

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 689 508**

51 Int. Cl.:

C12N 15/11 (2006.01)

A61K 31/7105 (2006.01)

A61K 31/7115 (2006.01)

A61K 31/712 (2006.01)

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 12191738 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 2623598**

54 Título: **Micromir**

30 Prioridad:

04.10.2007 US 977497 P
11.10.2007 US 979217 P
12.02.2008 US 28062 P
17.07.2008 EP 08104780

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.11.2018

73 Titular/es:

**ROCHE INNOVATION CENTER COPENHAGEN
A/S (100.0%)
Fremtidsvej 3
2970 Hørsholm, DK**

72 Inventor/es:

**OBAD, SUSANNA;
KAUPPINEN, SAKARI;
ELMÉN, JOACIM;
LINDOW, MORTEN y
HEIDENBLAD, MARKUS**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 689 508 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

MICROMIR

5 **Campo de la invención**

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

10 **Antecedentes de la invención**

Los microARN (miARN) son una clase abundante de ARN endógenos cortos que actúan como reguladores postranscripcionales de la expresión génica por apareamiento de bases con sus ARNm diana. Se procesan a partir de precursores de tipo horquilla más largos (aprox. 70-80 nt) denominados pre-miARN por la enzima RNasa III Dícer.

15 Los microARN se ensamblan en complejos de ribonucleoproteínas denominados miRNP y reconocen sus sitios diana por complementariedad antisentido, mediando de este modo en la regulación negativa de sus genes diana. La complementariedad casi perfecta o perfecta entre el miARN y su sitio diana da como resultado la escisión del ARNm diana, mientras que la complementariedad limitada entre el microARN y el sitio diana da como resultado la inhibición de la traducción del gen diana.

20 Se proporciona un resumen del papel de los microARN en enfermedades humanas, y de la inhibición de microARN usando oligonucleótidos monocatenarios, en los documentos WO2007/112754 y WO2007/112753; el documento WO2008046911 proporciona secuencias de microARN que están asociadas con cáncer. Numerosos microARN se han asociado con fenotipos de enfermedad y, por lo tanto, es deseable proporcionar sustancias capaces de modular la disponibilidad de microARN *in vivo*. Los documentos WO2007/112754 y WO2007/112753 divulgan oligonucleótidos monocatenarios cortos que se considera que forman un dúplex fuerte con su miARN diana. Las SEQ ID NO: 1-45 son ejemplos de oligonucleótidos anti-microARN como se divulga en los documentos WO2007/112754 y WO2007/112753.

30 **Solicitudes relacionadas**

Esta solicitud reivindica prioridad de cuatro solicitudes: el documento US 50/977497, presentado el 4 de octubre de 2007, el documento US 60/979217, presentado el 11 de octubre de 2007, el documento US 61/028062, presentado el 12 de febrero de 2008, y el documento EP08104780, presentado el 17 de julio de 2008. Además, se hace referencia a los documentos WO2007/112754 y WO2007/112753, que son solicitudes anteriores de los mismos solicitantes.

35 **Sumario de la invención**

40 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 alta proporción de nucleótidos análogos de nucleótidos, tales como nucleótidos LNA, es altamente eficaz para aliviar la represión de ARN, tales como un ARNm, por los microARN a los que están dirigidos *in vivo*.

45 La presente invención proporciona un oligómero de una secuencia de nucleobases contiguas de un total de 7-12 nucleobases, en el que todas las unidades de nucleobases del oligómero son unidades de LNA; y en el que al menos el 75 % de los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases de la secuencia de nucleobases contiguas son enlaces internucleosídicos de fosforotioato, y en el que el oligómero es capaz de reducir la cantidad eficaz de un microARN en una célula o *in vivo*.

50 La presente invención proporciona un oligómero de una secuencia de nucleobases contigua de 7-12 nucleobases de longitud, en el que todas las unidades de nucleobases del oligómero son unidades de LNA, y en el que al menos el 75 % de los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases de la secuencia de nucleobases contiguas son enlaces internucleosídicos de fosforotioato, y en el que el oligómero es capaz de reducir la cantidad eficaz de un microARN en una célula o *in vivo*; en el que el oligómero es para uso como medicamento.

55 El oligómero de la invención puede ser en algunos modos de realización de entre 7-10 nucleótidos de longitud, que comprende una secuencia de nucleótidos contigua de un total de entre 7-10 nucleótidos, tal como 7, 8, 9 o 10 unidades de nucleótidos, en el que la secuencia de nucleótidos es complementaria de una secuencia de nucleótidos correspondiente encontrada en microARN de mamífero o vírico.

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

La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden el oligómero de la invención y un diluyente, vehículo, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

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

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.

La invención proporciona el tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión del microARN, que comprende 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 padece o es probable que padezca dicha enfermedad o trastorno médico.

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

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

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

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

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. Presentación esquemática de los LNA-antimiR octaméricos miR-21, miR-155 y miR-122, que indica las posiciones diana con el LNA-antimiR completamente modificado con LNA y fosforotiolado. También se indican las posiciones de hibridación preferentes para oligonucleótidos LNA heptaméricos, octaméricos, nonaméricos y decaméricos en el microARN maduro.

Figura 2. Valoración del antagonismo de miR-21 por LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3205 y SEQ ID NO: 3204 en células MCF-7 usando un ensayo de sensores de luciferasa. Las células MCF-7 se cotransfectaron con plásmidos de sensores de luciferasa que contenían un sitio diana de emparejamiento perfecto para miR-21 o un sitio diana de emparejamiento erróneos (mm2) y LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran la media de las proporciones de renilla/luciferasa para tres experimentos separados (barras = EEM), en los que todas se han normalizado frente a psiCHECK2 0 nM (= control).

Figura 3. Valoración del antagonismo de miR-21 por LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3205 y SEQ ID NO: 3204 en células HeLa usando un ensayo de sensores de luciferasa. Las células HeLa se cotransfectaron con plásmidos de sensores de luciferasa que contenían un sitio diana de emparejamiento perfecto para miR-21 (mir-21) o un sitio diana de emparejamiento erróneo (mm2) y LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran la media de las proporciones de renilla/luciferasa para tres experimentos separados (barras = EEM), en los que todas se han normalizado frente a psiCHECK2 0 nM (= control).

Figura 4. Valoración del antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3206 y SEQ ID NO: 3207 en células RAW de ratón tratadas con LPS usando un ensayo de sensores de luciferasa. Las células RAW se cotransfectaron con miR-155 y los diferentes LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestra la media de renilla/luciferasa, en la que todas se han normalizado frente a psiCHECK2 0 nM.

Figura 5. Valoración del antagonismo de miR-122 por LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3208 y SEQ ID NO: 4 en células HuH-7 usando un ensayo de sensores de luciferasa. Las células HuH-7 se cotransfectaron con un sensor de luciferasa de miR-122 que contenía un sitio diana de miR-122 de emparejamiento perfecto y los diferentes LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran la media de las proporciones de renilla/luciferasa para tres experimentos separados (barras = EEM), en los que todas se han normalizado frente a psiCHECK2 0 nM (= control).

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

Figura 7. Valoración del antagonismo de miR-21 por un LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3205) frente a LNA-antimiR pentadecamérico (SEQ ID NO: 3204) en células PC3 utilizando un ensayo de indicador de luciferasa. Las células PC3 se cotransfectaron con plásmidos de indicadores de luciferasa que contenían un sitio diana de

emparejamiento perfecto para miR-21 o un sitio diana de emparejamiento erróneo y LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = EEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin sitio diana (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y posición de los LNA-antimiR. Los nucleótidos LNA están indicados por óvalos y los residuos de ADN están indicados por barras.

5

Figura 8. Valoración de la especificidad del antagonismo de miR-21 por un LNA-antimiR octamérico en células HeLa usando un ensayo de indicador de luciferasa. Las células HeLa se cotransfectaron con plásmidos de indicadores de luciferasa que contenían un emparejamiento perfecto o un sitio diana de emparejamiento erróneo para miR-21 y LNA-antimiR (SEQ ID NO: 3205) o un oligo LNA octamérico de control de emparejamiento erróneo (SEQ ID NO: 3218) a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = EEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin sitio diana (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y posición de los LNA-antimiR. Los emparejamientos erróneos se indican con óvalos negros.

10

15

Figura 9. Valoración de la longitud más corta posible de un LNA-antimiR completamente modificado con LNA que media el antagonismo eficaz de miR-21. Las células HeLa se cotransfectaron con plásmidos de indicadores de luciferasa que contenían un emparejamiento perfecto o un sitio diana de emparejamiento erróneo para miR-21 y los LNA-antimiR a diferentes concentraciones (SEQ ID NO: 3209 = hexámero y SEQ ID NO: 3210 = heptámero). Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = EEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin sitio diana (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

20

25

Figura 10. Valoración de la longitud de LNA-antimiR completamente sustituidos con LNA que antagonizan miR-21. Las células HeLa se cotransfectaron con plásmidos indicadores de luciferasa que contenían un emparejamiento perfecto o un sitio diana de emparejamiento erróneo para miR-21 y LNA-antimiR a diferentes concentraciones (SEQ ID NO: 3211 = nonámero, SEQ ID NO: 3212 = decámero, SEQ ID NO: 3213 = dodecámero y SEQ ID NO: 3214 = tetradecámero). Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = EEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin sitio diana (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

30

35

Figura 11. Determinación de la posición más óptima para un LNA-antimiR octamérico dentro de la secuencia de reconocimiento de la diana miR. Las células HeLa se cotransfectaron con plásmidos de indicadores de luciferasa que contenían un emparejamiento perfecto o un sitio diana de emparejamiento erróneo para miR-21 y los LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = EEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin sitio diana (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

40

Figura 12. Validación de la interacción de 3'-UTR de Pdc4 y miR-21 por el LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3205 octamérico. Las células HeLa se cotransfectaron con un plásmido de indicador de luciferasa que contenía parte de la 3'UTR del gen Pdc4 y LNA-antimiR a diferentes concentraciones (SEQ ID NO: 3205 = octámero, emparejamiento perfecto; SEQ ID NO: 3218 = octámero, emparejamiento incorrecto; SEQ ID NO: 3204 = pentadecámero, mezcla de LNA/ADN, SEQ ID NO: 3220 = pentadecámero, gapmero). Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran las proporciones de renilla/luciérnaga que se han normalizado frente a 0 nM. Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

45

50

Figura 13. Comparación de un LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3207) con un LNA-antimiR pentadecamérico (SEQ ID NO: 3206) en el antagonismo de miR-155 en células RAW de ratón. Se cotransfectaron células RAW de ratón con plásmidos de indicadores de luciferasa que contenían un emparejamiento perfecto para miR-155 y los diferentes LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = EEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin sitio diana de miR-155 (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-155 y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

55

60

Figura 14. Valoración de c/EBP α Valoración de LNA-antimiR de c/EBP α (SEQ ID NO: 3207) con un LNA-antimiR pentadecamérico (SEQ ID NO: 3206) en el antagonismo de miR-155 en células RAW de ratón. Las células RAW de ratón se cotransfectaron con plásmidos de indicadores de luciferasa que contenían un emparejamiento perfecto para miR-155, y a las 20 horas las células se recogieron y se realizó un análisis de transferencia Western de extractos de

65

proteína de células RAW. Se indican las diferentes isoformas de c/EBP β , y se muestran a continuación las proporciones calculadas de c/EBP β LIP y tubulina beta.

5 **Figura 15.** Antagonismo de miR-106b por un LNA-antimiR octamérico modificado completamente con LNA (SEQ ID NO: 3221) o por un antimiR de secuencia mixta pentadecamérico (SEQ ID NO: 3228). Las células HeLa se cotransfectaron con plásmidos de indicadores de luciferasa que contenían un emparejamiento perfecto para miR-106b y los diferentes LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios de cuatro duplicados en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin sitio diana de miARN (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-106b y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

15 **Figura 16.** Antagonismo de miR-19b por un LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA (SEQ ID NO: 3222) y un antimiR de secuencia mixta pentadecamérico (SEQ ID NO: 3229). Las células HeLa se cotransfectaron con plásmidos de indicadores de luciferasa que contenían un emparejamiento perfecto para miR-19a y los dos LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios de cuatro experimentos duplicados, en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin un sitio diana de miR-19a (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-19a y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

20 **Figura 17.** Presentación esquemática que muestra las secuencias de miR-221 y miR-222 humanas maduras. En el cuadrado se muestra la secuencia semilla (heptámero) que se conserva en ambas secuencias de miARN.

25 **Figura 18.** Dirigir una familia de microARN usando LNA-antimiR corto completamente sustituido con LNA. Las células PC3 se cotransfectaron con plásmidos de indicadores de luciferasa para miR-221 y miR-222 por separado o conjuntamente y con los diferentes LNA-antimiR a concentraciones variables. Cuando se cotransfectaron con los LNA-antimiR (pentadecámeros) de SEQ ID NO: 3223 (contra miR-221) y SEQ ID NO: 3224 (contra miR-222), la concentración total fue de 2 nM (1 nM cada uno), mientras que transfectando las células con la SEQ ID NO: 3225 (heptámero) las concentraciones fueron de 0, 1, 5, 10 o 25 nM. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = EEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin sitio diana de miARN (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia miR-221/222 y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

35 **Figura 19.** Valoración de los niveles de proteína p27 como lectura funcional para el antagonismo de la familia de miR-221/222 por el LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3225 heptamérico. Las células PC3 se transflectaron con LNA-antimiR heptamérico de SEQ ID NO: 3225, dirigiéndose tanto a miR-221 como a miR-222 a concentraciones variables. Después de 24 horas, las células se recogieron y los niveles de proteína se midieron en una transferencia Western. Se muestran las proporciones de p27/tubulina.

40 **Figura 20.** Valoración del antagonismo de miR-21 por un LNA-antimR octamérico (SEQ ID NO: 3205) frente a un LNA-antimiR pentadecamérico (SEQ ID NO: 3204) y otro octámero con 2 emparejamientos erróneos (SEQ ID NO: 3218) en células HepG2 usando un ensayo de indicador de luciferasa.

45 Las células HepG2 se cotransfectaron con plásmido de indicador de luciferasa que contenía un sitio diana de emparejamiento perfecto para miR-21 y LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = EEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin sitio diana (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

50 **Figura 21.** Validación de la interacción de la 3'UTR de Pdc4 y miR-21 por el LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3205 frente al pentadecámero (SEQ ID NO: 3204) y un octámero con dos emparejamientos erróneos (SEQ ID NO: 3218).

55 Se cotransfectaron células Huh-7 con un plásmido de indicador de luciferasa que contenía parte de la 3'UTR del gen Pdc4, pre-miR-21 (10 nM) y LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = EEM) de tres experimentos independientes en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM sin sitio diana (= control). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR-21 y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

60 **Figura 22.** El antagonismo de miR-21 por la SEQ ID NO: 3205 da lugar a niveles aumentados de niveles de proteína Pdc4.

65 Las células HeLa se transflectaron con LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3205 5 nM (emparejamiento perfecto), o LNA de secuencia aleatoria de SEQ ID NO: 3219 (octamérico) o de SEQ ID NO: 3218 (octamérico de emparejamiento

erróneo). Las células se recogieron después de 24 horas y se sometieron a transferencia Western con anticuerpo contra Pdc4.

