. 12),
- un oligonucleótido con secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p, SEQ ID NO. 13),
- 10 - un oligonucleótido con secuencia CTGGTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p, SEQ ID NO. 14),
- un oligonucleótido con secuencia GCTGTCAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p, SEQ ID NO. 15),
- 15 - un oligonucleótido con secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p, SEQ ID NO. 16),
- un oligonucleótido con secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p, SEQ ID NO. 17),
- un oligonucleótido con secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18),
- 20 - un oligonucleótido con secuencia TGGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p, SEQ ID NO. 19),
- un oligonucleótido con secuencia AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p, SEQ ID NO. 20),
- 25 - un oligonucleótido con secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p, SEQ ID NO. 21).

4. La composición de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende al menos dos, o al menos tres, o al menos cuatro oligonucleótidos de miRNA de saliva de la garrapata *Ixodes ricinus*.

30

5. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende al menos dos o al menos tres oligonucleótidos seleccionados del grupo compuesto por:

- 35 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAATACTGTCAGGTAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO. 1),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p, SEQ ID NO. 2),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGACTAGATCCCACTCATCCA (iri-miR-279a-3p, SEQ ID NO. 3),
  - 5 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p, SEQ ID NO. 4);
- o seleccionados del grupo compuesto por
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p, SEQ ID NO. 5),
  - 10 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p, SEQ ID NO. 6),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p, SEQ ID NO. 7),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p, SEQ ID NO. 8);
  - 15 o seleccionados del grupo compuesto por
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p, SEQ ID NO. 9),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p, SEQ ID NO. 10),
  - 20 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p, SEQ ID NO. 11),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p, SEQ ID NO. 12);
  - 25 o seleccionados del grupo compuesto por
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p, SEQ ID NO. 13),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CTGGTTTTCACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p, SEQ ID NO. 14),
  - 30 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GCTGTCAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p, SEQ ID NO. 15),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p, SEQ ID NO. 16);
  - o seleccionados del grupo compuesto por
- 35 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p, SEQ ID NO. 17),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO. 1),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18),
- 5 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p, SEQ ID NO. 5); o seleccionados del grupo compuesto por
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18),
- 10 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p, SEQ ID NO. 19),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p, SEQ ID NO. 20),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p, SEQ ID NO. 21);

Y opcionalmente al menos una secuencia adicional seleccionada del grupo definido en la reivindicación 1.

6. La composición de acuerdo con la reivindicación 5, que comprende al menos dos o al menos tres oligonucleótidos seleccionados del grupo compuesto por:

- un oligonucleótido con secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO. 1),
- un oligonucleótido con secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p, SEQ ID NO. 2),
- 25 - un oligonucleótido con secuencia TGACTAGATCCCACTCATCCA (iri-miR-279a-3p, SEQ ID NO. 3),
- un oligonucleótido con secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p, SEQ ID NO. 4);
- o seleccionados del grupo compuesto por
- 30 - un oligonucleótido con secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p, SEQ ID NO. 5),
- un oligonucleótido con secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p, SEQ ID NO. 6),
- un oligonucleótido con secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p, SEQ ID NO. 7),

- un oligonucleótido con secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p, SEQ ID NO. 8);
- o seleccionados del grupo compuesto por
- un oligonucleótido con secuencia TAATCTCATTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p, SEQ ID NO. 9),
- un oligonucleótido con secuencia AAAAATTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p, SEQ ID NO. 10),
- un oligonucleótido con secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p, SEQ ID NO. 11),
- un oligonucleótido con secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p, SEQ ID NO. 12);
- o seleccionados del grupo compuesto por
- un oligonucleótido con secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p, SEQ ID NO. 13),
- un oligonucleótido con secuencia CTGGTTTTCACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p, SEQ ID NO. 14),
- un oligonucleótido con secuencia GCTGTCAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p, SEQ ID NO. 15),
- un oligonucleótido con secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p, SEQ ID NO. 16);
- o seleccionados del grupo compuesto por
- un oligonucleótido con secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p, SEQ ID NO. 17),
- un oligonucleótido con secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO. 1),
- un oligonucleótido con secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18),
- un oligonucleótido con secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTGC (iri-miR-X1h-5p, SEQ ID NO. 5);
- o seleccionados del grupo compuesto por
- un oligonucleótido con secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18),
- un oligonucleótido con secuencia TGGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p, SEQ ID NO. 19),
- un oligonucleótido con secuencia AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p, SEQ ID NO. 20),

- un oligonucleótido con secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p, SEQ ID NO. 21);

Y opcionalmente al menos una secuencia adicional seleccionada del grupo definido en la reivindicación 1.