5 **Figura 23.** Niveles de ALT y AST en ratones tratados con SEQ ID NO: 3205 (emparejamiento perfecto) o SEQ ID NO: 3218 (control de emparejamiento erróneo). Los ratones se sacrificaron después de 14 días y después de haber recibido 25 mg/kg cada dos días.

10 **Figura 24.** Valoración de los niveles de proteína PU.1 como lectura funcional para el antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR corto (SEQ ID NO: 3207).

Las células THP-1 se cotransfectaron con pre-miR-155 (5 nmol) y se añadieron diferentes oligonucleótidos de LNA (5 nM) y LPS 100 ng/ml. Después de 24 horas, se recogieron las células y se realizó un análisis de transferencia Western de extractos de proteínas de las células THP-1. Se indican PU.1 y tubulina.

15 **Figura 25.** Valoración de los niveles de proteína p27 como lectura funcional para el antagonismo de la familia de miR-221/222 por el LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3225 heptamérico.

20 Las células PC3 se transfectaron con LNA-antimiR heptamérico de SEQ ID NO: 3225 dirigiéndose tanto a miR-221 como a miR-222 y un control de LNA de secuencia aleatoria a 5 y 25 nM. Después de 24 horas, las células se recogieron y los niveles de proteína se midieron en una transferencia Western. Se muestran las proporciones de p27/tubulina.

25 **Figura 26.** La desactivación génica de miR-221/222 por LNA-antimiR heptamérico de SEQ ID NO: 3225 (emparejamiento perfecto) reduce la formación de colonias en agar blando en células PC3.

30 Las células PC3 se transfectaron con 25 nM de LNA-antimiR heptamérico de SEQ ID NO: 3225 dirigiéndose tanto a miR-221 como a miR-222 o a un control de secuencia aleatoria heptamérico (SEQ ID NO: 3231). Después de 24 horas, las células se recogieron y se sembraron en agar blando. Después de 12 días, se contaron las colonias. Un experimento se ha realizado por triplicado.

Figura 27. Revisión de la familia let-7 humana, y de los antagonistas sometidos a prueba.

35 (Parte superior) Las secuencias representan el miARN maduro para cada miembro y el recuadro refleja los nucleótidos 2-16, las posiciones típicamente antagonizadas por LNA-antimiR. Las columnas a la derecha muestran el número de diferencias de nucleótidos en comparación con let-7a, dentro de la semilla (S: posición 2-8), semilla extendida (ES, posición 2-9) y la secuencia restante típicamente dirigida por LNA-antimiR (NE, posición 9-16), respectivamente. Los nucleótidos con colores invertidos están alterados en comparación con let-7a. (Parte inferior) Resumen de los antagonistas sometidos a prueba contra la familia let-7, incluyendo información sobre diseño, longitud y dianas perfectamente complementarias. Todos los compuestos están completamente fosforotiolados.

40 **Figura 28.** Valoración del antagonismo de let-7 por seis LNA-antimiR diferentes en células Huh-7 usando un ensayo de sensores de luciferasa.

45 Las células Huh-7 se cotransfectaron con plásmidos de sensores de luciferasa que contenían una 3'UTR de HMGA2 parcial (con cuatro sitios de unión a let-7), con o sin precursor de let-7a (barras grises y negras, respectivamente) y con 6 LNA-antimiR diferentes a concentraciones crecientes. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran la media de las proporciones renilla/luciérnaga para mediciones duplicadas y las desviaciones estandar para cada ensayo. Dentro de cada grupo de LNA-antimiR, todas las proporciones se han normalizado con respecto a la media de pocillos que no contienen precursor de let-7a (barras negras).

50 **Figura 29.** Resultados de luciferasa de células Huh-7 transfectadas con el plásmido de sensor de 3'UTR de HMGA2, LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3226 (izquierda) y SEQ ID NO: 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 de la diana después de la inclusión de pre-miR, mientras que las barras negras de control representan el nivel equivalente sin la adición de pre-miR. Cada proporción se basa en mediciones cuadruplicadas y se han normalizado frente al promedio de pocillos que no contienen precursor (barras negras) dentro de cada grupo de tratamiento.

60 **Figura 30.** Resultados de luciferasa de células HeLa transfectadas con el plásmido del sensor de 3'UTR de HMGA2 o vector de control y el LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3227 a diversas concentraciones. Cada proporción se basa en mediciones cuadruplicadas normalizadas frente al vector de control vacío sin tratamiento (0 nM) (psi-CHECK-2; barras grises).

65 **Figura 31.** Valoración del antagonismo de miR-21 por el octámero (n.º 3205) en células HCT116 usando un ensayo de sensores de luciferasa. Las células HCT116 se cotransfectaron con plásmidos de sensores de luciferasa que contenían un sitio diana de emparejamiento perfecto para miR-21 (barras grises) y LNA-antimiR y oligonucleótidos de control a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la

luciferasa. Se muestra un ejemplo típico de dos en el que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a un vector vacío de 0 nM (= barras negras).

5 **Figura 32.** El silenciamiento de miR-21 por LNA-antimiR de n.º 3205 octamérico reduce la formación de colonias en agar blando en células PC3. Las células PC3 se transfectaron con 25 nM de LNA-antimiR de n.º 3205 octamérico dirigiéndose a miR-21. Después de 24 horas, las células se recogieron y se sembraron en agar blando. Después de 12 días, se contaron las colonias. Se muestra la media de tres experimentos separados, cada uno realizado por triplicado, y normalizado frente a control de 0 nM (es decir, transfección pero sin LNA). $p = 0,01898$ para la n.º 3205.

10 **Figura 33.** La desactivación génica de miR-21 con LNA-antimiR de n.º 3205 octamérico reduce la formación de colonias en agar blando en células HepG2. Las células HepG2 se transfectaron con 25 nM de LNA-antimiR de n.º 3205 octamérico dirigiéndose a miR-21. Después de 24 horas, las células se recogieron y se sembraron en agar blando. Después de 17 días, se contaron las colonias. Se muestra la media de tres duplicados de un experimento (barras = EEM).

15 **Figura 34.** Cierre de herida en la línea de células de próstata humana invasivas PC3 después del tratamiento con la n.º 3205. (A) Las células PC3 se transfectaron el día 3 con LNA-antimiR y oligonucleótidos de control a 25 nM, n.º 3205 (octámero, emparejamiento perfecto) y n.º 3219 (octámero, emparejamiento erróneo) y al día siguiente se realizó un raspado. Se tomaron imágenes después de 24 horas para monitorizar la migración. (B) El área en cada punto temporal se ha medido con el programa de software Imagen J y se ha normalizado frente al respectivo punto temporal de 0 h.

20 **Figura 35.** Valoración de la longitud de LNA-antimiR completamente sustituidos con LNA que antagonizan miR-155. Se cotransfectaron células RAW con plásmidos de indicadores de luciferasa que contenían un sitio diana de emparejamiento perfecto para miR-155 y con oligonucleótidos de LNA-antimiR a diferentes concentraciones. Después de 24 horas, las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa. Se muestran los valores medios (barras = EEM) para tres experimentos independientes en los que las proporciones renilla/luciérnaga se han normalizado frente a vector vacío de 0 nM sin sitio diana (= simulado). Se muestra también una presentación esquemática de la secuencia de miR y el diseño y posición de los LNA-antimiR.

30 **Figura 36.** Unión de LNA-antimiR-21 marcado con 5-FAM (n.º 3205) con proteína de plasma de ratón.

(A) % de compuesto de LNA-antimiR-21 libre en función de la concentración de oligonucleótido en plasma de ratón. (B) Concentración de compuesto de LNA-antimiR-21 libre de n.º 3205 en función de la concentración de n.º 3205 en plasma de ratón.

35 **Figura 37.** Cuantificación de los niveles de proteína Ras mediante análisis de transferencia Western.

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

45 B. El silenciamiento de miR-21 por la n.º 3205 da lugar a niveles aumentados de niveles de proteína Pcd4 *in vivo*.

C. Se inyectó a los ratones solución salina o 25 mg/kg de LNA-antimiR (n.º 3205) durante 14 días cada dos días, con un total de 5 dosis. Se sacrificaron los ratones, se aisló de riñón la proteína y se sometió a análisis de transferencia Western con anticuerpo contra Pcd4. A. Imagen de gel que muestra las proteínas Pcd4 y Gapdh (patrón interno) en muestras de riñón tratadas (antimiR-21; octámero) frente a no tratadas (solución salina) (M1, ratón 1; M2, ratón 2). B. Cuantificación de los niveles de proteína Pcd4 en riñones de ratones tratados con LNA-antimiR (barras de color gris oscuro), normalizados frente al promedio de controles de solución salina equivalente (barras de color gris claro), usando Gapdh como control de carga.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

55 Los oligonucleótidos cortos que incorporan LNA son conocidos en el área de los reactivos *in vitro* (véanse, por ejemplo, los documentos WO2005/098029 y WO 2006/069584). Sin embargo, las moléculas diseñadas para uso diagnóstico o como reactivo son muy diferentes en diseño que aquellas para uso *in vivo* o farmacéutico. Por ejemplo, los nucleótidos terminales de los oligos reactivos típicamente no son LNA, sino ADN, y los enlaces internucleosídicos son típicamente distintos de fosforotioato, el enlace preferente para uso en los oligonucleótidos de la presente invención. Por lo tanto, la invención proporciona una clase novedosa de oligonucleótidos (a los que se hace referencia en el presente documento como oligómeros) en sí misma.

60 Los siguientes modos de realización hacen referencia a ciertos modos de realización del oligómero de la invención, que se pueden usar en una composición farmacéutica. Los aspectos que hacen referencia al oligómero también pueden hacer referencia a la secuencia de nucleótidos contigua, y viceversa.

El oligómero

- 5 El oligómero de la invención es un oligonucleótido monocatenario en el que el LNA forma la secuencia de nucleótidos contigua completa del oligonucleótido. La secuencia de nucleótidos del oligómero consiste en una secuencia de nucleótidos contigua.
- 10 El término "oligonucleótido" (o simplemente "oligo"), que se usa indistintamente con el término "oligómero" hace referencia, en el contexto de la presente invención, a una molécula formada por enlace covalente de dos o más nucleótidos. Cuando se usa en el contexto del oligonucleótido de la invención (al que también se hace referencia como oligonucleótido monocatenario), el término "oligonucleótido" puede tener, en un modo de realización, por ejemplo, entre 7-10 nucleótidos, tal como en modos de realización individuales, 7, 8, 9 o 10.
- 15 El término "nucleótido" hace referencia a nucleótidos, tales como ADN y ARN, y análogos de nucleótidos. Debe reconocerse que, en algunos aspectos, el término nucleobase también se puede usar para hacer referencia a un nucleótido que puede ser de origen natural o no natural; a este respecto, el término nucleobase y nucleótido se pueden usar indistintamente en el presente documento.
- 20 En algunos modos de realización, la secuencia de nucleótidos contiguos consiste en 7 unidades de LNA de nucleótidos. En algunos modos de realización, la secuencia de nucleótidos contiguos consiste en 8 unidades de LNA de nucleótidos. En algunos modos de realización, la secuencia de nucleótidos contiguos consiste en 9 unidades de LNA de nucleótidos.
- 25 Como se describe a continuación, la secuencia de nucleótidos contigua consiste únicamente en unidades de LNA (incluyendo grupos de enlace, tales como enlaces de fosforotioato).
- El oligómero puede consistir en la secuencia de nucleótidos contigua.
- 30 En un modo de realización especialmente preferente, todos los análogos de nucleótidos son LNA. Además, todos los nucleótidos del oligómero son LNA. En un modo de realización preferente adicional, todos los nucleótidos del oligómero son LNA y todos los grupos de enlace internucleosídico son fosfotioato.
- 35 En el presente documento, el término "base nitrogenada" pretende cubrir purinas y pirimidinas, tales como las nucleobases de ADN A, C, T y G, las nucleobases de ARN A, C, U y G, así como las nucleobases que no son ADN/ARN, tales como 5-metilcitosina (^{Me}C), isocitosina, pseudoisocitosina, 5-bromouracilo, 5-propiniluracilo, 5-propinil-6-fluoroluracilo, 5-metil-6-tiazoluracilo, 6-aminopurina, 2-aminopurina, inosina, 2,6-diaminopurina, 7-propino-7-desazadenina, 7-propino-7-desazaguanina y 2-cloro-6-aminopurina, en particular ^{Me}C. Se entenderá que la selección real de la nucleobase que no es ADN/ARN dependerá del nucleótido correspondiente (o emparejado) presente en la cadena de microARN a la que el oligonucleótido se pretende dirigir. Por ejemplo, en caso de que el nucleótido correspondiente sea G, normalmente será necesario seleccionar una nucleobase que no sea de ADN/ARN que sea capaz de establecer enlaces de hidrógeno con G. En este caso específico, en el que el nucleótido correspondiente es G, un ejemplo típico de una nucleobase preferente que no sea de ADN/ARN es ^{Me}C.
- 40
- 45 Debe reconocerse que el término en "un modo de realización" no necesariamente debe limitarse a hacer referencia a un modo de realización específico, sino que puede hacer referencia a un rasgo que puede estar presente en "algunos modos de realización", o incluso como un rasgo genérico de la invención. Asimismo, el uso del término "algunos modos de realización" se puede utilizar para describir un rasgo de un modo de realización específico, o una colección de modos de realización, o incluso como un rasgo genérico de la invención.
- 50 Los términos "correspondiente a" y "corresponde a" hacen referencia a la comparación entre la secuencia de nucleótidos del oligómero o secuencia de nucleótidos contigua (una primera secuencia) y la secuencia de nucleótidos contigua equivalente de una secuencia adicional seleccionada de i) una subsecuencia del complemento inverso de la diana de ácido nucleico de microARN (tal como una diana de microARN seleccionada de las SEQ ID NO: 40-SEQ ID NO: 976, y/o ii) la secuencia de nucleótidos proporcionada en el presente documento, tal como el grupo que consiste
- 55 en las SEQ ID NO: 977-1913, o las SEQ ID NO 1914-2850, o las SEQ ID NO 2851-3787. Los análogos de nucleótidos se comparan directamente con sus nucleótidos equivalentes o correspondientes. Una primera secuencia que corresponde a una secuencia adicional en i) o ii) típicamente es idéntica a esa secuencia a lo largo de la longitud de la primera secuencia (tal como la secuencia de nucleótidos contigua).
- 60 Cuando se hace referencia a la longitud de una molécula de nucleótidos tal como se hace referencia en el presente documento, la longitud corresponde al número de unidades monoméricas, es decir, nucleótidos, independientemente de si esas unidades monoméricas son nucleótidos o análogos de nucleótidos. Con respecto a nucleótidos o nucleobases, los términos monómero y unidad se usan indistintamente en el presente documento.
- 65 Debe entenderse que, cuando el término "aproximadamente" se usa en el contexto de valores específicos o intervalos de valores, la divulgación debe leerse para incluir el valor o intervalo específico al que se hace referencia.