5

7. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende:

Una mezcla de

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO. 1),
- 10 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p, SEQ ID NO. 2),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGACTAGATCCACACTCATCCA (iri-miR-279a-3p, SEQ ID NO. 3), y
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la
- 15 secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p, SEQ ID NO. 4);

o una mezcla de

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p, SEQ ID NO. 5),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la
- 20 secuencia CCAACCCACTA ACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p, SEQ ID NO. 6),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p, SEQ ID NO. 7), y
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p, SEQ ID NO. 8);

25 o una mezcla de

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAATCTCATTTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p, SEQ ID NO. 9),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p, SEQ ID NO. 10),
- 30 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p, SEQ ID NO. 11), y
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p, SEQ ID NO. 12);

o una mezcla de

- 35 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p, SEQ ID NO. 13),

- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CTGGTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p, SEQ ID NO. 14),
- un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GCTGTCAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p, SEQ ID NO. 15), y
- 5 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p, SEQ ID NO. 16);  
o una mezcla de
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p, SEQ ID NO. 17),
  - 10 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO. 1),
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18), y
  - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p, SEQ ID NO. 5);
  - 15 o una mezcla de
    - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18),
    - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p, SEQ ID NO. 19),
    - 20 - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p, SEQ ID NO. 20), y
    - un oligonucleótido con una secuencia que tiene al menos 90% de similitud con la secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p, SEQ ID NO. 21).

25

8. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende:

Una mezcla de

- un oligonucleótido con secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO. 1),
- 30 - un oligonucleótido con secuencia TGAACACAGCTGGTGGTATATCAG (iri-miR-317-3p, SEQ ID NO. 2),
- un oligonucleótido con secuencia TGACTAGATCCCACTCATCCA (iri-miR-279a-3p, SEQ ID NO. 3), y
- un oligonucleótido con secuencia TGAGATCATTGTGAAAGCTGATT (iri-miR-bantam-3p, SEQ ID NO. 4);
- 35 o una mezcla de

- un oligonucleótido con secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p, SEQ ID NO. 5),
- un oligonucleótido con secuencia CCAACCCACTAACTGACGGAAC (iri-miR-X1h-3p, SEQ ID NO. 6),
- 5 - un oligonucleótido con secuencia CCCCTTCGTCCACGTTCTAG (iri-miR-X17-5p, SEQ ID NO. 7), y
- un oligonucleótido con secuencia CGGCTCTGGCGCTGGCCCCAGC (iri-miR-X8-3p, SEQ ID NO. 8);
- o una mezcla de
- 10 - un oligonucleótido con secuencia TAATCTCATTGGTATCTCTGGG (iri-miR-5307-5p, SEQ ID NO. 9),
- un oligonucleótido con secuencia AAAAATTGTGGTAGTGCAAGC (iri-miR-96-3p, SEQ ID NO. 10),
- un oligonucleótido con secuencia TAGGAACTTCATACCATGCTCG (iri-miR-276-3p, SEQ ID NO. 11), y
- 15 - un oligonucleótido con secuencia TCTCACTACCTTGTCTTTGTTG (iri-miR-71-3p, SEQ ID NO. 12);
- o una mezcla de
- un oligonucleótido con secuencia GATGACTGTGCCTCTAGTCCATG (iri-miR-279a-5p, SEQ ID NO. 13),
- 20 - un oligonucleótido con secuencia CTGGTTTTACAATGATCGTCCAGA (iri-miR-bantam-5p, SEQ ID NO. 14),
- un oligonucleótido con secuencia GCTGTGAGTTTGTGGGCTGGTGC (iri-miR-X26-5p, SEQ ID NO. 15), y
- 25 - un oligonucleótido con secuencia ACTCGACGTAGCGCCCGCACTC (iri-miR-X12-3p, SEQ ID NO. 16);
- o una mezcla de
- un oligonucleótido con secuencia CATCTTACCAGACAGCATTAGA (iri-miR-8-5p, SEQ ID NO. 17),
- 30 - un oligonucleótido con secuencia TAATACTGTCAGGTAAAGATGTC (iri-miR-8-3p, SEQ ID NO. 1),
- un oligonucleótido con secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18), y
- un oligonucleótido con secuencia GCTGTTAGTTTGTAGGGTGGTG (iri-miR-X1h-5p, SEQ ID NO. 5);
- 35 o una mezcla de