Como se usa en el presente documento, "hibridación" significa enlaces de hidrógeno, que pueden ser Watson-Crick, Hoogsteen, enlaces de hidrógeno de Hoogsteen invertidos, etc. entre bases nucleosídicas o nucleotídicas complementarias. Las cuatro nucleobases comúnmente encontradas en el ADN son G, A, T y C, de las cuales G se aparea con C, y A se aparea con T. En el ARN, T se reemplaza por uracilo (U), que se aparea entonces con A. Los grupos químicos de las nucleobases que participan en la formación de dúplex estándar constituyen la cara Watson-Crick. Un par de años más tarde, Hoogsteen demostró que las nucleobases de purina (G y A), además de su cara Watson-Crick, tienen una cara Hoogsteen que se puede reconocer desde fuera de un dúplex y se puede usar para unir oligonucleótidos de pirimidina por medio de enlaces de hidrógeno, formando de este modo una estructura de triple hélice.

En el contexto de la presente invención, "complementario" hace referencia a la capacidad de apareamiento preciso de dos secuencias nucleotídicas entre sí. Por ejemplo, si un nucleótido en una determinada posición de un oligonucleótido se puede unir mediante enlaces de hidrógeno a un nucleótido en la posición correspondiente de una molécula de ADN o ARN, entonces se considera que el oligonucleótido y el ADN o ARN son complementarios entre sí en esa posición. Las cadenas de ADN o ARN se consideran complementarias entre sí cuando un número suficiente de nucleótidos del oligonucleótido pueden formar enlaces de hidrógeno con los nucleótidos correspondientes del ADN o ARN diana para posibilitar la formación de un complejo estable. Para ser estable *in vitro* o *in vivo*, la secuencia de un oligonucleótido no necesita ser 100 % complementaria de su microARN diana. Por lo tanto, los términos "complementario" e "hibrizable específicamente" implican que el oligonucleótido se une lo suficientemente fuerte y específicamente a la molécula diana para proporcionar la interferencia deseada con la función normal de la diana, mientras se mantiene invariable la función de los ARN no diana. Sin embargo, en un modo de realización preferente, el término complementario significará 100 % complementario o completamente complementario.

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

Preferentemente, el término "microARN" o "miARN", en el contexto de la presente invención, significa un oligonucleótido de ARN que consiste en entre 18 y 25 nucleótidos de longitud. En términos funcionales, los miARN son típicamente moléculas de ARN endógenas reguladoras.

Los términos "microARN diana" o "miARN diana" hacen referencia a un microARN con un papel biológico en la enfermedad humana, por ejemplo un miARN oncogénico regulado positivamente o un miARN supresor tumoral en cáncer, siendo de este modo una diana para la intervención terapéutica de la enfermedad en cuestión.

Los términos "gen diana" o "ARNm diana" hacen referencia a dianas de ARNm reguladoras de microARN, en los que dicho "gen diana" o "ARNm diana" está regulado postranscripcionalmente por el microARN basándose en la complementariedad casi perfecta o perfecta entre el miARN y su sitio diana, que da como resultado la escisión del ARNm diana; o la complementariedad limitada, a menudo conferida a la complementariedad entre la llamada secuencia semilla (nucleótidos 2-7 del miARN) y el sitio diana, que da como resultado la inhibición de la traducción del ARNm diana.

En el contexto de la presente invención, el oligonucleótido es monocatenario, esto hace referencia a la situación en la que el oligonucleótido está en ausencia de un oligonucleótido complementario, es decir, no es un complejo de oligonucleótido bicatenario, tal como un ARNip. En un modo de 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, tales como ocho o más.

Longitud

Sorprendentemente, se ha encontrado que dichos "antimiR" cortos proporcionan una inhibición específica mejorada de los microARN *in vivo*, al tiempo que conservan una notable especificidad por la diana de microARN. Se ha encontrado que es un beneficio adicional la capacidad de inhibir varios microARN simultáneamente debido a la conservación de secuencias cortas homólogas entre especies de microARN, tales como las regiones semilla como se describen en el presente documento. De acuerdo con la presente invención, se ha encontrado que es particularmente ventajoso tener oligonucleótidos cortos de 7, 8, 9 o 10 nucleótidos, tales como 7, 8 o 9 nucleótidos.

Secuencias

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

La secuencia de microARN puede ser adecuadamente un microARN maduro. En algunos modos de realización, el microARN puede ser un precursor de microARN.

5 La secuencia de microARN humana puede seleccionarse de las SEQ ID NO: 1-558 como se divulga en el documento WO2008/046911. Como se describe en el documento WO2008/046911, estos microARN están asociados con cáncer.

La secuencia de microARN vírica se puede seleccionar, en algunos modos de realización, del grupo que consiste en herpesvirus simple 1, herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi, virus de Epstein Barr y citomegalovirus humano.

10 En un modo de realización, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria (tal como un 100 % complementaria) de una región correspondiente de una secuencia de miARN seleccionada del grupo de miARN enumerados en la tabla 1. La tabla 1 proporciona oligómeros heptaméricos, octaméricos y nonaméricos que se dirigen a microRNAs humanos y víricos publicados en miRBase (edición 12.0 - <http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/>).

15 En algunos modos de realización, los oligómeros de acuerdo con la invención pueden consistir en o comprender una secuencia de nucleótidos contigua que es complementaria de 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 y miR-375.

Por lo tanto, en un modo de realización, el miARN (es decir, miARN 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.

25 En un modo de realización, la diana de miARN es un miembro de la agrupación 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 algunos modos de realización, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria de 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.

30 En algunos modos de realización, dicho miARN se selecciona del grupo que consiste en miR-1, miR-10, miR-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.

35 En algunos modos de realización, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria de una región correspondiente de una secuencia de microARN (miARN) presente en el agrupamiento 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 y miR-363.

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

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

La región semilla y las secuencias semilla

50 Los inventores han encontrado que oligonucleótidos monocatenarios cortos cuidadosamente diseñados que comprenden o consisten en análogos de nucleótidos, tales como análogos de nucleótidos de alta afinidad tales como unidades de ácido nucleico bloqueado (LNA), muestran un silenciamiento significativo de microARN, que da como resultado niveles reducidos de microARN. Se ha encontrado que la unión estrecha de dichos oligonucleótidos a la llamada secuencia semilla, típicamente los nucleótidos 2 a 8 o 2 a 7, contando desde el extremo 5', de los microARN diana era importante. El nucleótido 1 de los microARN diana es una base sin apareamiento y muy probablemente esté oculta en un bolsillo de unión en la proteína Ago 2. Aunque sin desear estar ligados a una teoría específica, los presentes inventores consideran que seleccionando las secuencias de la región semilla, particularmente con oligonucleótidos que comprenden LNA, en la región que es complementaria de la región semilla, el dúplex entre miARN y oligonucleótido es particularmente eficaz en dirigirse a miARN, evitando efectos fuera de la diana, y posiblemente proporcionando un rasgo adicional que impide la función de miARN dirigida por RISC.

65

- Los inventores han encontrado que el silenciamiento de microARN se potencia aún más cuando los oligonucleótidos monocatenarios modificados con LNA no contienen un nucleótido en el extremo 3' correspondiente a este nucleótido 1 no apareado. Se ha encontrado además que al menos dos unidades de LNA en el extremo 3' de los oligonucleótidos de acuerdo con la presente invención hacían dichos oligonucleótidos altamente resistentes a las nucleasas.
- 5 En un modo de realización, el primer o segundo nucleótido en 3' del oligómero corresponde al segundo nucleótido en 5' de la secuencia de microARN.
- 10 En un modo de realización, las unidades de nucleótidos 1 a 6 (inclusive) del oligómero medidas desde el extremo 3' de la región del oligómero son complementarias de la secuencia de la región semilla de microARN.
- En un modo de realización, las unidades de nucleótidos 1 a 7 (inclusive) del oligómero medidas desde el extremo 3' de la región del oligómero son complementarias de la secuencia de la región semilla de microARN.
- 15 En un modo realización, las unidades de nucleótidos 2 a 7 (inclusive) del oligómero medidas desde el extremo 3' de la región del oligómero son complementarias de la secuencia de la región semilla de microARN.
- En un modo de realización, el oligómero comprende al menos una unidad de LNA, en una posición que está dentro de la región complementaria de la región semilla de miARN. El oligómero puede comprender, en un modo de realización, entre 1 y 6 o entre 1 y 7 unidades de análogos de nucleótidos, tales como entre 1 y 6 y 1 y 7 unidades de LNA, en una posición que está dentro de la región complementaria de la región semilla de miARN.
- 20 En un modo de realización, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia que es complementaria (tal como un 100 % complementaria) de la secuencia semilla de dicho microARN.
- 25 En un modo de realización, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia seleccionada de una cualquiera de las secuencias semilla enumeradas en la tabla 1.
- 30 En un modo de realización, el nucleótido en 3' de la secuencia semilla forma el nucleótido más en 3' de la secuencia de nucleótidos contigua, en el que la secuencia de nucleótidos contigua puede, opcionalmente, comprender uno o dos nucleótidos adicionales en 5' a la secuencia semilla.
- En un modo de realización, el oligómero no comprende un nucleótido que corresponda al primer nucleótido presente en la secuencia de microARN contada desde el extremo 5'.
- 35 En un modo de realización, el oligonucleótido de acuerdo con la invención no comprende un nucleótido en el extremo 3' que corresponda al primer nucleótido en el extremo 5' del microARN diana.
- Análogos de nucleótidos**
- 40 De acuerdo con la presente invención, se ha encontrado que es particularmente ventajoso tener oligonucleótidos cortos de 7, 8, 9 o 10 nucleótidos, tales como 7, 8 o 9 nucleótidos, en los que el 100 % de las unidades de nucleótidos del oligómero son unidades de nucleótidos de ácido nucleico bloqueado (LNA).
- 45 En algunos modos de realización, el oligonucleótido de la invención tiene una longitud de 7, 8 o 9 nucleótidos y comprende una secuencia de nucleótidos contigua que es complementaria de una región semilla de un microARN humano o vírico, y en la que el 100 % de los nucleótidos son unidades de nucleótidos de ácido nucleico bloqueado (LNA).
- 50 En dichos oligómeros, al menos un 75 % de los grupos de enlace internucleosídico son enlaces fosforotioato.
- Todas las unidades de nucleótidos de la secuencia de nucleótidos contigua son unidades de nucleótidos LNA.
- 55 En un modo de realización, la secuencia de nucleótidos contigua comprende o consiste en 7, 8, 9 o 10 unidades de nucleótidos LNA contiguas.
- En un modo de realización preferente adicional, el oligonucleótido de la invención tiene una longitud de 7, 8 o 9 nucleótidos y comprende una secuencia de nucleótidos contigua que es complementaria de una región semilla de un microARN humano o vírico, y en la que todos los nucleótidos son LNA, y en la que al menos un 80 %, tal como un 85 %, tal como un 90 %, tal como un 95 %, tal como un 100 %, de los enlaces internucleotídicos son enlaces fosforotioato. Se reconocerá que la secuencia de nucleótidos contigua del oligómero (una secuencia semilla) puede extenderse más allá de la región semilla.
- 60 En algunos modos de realización, el oligonucleótido de la invención tiene una longitud de 7 nucleótidos, que son todos LNA.
- 65

Los análogos de nucleótidos de alta afinidad son análogos de nucleótidos que dan como resultado oligonucleótidos que tienen una mayor estabilidad térmica del dúplex con un nucleótido de ARN complementario que la afinidad de unión de un nucleótido de ADN equivalente. Esto puede determinarse midiendo la T_m .

5 En un modo de realización, el oligómero tiene al menos 7 unidades de LNA, tal como al menos 8 unidades de LNA, tal como al menos 9 unidades de LNA, tal como 10 LNA.

En un modo de realización en el que al menos una de las unidades de LNA es citosina o guanina, tal como entre 1-10 de las unidades de LNA, es citosina o guanina, tal como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 de las unidades de LNA, son citosina o guanina.

En un modo de realización, al menos dos de las unidades de LNA son citosina o guanina. En un modo de realización, al menos tres de las unidades de LNA son citosina o guanina. En un modo de realización, al menos cuatro de las unidades de LNA son citosina o guanina. En un modo de realización, al menos cinco de las unidades de LNA son citosina o guanina. En un modo de realización, al menos seis de las unidades de LNA son citosina o guanina. En un modo de realización, al menos siete de las unidades de LNA son citosina o guanina. En un modo de realización, al menos ocho de las unidades de LNA son citosina o guanina.

En un modo de realización preferente, las unidades de LNA tienen una mayor estabilidad térmica del dúplex para un nucleótido de ARN complementario que la afinidad de unión de un nucleótido de ADN equivalente a dicho nucleótido de ARN complementario.

En un modo de realización, las unidades de LNA confieren una mayor estabilidad sérica al oligonucleótido monocatenario.

Aunque las SEQ ID específicas en el listado de secuencias y la tabla 1 hacen referencia a oligómeros de monómeros de LNA con cadena principal de fosforotioato (PS), se reconocerá que la invención también abarca el uso de otros enlaces, siempre que un 75 % de los enlaces sean fosforotioato. Como tal, la secuencia de nucleótidos (bases) mostrada en los listados de secuencias puede ser de LNA tal como LNA/PS, LNA o puede ser oligómeros que contienen una química de enlace alternativa, al tiempo que retienen la misma secuencia de bases (A, T, C o G), a condición de que un 75 % de enlaces sean fosforotioato.

LNA

35 Cuando se usan en el presente contexto, los términos "unidad de LNA", "monómero de LNA", "residuo de LNA", "unidad de ácido nucleico bloqueado", "monómero de ácido nucleico bloqueado" o "residuo de ácido nucleico bloqueado" hacen referencia a un análogo de nucleósido bicíclico. Las unidades de LNA se describen, entre otros, en 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 también se puede definir 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



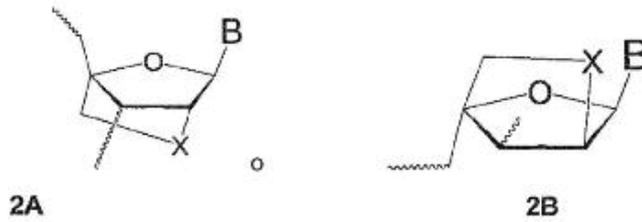
en el que

45 X se selecciona del grupo que consiste en O, S y NR^H , en el que R^H es H o alquilo C_{1-4} e Y es $(-CH_2)_r$, en el que r es un número entero de 1-4; y B es una base nitrogenada.

En un modo de realización preferente de la invención, r es 1 o 2, en particular 1, es decir, una unidad de LNA preferente tiene la estructura química mostrada en el Esquema 2 a continuación:

50

Esquema 2

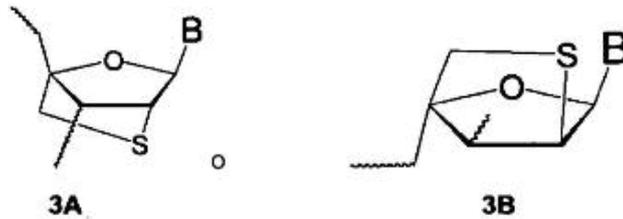


en el que X y B son como se definen anteriormente.

- 5 En un modo de realización interesante, las unidades de LNA incorporadas en los oligonucleótidos de la invención se seleccionan independientemente del grupo que consiste en unidades de tio-LNA, unidades de amino-LNA y unidades de oxi-LNA.

- 10 Por tanto, la unidad de tio-LNA puede tener la estructura química mostrada en el Esquema 3 a continuación:

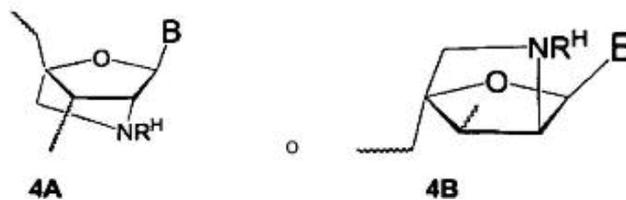
Esquema 3



en el que B es como se define anteriormente.

- 15 Preferentemente, la unidad de tio-LNA está en su forma beta-D, es decir, que tiene la estructura mostrada en 3A anteriormente; asimismo, la unidad de amino-LNA puede tener la estructura química mostrada en el Esquema 4 a continuación:

Esquema 4

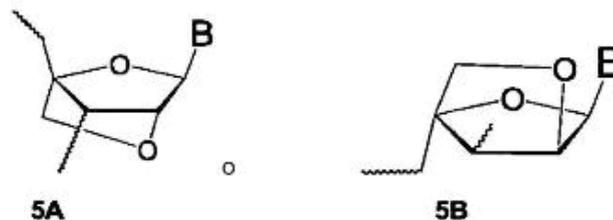


- 20 en el que B y R^H son como se definen anteriormente.

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

- 25 La unidad de oxi-LNA puede tener la estructura química que se muestra en el Esquema 5 a continuación:

Esquema 5



- 30 en el que B es como se define anteriormente.

- Preferentemente, la unidad de oxi-LNA está en su forma beta-D, es decir, que tiene la estructura mostrada en **5A** anteriormente. Como se indicó anteriormente, B es una base nitrogenada que puede ser de origen natural o no natural. Los ejemplos específicos de bases nitrogenadas incluyen adenina (A), citosina (C), 5-metilcitosina (^{Me}C), isocitosina, pseudoisocitosina, guanina (G), timina (T), uracilo (U), 5-bromouracilo, 5-propiniluracilo, 5-propinil-6,5-metilthiazoluracilo, 6-aminopurina, 2-aminopurina, inosina, 2,6-diaminopurina, 7-propino-7-desazadenina, 7-propino-7-desazaguanina y 2-cloro-6-aminopurina.
- El término "unidad de tio-LNA" hace referencia a una unidad de LNA en la que X en el Esquema 1 es S. Una unidad de tio-LNA puede estar tanto en la forma beta-D como en la forma alfa-L. En general, se prefiere la forma beta-D de la unidad de tio-LNA. La forma beta-D y la forma alfa-L de una unidad de tio-LNA se muestran en el Esquema 3 como compuestos **3A** y **3B**, respectivamente.
- El término "unidad de amino-LNA" hace referencia a una unidad de LNA en la que X en el Esquema 1 es NH o NR^H, en el que R^H es hidrógeno o alquilo C₁₋₄. Una unidad de amino-LNA puede estar tanto en la forma beta-D como en la forma alfa-L. En general, se prefiere la forma beta-D de la unidad de amino-LNA. La forma beta-D y la forma alfa-L de una unidad de amino-LNA se muestran en el Esquema 4 como los compuestos **4A** y **4B**, respectivamente.
- El término "unidad de oxi-LNA" hace referencia a una unidad de LNA en la que X en el Esquema 1 es O. Una unidad de oxi-LNA puede estar tanto en la forma beta-D como en la forma alfa-L. En general, se prefiere la forma beta-D de la unidad de oxi-LNA. La forma beta-D y la forma alfa-L de una unidad de oxi-LNA se muestran en el Esquema 5 como compuestos **5A** y **5B**, respectivamente.
- En el presente contexto, se pretende que el término "alquilo C₁₋₆" signifique una cadena de hidrocarburos saturados lineal o ramificada en la que las cadenas más largas tienen de uno a seis átomos de carbono, tales como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo y hexilo. Se pretende que una cadena de hidrocarburos ramificada signifique un alquilo C₁₋₆ sustituido en cualquier carbono con una cadena de hidrocarburos.
- En el presente contexto, se pretende que el término "alquilo C₁₋₄" signifique una cadena de hidrocarburos saturados lineal o ramificada en la que las cadenas más largas tienen de uno a cuatro átomos de carbono, tales como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo y *terc*-butilo. Se pretende que una cadena de hidrocarburos ramificada signifique un alquilo C₁₋₄ sustituido en cualquier carbono con una cadena de hidrocarburos.
- Cuando se usa en el presente documento, el término "alcoxi C₁₋₆" significa alquilo C₁₋₆, tal como metoxi, etoxi, *n*-propoxi, isopropoxi, *n*-butoxi, isobutoxi, *sec*-butoxi, *terc*-butoxi, pentoxi, isopentoxi, neopentoxi y hexoxi.
- En el presente contexto, se pretende que el término "alqueno C₂₋₆" signifique un grupo de hidrocarburos lineal o ramificado que tiene de dos a seis átomos de carbono y que contiene uno o más dobles enlaces. Los ejemplos ilustrativos de grupos alqueno C₂₋₆ incluyen alilo, homoalilo, 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, se pretende que el término "alquino C₂₋₆" signifique grupos de hidrocarburos lineales o ramificados que contienen de dos a seis átomos de carbono y que contienen uno o más triples enlaces. Los ejemplos ilustrativos de grupos alquino C₂₋₆ incluyen acetileno, propinilo, butinilo, pentinilo y hexinilo. La posición de 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 C₂₋₆" sea un diino o enediino como es conocido por el experto en la técnica.
- Cuando se hace referencia a sustitución de una unidad de ADN por su correspondiente unidad de LNA en el contexto de la presente invención, se pretende que el término "unidad de LNA correspondiente" signifique que la unidad de ADN ha sido reemplazada por una unidad de LNA que contiene la misma base nitrogenada que la unidad de ADN que ha reemplazado, por ejemplo, la unidad de LNA correspondiente 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 unidad de LNA correspondiente puede contener la base C o la base ^{Me}C, preferentemente ^{Me}C.
- En el presente documento, el término "unidad que no sea de LNA" hace referencia a un nucleósido diferente de una unidad de LNA, es decir, el término "unidad que no sea de LNA" incluye una unidad de ADN así como una unidad de ARN. Una unidad que no sea de LNA preferente es una unidad de ADN.
- Los términos "unidad", "residuo" y "monómero" se usan indistintamente en el presente documento.
- El término "al menos uno" abarca un número entero mayor o igual que 1, tales como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 y así sucesivamente.

Se pretende que los términos “un” y “una” como se usan sobre un nucleótido, un agente, una unidad de LNA, etc. signifiquen uno o más. En particular, se pretende que la expresión “un componente (tal como un nucleótido, un agente, una unidad de LNA, o similar) seleccionado del grupo que consiste en ...” signifique que se pueden seleccionar uno o más de los componentes citados. Por tanto, se pretende que expresiones como “un componente seleccionado del grupo que consiste en A, B y C” 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

Se pretende que el término “grupo de enlaces internucleosídicos” signifique un grupo capaz de unir covalentemente dos nucleótidos, tales como entre unidades de ADN, entre unidades de ADN y análogos de nucleótidos, entre dos unidades que no sean de LNA, entre una unidad que no sea de LNA y una unidad de LNA y entre dos unidades de LNA, etc. Los ejemplos incluyen fosfato, grupos fosfodiéster y grupos de fosforotioato.

En algunos modos de realización, al menos uno de los enlaces internucleosídicos en el oligómero es fosfodiéster. Sin embargo, para uso *in vivo*, pueden preferirse los enlaces fosforotioato.

Los grupos de enlaces internucleosídicos típicos en oligonucleótidos son grupos fosfato, pero estos pueden reemplazarse por grupos de enlaces internucleosídicos que difieren de fosfato. En un modo de realización interesante adicional de la invención, el oligonucleótido de la invención se modifica en su estructura de grupo de enlaces internucleosídicos, es decir, el oligonucleótido modificado comprende un grupo de enlaces internucleosídicos que difiere de fosfato. En consecuencia, en un modo de realización preferente, el oligonucleótido de acuerdo con la presente invención comprende al menos un grupo de enlaces internucleosídicos que difiere de fosfato.

Los ejemplos específicos de grupos de enlaces internucleosídicos que difieren del fosfato

(-O-P(O)₂-O-) incluyen -O-P(O,S)-O-, -O-P(S)₂-O-, -S-P(O)₂-O-, -S-P(O,S)-O-, -S-P(S)₂-O-, -O-P(O)₂-S-, -O-P(O,S)-S-, -S-P(O)₂-S-, -O-PO(R^H)-O-, O-PO(OCH₃)-O-, -O-PO(NR^H)-O-, -O-PO(OCH₂CH₂S-R)-O-, -O-PO(BH₃)-O-, -O-PO(NHR^H)-O-, -O-P(O)₂-NR^H-, -NR^H-P(O)₂-O-, -NR^H-CO-O-, -NR^H-CO-NR^H-, -O-CO-O-, -O-CO-NR^H-, -NR^H-CO-CH₂-, -O-CH₂-CO-NR^H-, -O-CH₂-CH₂-NR^H-, -CO-NR^H-CH₂-, -CH₂-NR^H-CO-, -O-CH₂-CH₂-S-, -S-CH₂-CH₂-O-, -S-CH₂-CH₂-S-, -CH₂-SO₂-CH₂-, -CH₂-CO-NR^H-, -O-CH₂-CH₂-NR^H-CO-CH₂-NCH₃-O-CH₂-, en los que R^H es hidrógeno o alquilo C₁₋₄.

Cuando se modifica un grupo de enlaces internucleosídicos, el grupo de enlaces internucleosídicos es preferentemente un grupo fosforotioato (-OP(O,S)-O-). En un modo de realización preferente, todos los grupos de enlaces internucleosídicos de los oligonucleótidos de acuerdo con la presente invención son fosforotioato.

El enlace internucleosídico puede seleccionarse del grupo que consiste en: -O-P(O)₂-O-, -O-P(O,S)-O-, -O-P(S)₂-O-, -S-P(O)₂-O-, -S-P(O,S)-O-, -S-P(S)₂-O-, -O-P(O)₂-S-, -O-P(O,S)-S-, -S-P(O)₂-S-, -O-PO(R^H)-O-, -O-PO(OCH₃)-O-, -O-PO(NR^H)-O-, -O-PO(OCH₂CH₂S-R)-O-, -O-PO(BH₃)-O-, -O-PO(NHR^H)-O-, -O-P(O)₂-NR^H-, -NR^H-P(O)₂-O-, -NR^H-CO-O-, -NR^H-CO-NR^H-, y/o el enlace internucleosídico puede seleccionarse del grupo que consiste en: -O-CO-O-, -O-CO-NR^H-, -NR^H-CO-CH₂-, -O-CH₂-CO-NR^H-, -O-CH₂-CH₂-NR^H-, -CO-NR^H-CH₂-, -CH₂-NR^H-CO-, -O-CH₂-CH₂-S-, -S-CH₂-CH₂-O-, -S-CH₂-CH₂-S-, -CH₂-SO₂-CH₂-, -CH₂-CO-NR^H-, -O-CH₂-CH₂-NR^H-CO-, -CH₂-NCH₃-O-CH₂-, en los que R^H se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁₋₄. Adecuadamente, en algunos modos de realización, se pueden preferir enlaces internucleosídicos que contienen azufre (S) como se proporciona anteriormente. Los enlaces internucleosídicos se pueden seleccionar independientemente, o ser todos iguales, tales como enlaces fosforotioato.

En un modo de realización, un 80 u 85 % o 90 % o 95 % o la totalidad de los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleótidos de la secuencia de nucleótidos contigua son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.

Oligonucleótidos de micromir que se dirigen a más de un microARN

En un modo de realización, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria de la secuencia correspondiente 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 permitir que un único oligómero de la invención se dirija a dos microARN independientes que o bien uno o ambos tienen un emparejamiento erróneo único en la región que corresponde al oligómero en la posición en la que se coloca el nucleótido universal.

En un modo de realización, la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia que es complementaria de 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.

En un modo de realización, la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria de la región correspondiente tanto de miR-221 como de miR-222.

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

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

Composición farmacéutica y aplicación médica

- 10 La invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el oligómero de acuerdo con la invención, y un diluyente, vehículo, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

La invención proporciona además el uso de un oligonucleótido de acuerdo con la invención, tal como aquellos 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 positiva) del microARN.

15 La invención proporciona además un procedimiento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión del microARN, que comprende la etapa de administrar una composición (tal como la composición farmacéutica) de acuerdo con la invención a una persona que necesite tratamiento

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

30 La invención proporciona además un procedimiento para la desrepresión de un ARNm diana de un miARN en una célula o un organismo, que comprende administrar una composición (tal como la composición farmacéutica) o un oligómero de acuerdo con la invención a la célula o al organismo.

35 La invención proporciona además el uso de un oligómero de la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión del microARN.

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

40 En un modo de realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención es para uso en el tratamiento de un trastorno médico o enfermedad seleccionado del grupo que consiste en: infección por el virus de la hepatitis C e hipercolesterolemia y trastornos relacionados, y cánceres.

45 En un modo de realización, el trastorno médico o enfermedad es una enfermedad del SNC, tal como una enfermedad del SNC en la que se sabe que están indicados uno o más microARN.

50 En el contexto de la hipercolesterolemia, trastornos relacionados hacen referencia a enfermedades tales como aterosclerosis o hiperlipidemia. Otros ejemplos de enfermedades relacionadas también incluyen diferentes tipos de desequilibrio de colesterol HDL/LDL; dislipidemias, por ejemplo, hiperlipidemia combinada familiar (FCHL), hiperlipidemia adquirida, hipercolesterolemia resistente a las estatinas; enfermedad arterial coronaria (CAD), cardiopatía coronaria (CHD) y aterosclerosis.

55 En un modo de realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención comprende además un segundo principio activo independiente que es un inhibidor de la ruta de ensamblaje del VLDL, tal como un inhibidor de ApoB o un inhibidor de MTP (tales como los divulgados en el documento US 60/977.497, incorporado en el presente documento por referencia).

60 La divulgación proporciona un procedimiento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión del microARN, que comprende la etapa de administrar una composición (tal como la composición farmacéutica) que comprende un oligómero de la invención a una persona que necesite tratamiento.

La divulgación proporciona un procedimiento para reducir la cantidad eficaz de una diana de miARN (es decir, el miARN "disponible") en una célula o un organismo, que comprende administrar una composición (tal como la composición farmacéutica) que comprende un oligómero de la invención a la célula o al organismo.

Debe reconocerse que "reducir la cantidad eficaz" de uno o más microARN en una célula u organismo hace referencia 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 los microARN.

5 La divulgación proporciona un procedimiento para la desrepresión de un ARNm diana de un miARN en una célula o un organismo, que comprende un oligómero de la invención (o una composición que comprende dicho oligonucleótido) para la célula o el organismo.

10 Como se mencionó anteriormente, los microARN están relacionados con diversas enfermedades. Por ello, un cuarto aspecto de la invención se refiere al uso de un oligonucleótido como se define en el presente documento para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada con la expresión de microARN seleccionada 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 particular cáncer.