- un oligonucleótido con secuencia TCTTTGGTTATCTAGCTGTATGA (iri-miR-9a-5p, SEQ ID NO. 18),
  - un oligonucleótido con secuencia TGGAATGTAAAGAAGTATGGAG (iri-miR-1-3p, SEQ ID NO. 19),
  - 5     - un oligonucleótido con secuencia AGATATGTTTGATATTCTTGGTT (iri-miR-190-5p, SEQ ID NO. 20), y
  - un oligonucleótido con secuencia TTGTGACCGTTACAATGGGCAT (iri-miR-2001-5p, SEQ ID NO. 21).
- 10   9. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende los oligonucleótidos en forma de liposomas.
10. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes para el uso como medicamento.
- 15
11. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para el uso en un método de tratamiento de un trastorno seleccionado entre cánceres, enfermedades inflamatorias, alergias, dermatitis atópica, lupus, asma, dolor crónico, dolor local, trastornos relacionados con el ritmo circadiano, enfermedades del metabolismo, diabetes, glaucoma,
- 20   hepatitis, enfermedades cardiovasculares, enfermedad de Parkinson, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas y epilepsia.
12. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para el uso en un método de regulación de la homeostasis de un organismo de mamífero.
- 25
13. Una preparación que comprende al menos una composición de la presente invención y al menos otra sustancia farmacéuticamente activa, preferiblemente destinada a administración simultánea o secuencial.
- 30   14. Un oligonucleótido que tiene al menos 90%, preferiblemente al menos 95%, más preferiblemente 100%, de similitud con una secuencia de miRNA de la garrapata, preferiblemente con una secuencia de miRNA de la garrapata Ixodes ricinus, para su uso como medicamento en el tratamiento de trastornos de salud de mamíferos; tratamiento de un trastorno de mamífero seleccionado entre cánceres, enfermedades inflamatorias, alergias,
- 35   dermatitis atópica, lupus, asma, dolor crónico, dolor local, trastornos relacionados con el ritmo circadiano, enfermedades metabólicas, diabetes, glaucoma, hepatitis, enfermedades

cardiovasculares, enfermedad de Parkinson, enfermedades neurológicas y neurodegenerativas y epilepsia.



- ②1 N.º solicitud: 201730635  
②2 Fecha de presentación de la solicitud: 24.04.2017  
③2 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤1 Int. Cl.: **C12N15/11** (2006.01)  
**A61K31/7105** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤6 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	US 2009163435 A1 (BADER ANDREAS G et al.) 25/06/2009, párrafos [0014]-[0015]; Lista de Secuencias.	1, 3, 9-14
X	ZHOU JINLIN et al. Distinctive microRNA profiles in the salivary glands of Haemaphysalis longicornis related to tick blood-feeding. Experimental and Applied Acarology MAR 2013. , 28/02/2013, Vol. 59, Nº 3, Páginas 339-349, ISSN 0168-8162(print) ISSN 1572-9702(electronic), <DOI: doi: 10.1007/s10493-012-9604-3>. Resultados, Supplementary material: Additional file 3; Additional file 4.	1, 3, 9-14
X	BARRERO ROBERTO A et al. Evolutionary conserved microRNAs are ubiquitously expressed compared to tick-specific miRNAs in the cattle tick Rhipicephalus (Boophilus) microplus. BMC Genomics JUN 24 2011. , 24/06/2011, Vol. 12, Páginas Article No.: 328, ISSN 1471-2164(print) ISSN 1471-2164(electronic), <DOI: doi: 10.1186/1471-2164-12-328>. Resultados y Discusión, Additional file 3.	1, 3, 9-14
A	WO 2012071492 A1 (GEORGIA TECH RES INST et al.) 31/05/2012, todo el documento.	1, 3, 9-14
A	US 2009131356 A1 (BADER ANDREAS G et al.) 21/05/2009, todo el documento.	1, 3, 9-14
A	SCHWARZ ALEXANDRA et al. A Systems Level Analysis Reveals Transcriptomic and Proteomic Complexity in Ixodes Ricinus Midgut and Salivary Glands During Early Attachment and Feeding. Molecular & Cellular Proteomics OCT 2014. , 30/09/2014, Vol. 13, Nº 10, Páginas 2725-2735, ISSN 1535-9476(print) ISSN 1535-9484(electronic), <DOI: doi:10.1074/mcp.M114.039289>. todo el documento.	1, 3, 9-14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia  
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría  
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita  
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud  
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones  para las reivindicaciones nº: 1, 3, 9-13, 14

Fecha de realización del informe 15.03.2018	Examinador J. L. Vizán Arroyo	Página 1/2
--	----------------------------------	---------------

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12Q, C12N, A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, INTERNET