15

Procedimientos de síntesis

20 La divulgación proporciona un procedimiento para la síntesis de un oligómero de la invención dirigido contra un microARN humano, tal como un oligómero descrito en el presente documento, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- a. Seleccionar opcionalmente un primer nucleótido, contando desde el extremo 3', que es un nucleótido LNA.
- 25 b. Seleccionar opcionalmente un segundo nucleótido, contando desde el extremo 3', que es un nucleótido LNA.
- c. Seleccionar una región del oligómero que corresponde a la región semilla del miARN, en la que dicha región es como se define en el presente documento.
- 30 d. Seleccionar un séptimo y opcionalmente un octavo nucleótidos como se define en el presente documento.
- e. Seleccionar opcionalmente uno o dos extremos 5' adicionales del oligómero como se define en el presente documento;

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

40 La invención proporciona además un procedimiento para la preparación de un oligómero (tal como un oligómero de acuerdo con la invención), comprendiendo dicho procedimiento las etapas de a) comparar las secuencias de dos o más secuencias de miARN para identificar dos o más secuencias de miARN que comprendan una secuencia de nucleótidos contigua común de al menos 7 nucleótidos de longitud, tal como 7, 8, 9 o 10 nucleótidos de longitud (es decir, una secuencia encontrada en ambos miRNA no idénticos), b) preparar una secuencia de oligómero que consista en o comprenda una secuencia de nucleótidos contigua que es complementaria de dicha secuencia de nucleótidos contigua común, en la que dicho oligómero es como de acuerdo con el oligómero de la invención. En un ejemplo preferente, la secuencia de nucleótidos contigua común consiste en o comprende la región semilla de cada una de dichas dos o más secuencias de miARN (que comprenden una secuencia de nucleótidos contigua común de al menos 6 nucleótidos de longitud). En un modo de realización, las regiones semilla de los dos o más miARN son idénticas. Adecuadamente, el oligómero consiste en o comprende una secuencia semilla de 7 u 8 nucleótidos de longitud 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.

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

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

60 Un aspecto adicional de la invención es un procedimiento para reducir los niveles de microARN diana poniendo en contacto el microARN diana con un oligonucleótido como se define en el presente documento, en el que el oligonucleótido (i) es complementario de la secuencia de microARN diana y (ii) no contiene un nucleótido en el extremo 3' que corresponda al primer nucleótido del extremo 5' del microARN diana.

Estabilidad y T_m del dúplex

65 En un modo de realización, el oligómero de la invención es capaz de formar un dúplex con una molécula de ácido nucleico de ARN monocatenario complementario (típicamente de aproximadamente la misma longitud que dicho

oligonucleótido monocatenario) con enlaces internucleosídicos de 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 un modo de realización, la T_m es de al menos 40 °C. La T_m puede determinarse determinando la T_m del oligómero y una diana de ARN complementario en las siguientes condiciones de tampón: NaCl 100 mM, EDTA 0,1 mM, fosfato de Na 10 mM, pH 7.0 (véanse los ejemplos para un protocolo detallado). Un análogo de alta afinidad se puede definir como un análogo que, cuando se usa en el oligómero de la invención, da como resultado un aumento en la T_m del oligómero en comparación con un oligómero idéntico que solo contiene bases de ADN.

Conjugados

En un modo de realización, dicho oligómero se conjuga con uno o más compuestos no nucleotídicos (o polinucleotídicos).

En el contexto, se pretende que el término "conjugado" indique una molécula heterogénea formada por unión covalente ("conjugación") del oligómero como se describe en el presente documento con uno o más restos no nucleotídicos o no polinucleotídicos. Los ejemplos de restos no nucleotídicos o no polinucleotídicos incluyen agentes macromoleculares tales como proteínas, cadenas de ácidos grasos, restos de azúcar, glicoproteínas, polímeros o combinaciones de los mismos. Típicamente, las proteínas pueden ser anticuerpos contra una proteína diana. Los polímeros típicos pueden ser polietilenglicol.

Por lo tanto, en diversos modos de realización, el oligómero de la invención puede comprender tanto una región polinucleotídica que típicamente consiste en una secuencia contigua de nucleótidos como una región no nucleotídica adicional. Cuando se hace referencia al oligómero de la invención que consiste en una secuencia de nucleótidos contigua, el compuesto puede comprender componentes no nucleotídicos, tales como un componente conjugado.

En diversos modos de realización de la invención, el compuesto oligomérico se une a ligandos/conjugados, que se pueden usar, por ejemplo, para aumentar la captación celular de compuestos oligoméricos. El documento WO2007/031091 proporciona ligandos y conjugados adecuados.

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 lo tanto, en diversos modos de realización en los que el compuesto de la invención consiste en una secuencia especificada de ácidos nucleicos o nucleótidos, el compuesto también puede comprender al menos un resto no nucleotídico o no polinucleotídico (por ejemplo, que no comprenda uno o más nucleótidos o análogos de nucleótidos) unido covalentemente a dicho compuesto.

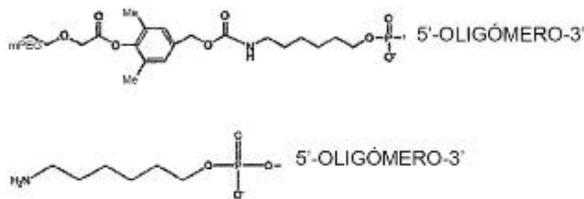
La conjugación (con un resto conjugado) puede potenciar la actividad, la distribución celular o la captación celular del oligómero de la invención. Dichos restos incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos, polipéptidos, restos lipídicos tales como un resto de colesterol, ácido cólico, un tioéter, por ejemplo, hexil-s-tritilol, un tiocolesterol, una cadena alifática, por ejemplo, dodecandiol o restos de undecilo, fosfolípidos, por ejemplo, di-hexadecil-rac-glicerol o 1,2-di-o-hexadecil-rac-glicerol-3-h-fosfonato de trietilamonio, una cadena de poliamina o polietilenglicol, un ácido adamantanoacético, un resto de palmitilo, un resto de octadecilamina o hexilaminocarboniloxicolesterol.

Los oligonucleótidos de la invención también se pueden conjugar con sustancias farmacéuticas activas, por ejemplo, aspirina, ibuprofeno, una sulfamida, un antidiabético, un antibacteriano o un antibiótico.

En ciertos modos de realización, el resto conjugado es un esteroles, tal como colesterol.

En diversos modos de realización, el resto conjugado comprende o consiste en un polímero cargado positivamente, tal como péptidos cargados positivamente de, por ejemplo, entre 1-50, tal como 2-20 tal como 3-10 residuos de aminoácidos de longitud, y/o poli(óxido de alqueno) tal como polietilenglicol (PEG) o polipropilenglicol; véase el documento WO 2008/034123. Adecuadamente, el polímero cargado positivamente, tal como un poli(óxido de alqueno), se puede unir con el oligómero de la invención mediante un conector tal como el conector liberable descrito en el documento WO 2008/034123.

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



Oligómeros activados

El término "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 el enlace covalente del oligómero con 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. Típicamente, un resto funcional comprenderá un grupo químico que es capaz de unirse covalentemente al oligómero mediante, por ejemplo, un grupo 3'-hidroxilo o el grupo NH₂ exocíclico de la base de adenina, un espaciador que es preferentemente hidrófilo y un grupo terminal que es capaz de unirse a un resto conjugado (por ejemplo, un grupo amino, sulfhidrilo o hidroxilo). En algunos modos de realización, este grupo terminal no está protegido, por ejemplo, es un grupo NH₂. En otros modos de realización, el grupo terminal está protegido, por ejemplo, por cualquier grupo protector adecuado tal como los descritos en "Protective Groups in Organic Synthesis" por Theodora W Greene y Peter GM Wuts, 3.^a edición (John Wiley & Sons, 1999). Los ejemplos de grupos protectores de hidroxilo adecuados incluyen ésteres tales como éster de acetato, grupos aralkilo tales como bencilo, difenilmetilo o trifenilmetilo y tetrahidropirano. Los ejemplos de grupos protectores de amino adecuados incluyen grupos bencilo, alfa-metilbencilo, difenilmetilo, trifenilmetilo, benciloxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo y acilo tales como tricloroacetilo o trifluoroacetilo. En algunos modos de realización, el resto funcional es autoescindible. En otros modos de realización, el resto funcional es biodegradable. Véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 7.087.229.

En algunos modos de realización, los oligómeros de la invención se funcionalizan en el extremo 5' para permitir la unión covalente del resto conjugado al extremo 5' del oligómero. En otros modos de realización, los oligómeros de la invención se pueden funcionalizar en el extremo 3'. En otros modos de realización más, los oligómeros de la invención se pueden funcionalizar a lo largo de la cadena principal o en el resto de la base heterocíclica. En aún otros modos de realización, los oligómeros de la invención se pueden funcionalizar en más de una posición seleccionada independientemente del extremo 5', el extremo 3', la cadena principal y la base.

En algunos modos de realización, 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 otros modos de realización, los oligómeros activados de la invención se sintetizan con monómeros que no se han funcionalizado y el oligómero se funcionaliza una vez completada la síntesis. En algunos modos de realización, los oligómeros se funcionalizan con un éster impedido que contiene un conector aminoalquilo, en el que la porción alquilo tiene la fórmula (CH₂)_w, en la que w es un número entero que varía de 1 a 10, preferentemente aproximadamente 6, en la que la porción alquilo del grupo alquilamino puede ser de cadena lineal o de cadena ramificada, y en la que el grupo funcional está unido al oligómero a través de un grupo éster (-OC(O)-CH₂)_wNH).

En otros modos de realización, los oligómeros se funcionalizan con un éster impedido que contiene un conector (CH₂)_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 (-OC(O)-(CH₂)_wSH).

En algunos modos de realización, los oligonucleótidos activados con sulfhidrilo se conjugan con restos poliméricos tales como polietilenglicol o péptidos (mediante la formación de un enlace disulfuro).

Los oligómeros activados que contienen ésteres impedidos como se describió anteriormente se pueden sintetizar mediante cualquier procedimiento conocido en la técnica, y en particular mediante procedimientos divulgados en la publicación PCT N.º WO 2008/034122 y los ejemplos en la misma.

En otros modos de realización más, los oligómeros de la invención se funcionalizan introduciendo grupos sulfhidrilo, amino o hidroxilo en el oligómero por medio de un reactivo de funcionalización sustancialmente como se describe en las patentes de EE. UU. n.º 4.962.029 y 4.914.210, es decir, un reactivo sustancialmente lineal que tiene una fosforamidita en un extremo enlazada a través de una cadena espaciadora hidrófila al extremo opuesto que comprende un grupo sulfhidrilo, amino o hidroxilo protegido o no protegido. Dichos reactivos reaccionan principalmente con grupos hidroxilo del oligómero. En algunos modos de realización, dichos oligómeros activados tienen un reactivo de funcionalización acoplado a un grupo 5'-hidroxilo del oligómero. En otros modos de realización, los oligómeros activados tienen un reactivo de funcionalización acoplado a un grupo 3'-hidroxilo. En otros modos de realización más, los oligómeros activados de la invención tienen un reactivo de funcionalización acoplado a un grupo hidroxilo en la cadena principal del oligómero. En aún otros modos de realización, el oligómero de la invención se funcionaliza con más de uno de los reactivos de funcionalización como se describen en las patentes de EE. UU. n.º 4.962.029 y 4.914.210. Los procedimientos para sintetizar dichos reactivos de funcionalización e incorporarlos a monómeros u oligómeros se divulgan en las patentes de EE. UU. n.º 4.962.029 y 4.914.210.

En algunos modos de realización, el extremo 5' de un oligómero unido en fase sólida se funcionaliza con un derivado de dienilfosforamidita, seguido de la conjugación del oligómero desprotegido con, por ejemplo, un aminoácido o péptido mediante una reacción de cicloadición de Diels-Alder.

En diversos modos de realización, la incorporación de monómeros que contienen modificaciones de azúcar en 2', tales como azúcar sustituido con 2'-carbamato o un azúcar 2'-(O-pentil-*N*-ftalimido)desoxirribosa en el oligómero, facilita la unión covalente de restos conjugados con los azúcares del oligómero. En otros modos de realización, se prepara un oligómero con un conector 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'-desoxiadenosin-3'-*N,N*-diisopropilcianoetoxifosforamidita. Véase, por ejemplo, Manoharan, et al., Tetrahedron Letters, 1991, 34, 7171.

En otros modos de realización más, los oligómeros de la invención pueden tener restos funcionales que contengan amina en el nucleótido, incluyendo en los grupos N6 amino purina, en el N2 exocíclico de guanina, o en las posiciones N4 o 5 de citosina. En diversos modos de realización, dicha funcionalización se puede lograr usando un reactivo comercial que ya está funcionalizado en la síntesis de oligómeros.

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

20 **Tratamiento y composiciones farmacéuticas - formulación y administración**

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

En consecuencia, en un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido de acuerdo con la invención y un diluyente, vehículo o adyuvante farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, dicho vehículo es solución salina o solución salina tamponada.

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

Como se entenderá, la dosificación depende de la gravedad y el grado de respuesta de la enfermedad que se va a tratar, y del curso de tratamiento, que dura desde varios días a varios meses, o hasta que se consiga una curación o una atenuación de la enfermedad. Las pautas de dosificación óptimas se pueden calcular a partir de las mediciones de la acumulación de fármaco en el organismo del paciente. Las dosificaciones óptimas pueden variar dependiendo de la potencia relativa de los oligonucleótidos individuales. En general, se puede estimar basándose en las CE50 que se han encontrado eficaces en modelos animales *in vitro* e *in vivo*. En general, la dosificación es desde 0,01 µg a 1 g por kg de peso corporal, y se puede administrar una o más veces al día, semanalmente, mensualmente o anualmente, o incluso una vez cada 2 a 10 años o por infusión continua durante horas hasta varios meses. Las tasas de repetición para la dosificación se pueden estimar basándose en los tiempos de permanencia y las concentraciones medidas del fármaco en tejidos o fluidos corporales. Después de un tratamiento con éxito, puede ser deseable que el paciente se someta a un tratamiento de mantenimiento para prevenir la recidiva de la enfermedad.

Como se indica anteriormente, la invención también se refiere a una composición farmacéutica, que comprende al menos un oligonucleótido de la invención como principio activo. Se debe entender que la composición farmacéutica de acuerdo con la invención comprende opcionalmente un vehículo farmacéutico y que la composición farmacéutica comprende opcionalmente compuestos adicionales, tales como compuestos quimioterápicos, compuestos antiinflamatorios, compuestos antiviricos y/o compuestos inmunomoduladores.

Los oligonucleótidos de la invención se pueden usar "tal cual" o en forma de una variedad de sales farmacéuticamente aceptables. Como se usa en el presente documento, el término "sales farmacéuticamente aceptables" hace referencia a sales que conservan la actividad biológica deseada de los compuestos identificados en el presente documento y presentan efectos toxicológicos no deseados mínimos. Se pueden formar ejemplos no limitantes de dichas sales con sales de adición de bases y aminoácidos orgánicos formadas con cationes de metal, tales como cinc, calcio, bismuto, bario, magnesio, aluminio, cobre, cobalto, níquel, cadmio, sodio, potasio y similares o con un catión formado a partir de amoníaco, *N,N*-dibenciletilendiamina, *D*-glucosamina, tetraetilamonio o etilendiamina.

En un modo de realización de la invención, el oligonucleótido puede estar en forma de un profármaco. Los oligonucleótidos son, en consecuencia, iones cargados negativamente. Debido a la naturaleza lipófila de las membranas celulares, la captación celular de oligonucleótidos se reduce en comparación con los equivalentes neutros o lipófilos. Este "impedimento" de polaridad se puede evitar usando el enfoque del profármaco (véase, por ejemplo, Crooke, R. M. (1998) en Crooke, S. T. *Antisense research and Application*. Springer-Verlag, Berlín, Alemania, vol. 131, pág. 103-140).

Los agentes aglutinantes y adyuvantes farmacéuticamente aceptables pueden comprender parte del fármaco formulado.

5 Los ejemplos de procedimientos de administración para el la administración de los agentes terapéuticos descritos en el presente documento, así como detalles de formulaciones farmacéuticas, sales, pueden estar bien descritos en otra parte, por ejemplo, en las solicitudes provisionales de los EE. UU. 60/838.710 y 60/788.995 y la solicitud danesa, PA 2006 00615.

10 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, pero no están limitadas a, soluciones, emulsiones y formulaciones que contienen liposomas. Estas composiciones se pueden generar a partir de una diversidad de componentes que incluyen, pero no están limitados a, líquidos preformados, sólidos autoemulsionantes y semisólidos autoemulsionantes. La administración del fármaco al tejido tumoral se puede potenciar mediante la administración mediada por vehículos, incluyendo, pero no limitado a, liposomas catiónicos, ciclodextrinas, derivados de porfirina, dendrímeros de cadena ramificada, polímeros de polietilénimina, nanopartículas y microesferas (Dass CR. J Pharm Pharmacol 2002; 54(1): 3-27). Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención, que se pueden presentar convenientemente en una forma de dosificación unitaria, se pueden preparar de acuerdo con técnicas convencionales bien conocidas en la industria farmacéutica. Dichas técnicas incluyen la etapa de asociar los principios activos con el(los) vehículo(s) o excipiente(s) farmacéutico(s). En general, las formulaciones se preparan mezclando uniforme y estrechamente los principios activos con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y, entonces, si fuera necesario, conformando el producto. Las composiciones de la presente invención se pueden formular en cualquiera de las muchas formas de dosificación posibles, tales como, pero no limitadas a, comprimidos, cápsulas, cápsulas de gel, jarabes líquidos, geles blandos y supositorios. Las composiciones de la presente invención también se pueden formular como suspensiones en medios acuosos, no acuosos o mixtos. Las suspensiones acuosas pueden contener además sustancias que aumenten la viscosidad de la suspensión, incluyendo, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol y/o dextrano. La suspensión también puede contener estabilizantes. Los compuestos de la invención también se pueden conjugar con sustancias farmacéuticas activas, por ejemplo, aspirina, ibuprofeno, una sulfamida, un antidiabético, un antibacteriano o un antibiótico.

30 En otro modo de realización, las composiciones de la invención pueden contener uno o más compuestos oligonucleotídicos, dirigidos a un primer microARN y uno o más compuestos oligonucleotídicos adicionales dirigidos a una segunda diana de microARN. Dos o más compuestos combinados se pueden usar conjunta o secuencialmente.

35 Los compuestos divulgados en el presente documento son útiles para varias aplicaciones terapéuticas, como se indica anteriormente. En general, los procedimientos terapéuticos de la invención incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un oligonucleótido a un mamífero, particularmente un ser humano. En cierto modo de realización, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen (a) uno o más compuestos de la invención, y (b) uno o más agentes quimioterápicos. Cuando se usan con los compuestos de la invención, dichos agentes quimioterápicos se pueden usar individualmente, secuencialmente o en combinación con uno o más de otros de dichos agentes quimioterápicos o en combinación con radioterapia. Todos los agentes quimioterápicos conocidos por un experto en la técnica se incorporan en el presente documento como tratamientos de combinación con el compuesto de acuerdo con la invención. Otros agentes activos, tales como fármacos antiinflamatorios, incluyendo, pero no limitados a, fármacos antiinflamatorios no esteroideos y corticosteroides, fármacos antivíricos y fármacos inmunomoduladores, también se pueden combinar en las composiciones de la invención. Dos o más compuestos combinados se pueden usar conjunta o secuencialmente.

45 Ejemplos de indicaciones terapéuticas que pueden tratarse mediante las composiciones farmacéuticas de la invención:

microARN	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 la quimioterapia y regulación del crecimiento de colangiocarcinomas
miR-122	Hipercolesterolemia, infección por hepatitis C, hemocromatosis
miR-19b	linfoma y otros tipos de tumores
miR-26a	diferenciación en osteoblastos de células madres humanas
miR-155	linfoma, desarrollo de tumor pancreático, cáncer de mama y pulmón
miR-203	psoriasis
miR-375	diabetes, trastornos metabólicos, secreción de insulina inducida por glucosa a partir de células endocrinas pancreáticas
miR-181	diferenciación de mioblastos, trastornos autoinmunitarios
miR-10b	invasión de células de cáncer de mama y metástasis
miR-125b-1	cáncer de mama, pulmón, ovario y cuello uterino
miR-221 y 222	carcinoma de próstata, carcinoma papilar tiroideo humano, carcinoma hepatocelular humano

miARN-372 y 373	tumores de células germinales testiculares.
miR-142	leucemia de linfocitos B
Agrupamiento miR-17-19b	linfomas de linfocitos B, cáncer de pulmón, carcinoma hepatocelular

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

5 En un aspecto adicional más, la presente invención se refiere al uso de un oligonucleótido de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: aterosclerosis, hipercolesterolemia e hiperlipidemia; cáncer, glioblastoma, cáncer de mama, linfoma, cáncer de pulmón; diabetes, trastornos metabólicos; diferenciación de mioblastos y trastornos inmunitarios.

10 La invención se refiere además a oligonucleótidos de acuerdo con la invención para el uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en: aterosclerosis, hipercolesterolemia e hiperlipidemia; cáncer, glioblastoma, cáncer de mama, linfoma, cáncer de pulmón; diabetes, trastornos metabólicos; diferenciación de mioblastos y trastornos inmunitarios.

15 La divulgación proporciona un procedimiento para tratar a un sujeto que padece una enfermedad o afección seleccionada del grupo que consiste en: aterosclerosis, hipercolesterolemia e hiperlipidemia; cáncer, glioblastoma, cáncer de mama, linfoma, cáncer de pulmón; diabetes, trastornos metabólicos; diferenciación de mioblastos y trastornos inmunitarios, comprendiendo el procedimiento la etapa de administrar un oligonucleótido o composición farmacéutica de la invención al sujeto que lo necesita.

20 La invención proporciona además un kit que comprende una composición farmacéutica de acuerdo con la invención y un segundo principio activo independiente que es un inhibidor de la ruta de ensamblado del VLDL, tal como un inhibidor de ApoB, o un inhibidor de MTP.

25 **Cáncer**

En un aspecto adicional más, la presente invención se refiere al uso de un oligonucleótido de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer. En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento la profilaxis contra, el cáncer, comprendiendo dicho procedimiento administrar un oligonucleótido de la invención o una composición farmacéutica de la invención a un paciente que lo necesita.

30 Dichos cánceres pueden incluir neoplasia linforreticular, 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 adecuadamente en forma de un tumor sólido. De forma análoga, en el procedimiento para tratar el cáncer divulgado en el presente documento, dicho cáncer puede estar adecuadamente en forma de un tumor sólido.

40 Además, dicho cáncer también es adecuadamente un carcinoma. El carcinoma típicamente se selecciona del grupo que consiste en melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de ovario, carcinoma de mama, cáncer de pulmón no microcítico, carcinoma de células renales, carcinoma de vejiga, cáncer superficial de vejiga recurrente, carcinoma de estómago, carcinoma de próstata, carcinoma de páncreas, carcinoma de pulmón, carcinoma de cuello uterino, displasia de cuello uterino, papilomatosis laríngea, carcinoma de colon, carcinoma colorrectal y tumores carcinoides. Más típicamente, dicho carcinoma se selecciona del grupo que consiste en melanoma maligno, cáncer de pulmón no microcítico, carcinoma de mama, carcinoma de colon y carcinoma de células renales. El melanoma maligno se selecciona típicamente del grupo que consiste en melanoma de extensión superficial, melanoma nodular, melanoma lentiginoso maligno, melanoma acro, melanoma amelanótico y melanoma desmoplásico.

50 De forma alternativa, el cáncer puede ser adecuadamente un sarcoma. El sarcoma típicamente está en la forma seleccionada del grupo que consiste en osteosarcoma, sarcoma de Ewing, condrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, fibrosarcoma y sarcoma de Kaposi.

De forma alternativa, el cáncer puede ser adecuadamente un glioma.

55 Un modo de realización adicional se dirige 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 quimioterápico seleccionado del grupo que consiste en adrenocorticosteroides, tales como prednisona, dexametasona o decadrona; altretamina (Hexalen, hexametilmelamina (HMM)); amifostina (Ethyol); aminoglutetimida (Cytadren); amsacrina (M-AMSA); anastrozol (Arimidex); andrógenos tales como testosterona; asparaginasa (Elspar); bacilo de Calmette-Guérin; bicalutamida (Casodex); bleomicina (Blenoxane); busulfano (Myleran); carboplatino (Paraplatin); carmustina (BCNU, BiCNU); clorambucilo (Leukeran); clorodesoxiadenosina (2-CDA, cladribina, Leustatin); cisplatino

(Platinol); arabinósido de citosina (citarabina); dacarbazina (DTIC); dactinomicina (actinomicina-D, Cosmegen); daunorubicina (Cerubidina); docetaxel (Taxotere); doxorubicina (Adriamycin); epirubicina; estramustina (Emcyt); estrógenos tales como dietilestilbestrol (DES); etopósido (VP-16, VePesid, Etopophos); fludarabina (Fludara); flutamida (Eulexin); 5-FUDR (floxuridina); 5-fluorouracilo (5-FU); gemcitabina (Gemzar); goserelina (Zodalex); herceptina (Trastuzumab); hidroxiurea (Hydrea); idarubicina (Idamycin); ifosfamida; IL-2 (proleucina, aldesleucina); interferón alfa (Intron A, Roferon A); irinotecán (Camptosar); leuprorelina (Lupron); levamisol (Ergamisole); lomustina (CCNU); clormetina (Mustargen, mostaza nitrogenada); melfalán (Alkeran); mercaptopurina (Purinethol, 6-MP); metotrexato (Mexate); mitomicina-C (Mutamucin); mitoxantrona (Novantrone); octreotida (Sandostatin); pentostatina (2-desoxicoformicina, Nipent); plicamicina (mitramicina, Mithracin); prorocarbazina (Matulane); estreptozocina; tamoxifeno (Nolvadex); taxol (Paclitaxel); tenipósido (Vumon VM-26); tiotepa; topotecán (Hycamtin); tretinoína (Vesanoid, ácido *todo-trans*-retinoico); vinblastina (Valban); vincristina (Oncovin) y vinorelbina (Navelbine). Adecuadamente, el agente quimioterápico adicional se selecciona de taxanos tales como Taxol, Paclitaxel o Docetaxel.

De manera similar, la invención se dirige además 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 quimioterápico adicional seleccionado del grupo que consiste en adrenocorticosteroides, tales como prednisona, dexametasona o decadrona; altretamina (Hexalen, hexametilmelamina (HMM)); amifostina (Ethylol); aminoglutetimida (Cytadren); amsacrina (M-AMSA); anastrozol (Arimidex); andrógenos tales como testosterona; asparaginasa (Elspar); bacilo de Calmette-Guérin; bicalutamida (Casodex); bleomicina (Blenoxane); busulfano (Myleran); carboplatino (Paraplatin); carmustina (BCNU, BiCNU); clorambucilo (Leukeran); clorodesoxiadenosina (2-CDA, cladribina, Leustatin); cisplatino (Platinol); arabinósido de citosina (citarabina); dacarbazina (DTIC); dactinomicina (actinomicina-D, Cosmegen); daunorubicina (Cerubidina); docetaxel (Taxotere); doxorubicina (Adriamycin); epirubicina; estramustina (Emcyt); estrógenos tales como dietilestilbestrol (DES); etopósido (VP-16, VePesid, Etopophos); fludarabina (Fludara); flutamida (Eulexin); 5-FUDR (floxuridina); 5-fluorouracilo (5-FU); gemcitabina (Gemzar); goserelina (Zodalex); herceptina (Trastuzumab); hidroxiurea (Hydrea); idarubicina (Idamycin); ifosfamida; IL-2 (proleucina, aldesleucina); interferón alfa (Intron A, Roferon A); irinotecán (Camptosar); leuprorelina (Lupron); levamisol (Ergamisole); lomustina (CCNU); clormetina (Mustargen, mostaza nitrogenada); melfalán (Alkeran); mercaptopurina (Purinethol, 6-MP); metotrexato (Mexate); mitomicina-C (Mutamucin); mitoxantrona (Novantrone); octreotida (Sandostatin); pentostatina (2-desoxicoformicina, Nipent); plicamicina (mitramicina, Mithracin); prorocarbazina (Matulane); estreptozocina; tamoxifeno (Nolvadex); taxol (Paclitaxel); tenipósido (Vumon VM-26); tiotepa; topotecán (Hycamtin); tretinoína (Vesanoid, ácido *todo-trans*-retinoico); vinblastina (Valban); vincristina (Oncovin) y vinorelbina (Navelbine). Adecuadamente, dicho tratamiento comprende además la administración de un agente quimioterápico adicional seleccionado de taxanos, tales como Taxol, Paclitaxel o Docetaxel.

Dicho de otra forma, la divulgación proporciona un procedimiento para tratar el cáncer, comprendiendo dicho procedimiento administrar un oligonucleótido de la invención o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención a un paciente que lo necesite, y comprende además la administración de un agente quimioterápico adicional. Dicha administración adicional puede ser tal que el agente quimioterápico adicional se conjugue con el compuesto de la invención, esté presente en la composición farmacéutica, o se administre en una formulación separada.

Enfermedades infecciosas

Se contempla que los compuestos de la invención puedan ser ampliamente aplicables a una amplia variedad de enfermedades infecciosas, tales como difteria, tétanos, tosferina, polio, hepatitis B, hepatitis C, gripe por *Hemophilus*, sarampión, paperas y rubéola.

El Hsa-miR122 está indicado en la infección por hepatitis C y, como tales, pueden usarse oligonucleótidos de acuerdo con la invención que se dirigen a miR-122 para tratar la infección por hepatitis C. Por consiguiente, en otro aspecto más, la presente invención se refiere al uso de un oligonucleótido de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad infecciosa, así como a un procedimiento para tratar una enfermedad infecciosa, comprendiendo dicho procedimiento administrar una oligonucleótido de acuerdo con la invención o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención a un paciente que lo necesite.

En un modo de realización preferente, la invención proporciona un tratamiento de combinación que proporciona un oligómero anti-miR-122 en combinación con un inhibidor del ensamblado del VLDL, tal como un inhibidor de apoB o de MTP.

Enfermedades inflamatorias

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 los trastornos autoinmunitarios. A pesar de ser necesarios para combatir los patógenos, los efectos de una exacerbación inflamatoria pueden ser devastadores. Por lo tanto, a menudo es necesario restringir la sintomatología de la inflamación con el uso

de fármacos antiinflamatorios. La inflamación es un proceso complejo normalmente desencadenado por una lesión tisular que incluye la activación de un gran conjunto de enzimas, el aumento de la permeabilidad vascular y la extravasación de fluidos sanguíneos, la migración celular y la liberación de mediadores químicos, todos destinados tanto a destruir como a reparar el tejido lesionado.

5 En aún otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un oligonucleótido de acuerdo con la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria, así como a un procedimiento para tratar una enfermedad inflamatoria, comprendiendo dicho procedimiento administrar un oligonucleótido de acuerdo con la invención o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención a un paciente que lo necesita.

10 En un modo de realización preferente 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 inflamatoria intestinal, dermatomiositis, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, vasculitis, artritis psoriásica, dermatitis psoriásica exfoliativa, pénfigo vulgar y síndrome de Sjorgren, en particular enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad de Crohn.

15 De forma 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.

20 **Enfermedades metabólicas**

Una enfermedad metabólica es un trastorno causado por la acumulación de sustancias químicas producidas naturalmente en el cuerpo. Estas enfermedades suelen ser graves, algunas incluso potencialmente mortales. Otras pueden retrasar el desarrollo físico o causar retraso mental. La mayoría de los bebés con estos trastornos, al principio, no muestran signos evidentes de la enfermedad. Un cribado adecuado al nacer a menudo puede descubrir estos problemas. Con el diagnóstico y tratamiento precoces, las enfermedades metabólicas a menudo se pueden tratar de manera eficaz.

30 En aún otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un oligonucleótido de acuerdo con la invención o un conjugado del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad metabólica, así como a un procedimiento para tratar una enfermedad metabólica, comprendiendo dicho procedimiento administrar un oligonucleótido de acuerdo con la invención o un conjugado del mismo, o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención a un paciente que lo necesite.

35 En un modo de realización preferente de la invención, la enfermedad metabólica se selecciona del grupo que consiste en amiloidosis, biotinidasa, OMIM (Herencia mendeliana en línea en el hombre), síndrome de Crigler Najjar, diabetes, Grupo de apoyo e información de Fabry, trastornos de la oxidación de ácidos grasos, galactosemia, deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), aciduria glutárica, Organización Internacional de Acidemia 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 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de cadena larga (LCHAD), Grupo de Manosidosis, enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, trastornos mitocondriales, síndromes de mucopolisacaridosis: enfermedad de Niemann Pick, acidemias orgánicas, PKU, enfermedad de Pompe, porfiria, síndrome metabólico, hiperlipidemia y trastornos lipídicos hereditarios, trimetilaminuria: el síndrome del mal olor a pescado y trastornos del ciclo de la urea.

45 **Trastornos hepáticos**

En aún otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un oligonucleótido de acuerdo con la invención o un conjugado del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno hepático, así como a un procedimiento para tratar un trastorno hepático, comprendiendo dicho procedimiento administrar un oligonucleótido de acuerdo con la invención o un conjugado del mismo, o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención a un paciente que lo necesite.

55 En un modo de realización preferente de la invención, el trastorno hepático se selecciona del grupo que consiste en atresia biliar, síndrome de Alagille, enfermedad de alfa-1 antitripsina, tirosinemia, hepatitis neonatal y enfermedad de Wilson.

Otros usos

60 Los oligonucleótidos de la presente invención se pueden utilizar como reactivos de investigación para el diagnóstico, el tratamiento y la profilaxis. En investigación, el oligonucleótido se puede usar para inhibir específicamente la síntesis de los genes diana en células y animales de laboratorio, facilitando de este modo el análisis funcional de la diana o una valoración de su utilidad como diana para intervención terapéutica. En el diagnóstico, los oligonucleótidos se pueden usar para detectar y cuantificar la expresión de la diana en células y tejidos mediante inmunoelectrotransferencia, hibridación *in situ* o técnicas similares. Para el tratamiento, un animal o un ser humano que se sospecha que tiene una enfermedad o trastorno que se puede tratar modulando la expresión de la diana se

somete a tratamiento administrando compuestos oligonucleotídicos de acuerdo con la presente invención. Se proporcionan además procedimientos de tratamiento de un animal, en particular ratón y rata, y de tratamiento de un ser humano que se sospecha que tienen o son propensos a tener una enfermedad o afección asociada a la expresión de la diana administrando una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de uno o más de los compuestos oligonucleotídicos o composiciones de la invención.

Uso terapéutico de oligonucleótidos dirigidos a miR-122a

Se ha demostrado que un LNA-antimiR que se dirija a miR-122a reduce los niveles de colesterol en plasma. Por lo tanto, otro aspecto de la invención es el uso de los oligonucleótidos descritos anteriormente que se dirigen a miR-122a como medicamento.

Otro aspecto más de la invención es el uso de los oligonucleótidos descritos anteriormente que se dirigen a miR-122a para la preparación de un medicamento para el tratamiento de niveles aumentados de colesterol en plasma (o hipercolesterolemia y trastornos relacionados). El experto apreciará que los niveles aumentados de colesterol en plasma son indeseables ya que aumentan el riesgo de diversas afecciones, por ejemplo, aterosclerosis.

Otro aspecto más de la invención es el uso de los oligonucleótidos descritos anteriormente que se dirigen a miR-122a para regular positivamente los niveles de ARNm de Nrdg3, Aldo A, Bckdk o CD320.

MODOS DE REALIZACIÓN

Los siguientes modos de realización de la presente invención se pueden usar en combinación con los otros modos de realización descritos en el presente documento.

1. Una composición farmacéutica que comprende un oligómero de 7-12 nucleótidos de longitud, en la que dicho oligómero comprende un total de 7-12 nucleótidos, tal como 7, 8, 9, 10, 11 o 12 unidades de nucleótidos, en la que todas las unidades de nucleótidos son unidades de LNA, y en la que al menos un 75 % de los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases de la secuencia de nucleobases contigua son enlaces internucleosídicos de fosforotioato, en la que el oligómero es capaz de reducir la cantidad eficaz de un microARN en una célula o *in vivo*; y un diluyente, vehículo, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

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

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

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

5. La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de los modos de realización 2-4, 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 el modo de realización 4 o 5, en la que la nucleobase en 3' de la secuencia semilla forma la nucleobase más en 3' de la secuencia de nucleótidos contigua, en la que la secuencia de nucleótidos contigua puede comprender, opcionalmente, una o dos nucleobases en 5' adicionales.

7. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-6, en la que dicha secuencia de nucleótidos contigua no comprende un nucleótido que corresponda al primer nucleótido presente en la secuencia de micro ARN contado desde el extremo 5'.

8. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-7, en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria de una secuencia de nucleótidos correspondiente presente en un miARN seleccionado de los mostrados en la tabla 3 o 4 o 5.

9. La composición farmacéutica de acuerdo con el modo de realización 8, en la que dicho miARN 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.

10. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-13, en la que la secuencia de nucleótidos contigua consiste en 7, 8, 9 o 10 unidades contiguas de nucleobases de LNA.

11. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-14, en la que el oligómero consiste en 7, 8, 9 o 10 LNA contiguos.
- 5 12. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-9, en la que un 80 % u 85 % o 90 % o 95 % o la totalidad de los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases de la secuencia de nucleótidos contigua son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
- 10 13. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-18, en la que dicho oligómero está conjugado con uno o más compuestos que no son nucleobases.
14. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-19, en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria de la secuencia correspondiente de al menos dos secuencias de miARN tales como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 secuencias de miARN.
- 15 15. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-20, en la que la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia que es complementaria de 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.
- 20 16. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 20 o 21, en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria de la región correspondiente tanto de miR-221 como de miR-222.
- 25 17. La composición farmacéutica de acuerdo con el modo de realización 22, en la que la secuencia de nucleótidos contigua consiste en o comprende una secuencia que es complementaria de 5'GCUACAU3'.
18. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-23, en la que el oligómero está constituido como un profármaco.
- 30 19. La composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-24, en la que la secuencia de nucleótidos contigua es complementaria de una región correspondiente de has-miR-122.
20. La composición farmacéutica de acuerdo con el modo de realización 25, para uso en el tratamiento de un trastorno médico o enfermedad seleccionado del grupo que consiste en: infección por el virus de la hepatitis C e hipercolesterolemia y trastornos relacionados.
- 35 21. La composición farmacéutica de acuerdo con el modo de realización 25 o 26, en la que la composición comprende además un segundo principio activo independiente que es un inhibidor de la ruta de ensamblado del VLDL, tal como un inhibidor de ApoB o un inhibidor de MTP.
- 40 22. Un kit que comprende una composición farmacéutica de acuerdo con el modo de realización 25 o 26, y un segundo principio activo independiente que es un inhibidor de la ruta de ensamblado del VLDL, tal como un inhibidor de ApoB, o un inhibidor de MTP.
- 45 23. La composición farmacéutica de la invención para uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno médico asociado con la presencia o sobreexpresión de un microARN.
24. Un oligómero, como se define de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización 1-25.
- 50 25. Un conjugado que comprende el oligómero de acuerdo con el modo de realización 30, y al menos un compuesto que no es una nucleobase.
26. El uso de un oligómero o un conjugado como se define en uno cualquiera de los modos de realización 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.
- 55 27. Un procedimiento *in vitro* para reducir la cantidad, o cantidad eficaz, de un miARN en una célula, que comprende administrar un oligómero, un conjugado o una composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización anteriores a la célula que expresa dicho miARN para reducir la cantidad, o la cantidad eficaz, de miARN en la célula.
- 60 28. Un procedimiento *in vitro* para la desrepresión de un ARNm cuya expresión es reprimida por un miARN en una célula, que comprende administrar un oligómero, un conjugado o una composición farmacéutica de acuerdo con uno cualquiera de los modos de realización anteriores a la célula que expresa tanto dicho ARNm como dicho miARN, para desreprimir la expresión del ARNm.
- 65

Referencias: Los detalles de la referencia se proporcionan en los documentos de prioridad.

EJEMPLOS

5 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 WO2007/112754. 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 WO2007/112754. El tratamiento de células *in vitro* con oligonucleótido anti-miR antisentido de LNA (que se dirige a miR-122) se realiza usando la metodología a la que se hace referencia en el ejemplo 6 del documento WO2007/112754. 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 WO2007/112754. La valoración de la especificidad de la desactivación génica de LNA antimir usando el perfil de expresión de micromatrices de miARN se realiza usando la metodología a la que se hace referencia en el ejemplo 8 del documento WO2007/112754. 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 WO2007/112754. El aislamiento y análisis de la expresión de ARNm (aislamiento de ARN total y síntesis de ADNc para el análisis de 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 WO2007/112754. Los experimentos *in vivo* que usan oligómeros de la invención que se dirigen a microARN-122 y el análisis posterior se realizan usando los procedimientos divulgados en los ejemplos 11-27 del documento WO2007/112754.

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

25 **Tabla 2** - Oligómeros usados en los ejemplos y figuras. El N.º de SEQ es un identificador usado a lo largo de los ejemplos y figuras; también se proporciona la SEQ ID NO que se usa en el listado de secuencias.

N.º de SEQ del ejemplo/figura	SEQ ID NO	Secuencia del compuesto	Comentario
#3204	1	TcAGtCTGaTaAgCT	
#3205	2	GATAAGCT	
#3206	3	TcAcAATtaGCAiTA	
#3207	4	TAGCATTa	
#4	5	CcAitGTcaCaCtCC	
#3208	6	CACACTCC	
#3209	7	TAAGCT	
#3210	8	ATAAGCT	
#3211	9	TGATAAGCT	
#3212	10	CTGATAAGCT	
#3213	11	GTCTGATAAGCT	
#3214	12	CAGTCTGATAAGCT	
#3215	13	TCTGATAA	
#3216	14	ATCAGTCT	
#3217	15	TCAACATC	
#3218/#3230	16	GGTAAACT	Subrayado = emparejamiento erróneo
#3219	17	CGTAATGA	Subrayado = emparejamiento erróneo
#3220	18	TCAgictgaiaaGCTa	Marcador fluorescente en 5' (FAM)
#3221	19	AGCACTTT	
#3222	20	ATTTGCAC	
#3223	21	AgCagACaaTgTaGC	Marcador fluorescente en 5' (FAM)
#3224	22	GtAgcCAgaTgTaGC	Marcador fluorescente en 5' (FAM)
#3225	23	ATGTAGC	
#3226	24	ACaAcCTacTaCctC	
#3227	25	ACTACCTC	
#3228	26	CaCtgTCagCaCtTT	
#3229	27	TqCatAGaTtGcAC	

#3231	28	GTAGACT	
#3232	29	TACCTC	
#3233	30	CTACCTC	
#3234	31	TNCTACCTC	N = base universal.
#3235	32	TNCTACCTC	N = base universal.
#3236	33	GCaAcCTacTaCcTC	
#3237	34	ACaAcCTccTaCcTC	
#3238	35	ACaAaCTacTaCcTC	
#3239	36	CTACCTC	
#3240	37	CTAACTC	
#3241	38	TTAGCATT	
#3242	39	CGATTAGCATT	
#3243	977	CACGATTAGCATT	
#3244	978	GCATT	
#3245	979	AGCATT	
#3246	980	ATTAGCATT	
<p>Las letras mayúsculas y minúsculas denotan LNA y DNA, respectivamente. Las citosinas de LNA son preferentemente metilcitosina/5'-metilcitosina* Todos los enlaces internucleosídicos son preferentemente fosforotioato* Todos los LNA pueden ser, por ejemplo, LNA beta-D-oxi* *Usados en los ejemplos específicos.</p>			

Ejemplo 2: Modelo *in vitro*: Cultivo celular

- 5 El efecto de los oligonucleótidos de LNA sobre la expresión (cantidad) del ácido nucleico diana se pueden someter a prueba en cualquiera de una diversidad de tipos de células siempre que el ácido nucleico diana esté presente en niveles medibles. La diana se puede expresar endógenamente o mediante transfección transitoria o estable de un ácido nucleico que codifica dicho ácido nucleico.
- 10 El nivel de expresión del ácido nucleico diana se puede determinar rutinariamente usando, por ejemplo, análisis de inmunoelectrotransferencia (incluyendo inmunoelectrotransferencia de microARN), PCR cuantitativa (incluyendo qPCR de microRNA) y ensayos de protección con ribonucleasa. Los siguientes tipos de células se proporcionan con propósitos ilustrativos, pero se pueden usar de manera rutinaria otros tipos de células, siempre que la diana se exprese en el tipo de células elegido.
- 15 Las células se cultivaron en el medio apropiado como se describe a continuación y se mantuvieron a 37 °C con un 95-98 % de humedad y un 5 % de CO₂. Las células se sometieron a pases de manera rutinaria 2-3 veces por semana.
- 20 **15PC3:** La línea celular de cáncer de próstata humana 15PC3 fue donada amablemente por el Dr. F. Baas, Laboratorio de Neurociencia, AMC, (Países Bajos) y se cultivó en DMEM (Sigma) + suero bovino fetal (FBS) al 10 % + Glutamax I + gentamicina.
- PC3:** La línea celular de cáncer de próstata humano PC3 se adquirió de ATCC y se cultivó en F12 de Coon con glutamina (Gibco) + FBS al 10 % + gentamicina.
- 25 **518A2:** La línea celular de cáncer de melanoma humano 518A2 fue amablemente donada por el Dr. B. Jansen, Sección de Oncología experimental, Farmacología Molecular, Departamento de Farmacología Clínica, Universidad de Viena, y se cultivó en DMEM (Sigma) + suero bovino fetal (FBS) al 10 %. + Glutamax I + gentamicina.
- 30 **HeLa:** La línea celular de carcinoma de cuello uterino HeLa se cultivó en MEM (Sigma) que contiene suero bovino fetal al 10 % + gentamicina a 37 °C, 95 % de humedad y 5 % de CO₂.
- MPC-11:** La línea celular de mieloma múltiple murino MPC-11 se adquirió de ATCC y se mantuvo en DMEM con Glutamax 4 mM + suero de caballo al 10 %.
- 35 **DU-145:** La línea celular de cáncer de próstata humano DU-145 se adquirió de ATCC y se mantuvo en RPMI con Glutamax + FBS al 10 %.
- 40 **RCC-4 +/- VHL:** La línea celular de cáncer renal humano RCC4 transfectada establemente con plásmido que expresa VHL o plásmido vacío se adquirió de ECACC y se mantuvo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

786-0: La línea celular de carcinoma de células renales humanas 786-0 se adquirió de ATCC y se mantuvo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

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

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

B16: La línea celular de melanoma murino B16 se adquirió de ATCC y se mantuvo de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

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

Huh-7: De tipo epitelial de hígado humano, cultivada en MEM de Eagle con SFB al 10 %, Glutamax I 2 mM, 1 × aminoácidos no esenciales, 25 µg/ml de gentamicina.

20 L428: (Deutsche Sammlung für Mikroorganismen (DSM, Braunschweig, Alemania)): Linfoma de linfocitos B humanos mantenido en RPMI 1640 suplementado con PCS al 10 %, L-glutamina y antibióticos.

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

Ejemplo 3: Diseño de una colección de LNA-antimiR para todas las secuencias de microARN humanas en la base de datos de microARN miRBase.

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

35 La **Tabla 1** muestra secuencias de nucleótidos heptaméricas, octaméricas y nonaméricas que comprenden la secuencia semilla de microARN de acuerdo con la base de datos de microARN miRBase. La secuencia semilla comprende el complemento inverso de la región semilla de microARN. En algunos modos de realización, el oligómero de la invención tiene una secuencia de nucleótidos contigua seleccionada de las secuencias heptaméricas, octaméricas o nonaméricas. Con respecto a las secuencias heptaméricas, octaméricas y nonaméricas, en algunos modos de realización todos los enlaces internucleosídicos son fosforotioato. Las secuencias de nucleótidos heptaméricas, octaméricas y nonaméricas pueden consistir en una secuencia de análogos de nucleótidos como se describe en el presente documento, tales como análogos de nucleótidos LNA. Las citosinas de LNA pueden ser metilcitosina (5'-metilcitosina). En algunos modos de realización, el LNA es beta-D-oxi-LNA.

45 La **Tabla 3** proporciona una lista de microARN agrupados en aquellos que pueden ser dirigidos por los mismos oligómeros de secuencia semilla tales como los heptámeros, octámeros o nonámeros 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
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

- 5 Se ha construido un LNA-antimiR octamérico contra miR-21, miR-155 y miR-122 (designado en el presente documento como micromiR) que está completamente modificado con LNA y fosforotiolado (véanse la figura 1 y la Tabla 6). Los resultados de experimentos repetidos en células MCF-7, HeLa, Raw y Huh-7 usando un plásmido de sensores de luciferasa para miR-21, miR-155 y miR-122 demuestran que los LNA-antimiR cortos completamente modificados con LNA son altamente potentes para antagonizar microARN.

Tabla 4. Secuencias de LNA-antimiR y MicromiR y T_m teóricas

SEQ ID NO	microARN	secuencia	T _m (°C)
3204	miR-21	TcAGtCTGaTaAgCT	73
3205		GATAAGCT	33
3206	miR-155	TcAcAATtaGCAtTA	63
3207		TAGCAtTA	45
4	miR-122	CcAttGTcaCaCtCC	73
3208		CACACTCC	62

Las letras mayúsculas son unidades de LNA, tales como beta-D-oxi-LNA. Las letras minúsculas son unidades de ADN. Los enlaces internucleosídicos son preferentemente fosforotioato. Las citosinas de LNA son todas preferentemente citosina metilada/5-metilcitosina.

10

Las temperaturas de fusión se pueden valorar hacia la secuencia de microARN madura, usando un oligonucleótido de microARN sintético (que consiste típicamente en nucleótidos de ARN con una cadena principal de fosfodiéster). Las T_m medidas son típicamente más altas que las T_m teóricas cuando se usan oligómeros de LNA contra la diana de ARN.

5 **Ejemplo 4: Valoración del antagonismo de miR-21 por LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3205 en células MCF-7 usando un ensayo de sensores de luciferasa.**

Para valorar la eficacia de un oligonucleótido LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA (SEQ ID NO: 3205) para dirigirse a y antagonizar miR-21, se construyeron constructos de sensores de luciferasa que contenían un sitio diana de emparejamiento perfecto para el miR-21 maduro y, como control, un sitio diana con dos mutaciones en la semilla (Fig. 6). Para monitorizar la inhibición de microARN-21, se transfectó la línea celular de carcinoma de mama MCF-7 con los diferentes constructos de luciferasa junto con el antagonista de miR-21 de SEQ ID NO: 3205 a concentraciones variables en comparación con un LNA-antimiR pentadecamérico de SEQ ID NO: 3204 contra miR-21. Después de 24 horas, se midió la actividad de la luciferasa.

15 **Resultados:** Como se ve en la Figura 2, el nuevo LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA (SEQ ID NO: 3205) muestra una potencia dos veces mayor en comparación con la SEQ ID NO: 3204, como se muestra mediante la desrepresión de la actividad de la luciferasa. Por el contrario, el constructo del sensor de miR-21 de control con dos emparejamientos incorrectos en la semilla de miR-21 no mostró ninguna desrepresión de la actividad de la luciferasa de luciérnaga, demostrando de este modo la especificidad del sensor de miR-21 de emparejamiento perfecto en la monitorización de la actividad de miR-21 en células. La desrepresión de la actividad de la luciferasa por el LNA-antimiR octamérico es claramente dependiente de la dosis, lo que no se ve con la SEQ ID NO: 3204. Además, el nuevo octámero también es mucho más potente en dosis más bajas que la SEQ ID NO: 3204.

25 *Para concluir*, el LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3205) muestra una potencia significativamente mejorada en la inhibición de miR-21 *in vitro* en comparación con el LNA-antimiR pentadecamérico de SEQ ID NO: 3204 que se dirige a miR-21.

30 **Materiales y procedimientos:**

Línea celular: La línea celular de carcinoma de mama MCF-7 se adquirió de ATCC (n.º HTB-22™). Las células MCF-7 se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

35 Transfección: Se sembraron 400 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células MCF-7 se transfectaron con 0,8 ug de miR-21 de emparejamiento perfecto /psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector psiCHECK2 vacío (SDS Promega) junto con 1 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

40 Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se recogieron con un raspador de células, después de lo cual las células se centrifugaron durante 5 min a 10 000 rpm. El sobrenadante se desechó y se añadieron 50 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) al sedimento celular, después de lo cual las células se pusieron en hielo durante 30 min. Las células lisadas se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de 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).

50 **Ejemplo 5: Valoración del antagonismo de miR-21 por LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3205 en células HeLa usando un ensayo de sensores de luciferasa.**

Para evaluar además la eficacia del LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3205 totalmente modificado con LNA en dirigirse a miR-21, se transfectó también la línea celular de carcinoma de cuello uterino HeLa con los constructos de sensores de la luciferasa de miR-21 previamente descritos junto con la SEQ ID NO: 3205 a concentraciones variables como se describe en la sección anterior (Figura 3).

55 **Resultados:** La SEQ ID NO: 3205 muestra una desrepresión completa del constructo del sensor de la luciferasa de miR-21 en células HeLa ya a 5 nM en comparación con la SEQ ID NO: 3204, que no mostró una desrepresión completa hasta la dosis más alta (50 nM). Además, el antagonismo de miR-21 por el LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3205 es dependiente de la dosis. Para demostrar la especificidad del ensayo de sensores de la luciferasa de miR-21, se transfectó también un sitio diana de miR-21 de emparejamiento erróneo (2 emparejamientos erróneos en la semilla) en células HeLa, pero no mostró ninguna desrepresión de la actividad de la luciferasa de luciérnaga.

60 *Para concluir*, la SEQ ID NO: 3205 completamente modificada con LNA muestra una potencia significativamente mejorada en la inhibición de miR-21 *in vitro*, tanto en células MCF-7 como en células HeLa en comparación con el LNA-antimiR pentadecamérico de SEQ ID NO: 3204.

65

Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa se adquirió en ECACC (n.º 93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

Transfección: Se sembraron 60 000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 0,2 µg de miR-21 de emparejamiento perfecto/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector vacío psiCHECK2 junto con 0,7 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 100 µl de 1 × tampón pasivo de lisis (Promega) a cada pocillo, después de lo cual las placas de 24 pocillos se colocaron en un agitador orbital durante 30 min. Las células se recogieron y se transfirieron a un tubo Eppendorf y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de lo cual se transfirieron 10 µl a una placa de 96 pocillos y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

Ejemplo 6: Valoración del antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3207 en células RAW de ratón usando un ensayo de sensores de luciferasa.

Para averiguar si un LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA puede antagonizar eficazmente miR-155, se clonó un sitio diana de emparejamiento perfecto para miR-155 en el mismo vector de luciferasa (psiCHECK2) y se transfectó a la línea celular RAW de ratón leucémica de monocitos y macrófagos. Debido a que los niveles endógenos de miR-155 son bajos en la línea celular RAW, las células se trataron con 100 ng/ml de LPS durante 24 horas para inducir la acumulación de miR-155.

Resultados: Las mediciones de la luciferasa mostraron que el LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3207 completamente modificado con LNA que se dirige a miR-155 tenía una eficacia similar para antagonizar miR-155 en comparación con el LNA-antimiR pentadecamérico de SEQ ID NO: 3206 (Figura 4). Ambos LNA-antimiR mostraron una desrepresión >50 % del sensor de la luciferasa de miR-155 a una concentración de 0,25 nM e inhibieron miR-155 de una manera dependiente de la dosis.

Conclusión: Estos datos apoyan además los resultados de antagonizar miR-21, como se muestra en los ejemplos 1 y 2, lo que demuestra que un LNA-antimiR octamérico completamente tiolado es altamente potente en dirigirse a microARN.

Materiales y procedimientos:

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

Transfección: Se sembraron 500 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50 % al día siguiente. El día de la transfección, las células MCF-7 se transfectaron con 0,3 µg de miR-155 o vector psiCHECK2 vacío junto con 10 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para inducir la acumulación de miR-155, se añadió LPS (100 ng/ml) a las células RAW después de incubación durante 4 horas con los complejos de transfección. Después de otras 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se recogieron con un raspador de células, después de lo cual las células se centrifugaron durante 5 min a 2500 rpm. El sobrenadante se desechó y se añadieron 50 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) al sedimento celular, después de lo cual las células se pusieron en hielo durante 30 min. Las células lisadas se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de 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 7: Valoración del antagonismo de miR-122 mediante LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3208 en células HuH-7 usando un ensayo de sensores de luciferasa.

Se evaluó la potencia del LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3208 completamente modificado contra miR-122 en la línea celular HuH-7 de hepatoma humano. Las células HuH-7 se transfectaron con el constructo del sensor de luciferasa que contenía un sitio diana de miR-122 de emparejamiento perfecto. Después de 24 horas, se realizaron mediciones de la luciferasa (Figura 5).

Resultados: El LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3208 completamente modificado con LNA es más potente que el LNA-antimiR pentadecamérico de SEQ ID NO: 4 a baja concentración, como se muestra mediante la

desrepresión del sensor de luciferasa de miR-122. Ambos LNA-antimiR inhiben miR-122 de una manera dependiente de la dosis (Figura 5).

Conclusión: El LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA de SEQ ID NO: 3208 que se dirige a miR-122 muestra una potencia mejorada en la inhibición de miR-122 *in vitro*.

Materiales y procedimientos:

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

Transfección: Se sembraron 8.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HuH-7 se transfectaron con 57 ng de miR-122 o un vector psiCHECK2 vacío junto con 1 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen). Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

Ensayo de luciferasa: Se añadieron 50 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a cada pocillo, después de lo cual la placa de 96 pocillos se puso en un agitador orbital durante 30 min. A cada pocillo se le añadió el sistema de Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega) y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

Ejemplo 8. Valoración del antagonismo de miR-21 mediante la comparación de un LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3205) frente a otro pentadecamérico (SEQ ID NO: 3204) en células de carcinoma de próstata humano (PC3).

Se ha demostrado previamente (solicitud de patente 1051) que un LNA-antimiR octamérico que está completamente modificado con LNA y fosforotiolado es capaz de desreprimir por completo los niveles de indicador de luciferasa de miR-21 en la línea celular de carcinoma de cuello uterino HeLa y desreprimir en parte los niveles de indicador de luciferasa de miR-21 en la línea celular de carcinoma de mama humano MCF-7. A continuación, se amplió este enfoque de cribado a la línea celular de cáncer de próstata humano PC3. Para valorar la eficacia de los diferentes oligonucleótidos LNA-antimiR contra miR-21, se generaron constructos de indicadores de luciferasa en los que se clonaron un sitio diana de emparejamiento perfecto para el miR-21 maduro y un sitio diana con dos emparejamientos erróneos en la semilla en la 3' UTR del gen de luciferasa de renilla (Figura 7). Para monitorizar la inhibición de miR-21, se transfectaron células PC3 con los diferentes constructos de luciferasa junto con el antagonista de miR-21 de SEQ ID NO: 3205 (octámero) y para comparación con el LNA-antimiR pentadecamérico de emparejamiento perfecto de SEQ ID NO: 3204 a concentraciones variables. Después de 24 horas, se midió la actividad de la luciferasa.

Resultados: Los experimentos del indicador de luciferasa mostraron una desrepresión dependiente de la dosis de la actividad del indicador de luciferasa de miR-21 con el LNA-antimiR pentadecamérico contra miR-21 (SEQ ID NO: 3204). Sin embargo, no se obtuvo una desrepresión completa de indicador de luciferasa siquiera a las concentraciones más altas (Figura 7). Por el contrario, las células que se transfectaron con LNA-antimiR octamérico completamente sustituido con LNA mostraron una desrepresión completa ya a 1 nM, lo que indica una potencia significativamente mejorada en comparación con el LNA-antimiR pentadecamérico. El indicador de control de luciferasa que alberga un sitio diana de emparejamiento erróneo para miR-21 no se vio afectado por ninguno de los LNA-antimiR, lo que demuestra una alta especificidad de ambos LNA-antimiR.

Conclusión: El micrómero es mucho más potente que el LNA-antimiR pentadecamérico en dirigirse a miR-21 y hasta ahora ha demostrado ser más potente en células de carcinoma de próstata.

Materiales y procedimientos:

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

Transfección: Se sembraron 100 000 células por pocillo en una placa de 12 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50 % al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con 0,3 ug de miR-21 o vector psiCHECK2 vacío junto con 1,2 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 250 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a los pocillos. Las placas se colocaron en un agitador durante 30 min, después de lo cual los lisados celulares se transfirieron a tubos Eppendorf. El lisado celular se centrifugó durante 10 min a 2500 rpm, después de 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. Valoración de la especificidad del antagonismo de miR-21 por un LNA-antimiR octamérico.

5

Para investigar la especificidad del LNA-antimiR corto que se dirige a miR-21, se diseñó un LNA-antimiR octamérico de control de emparejamiento erróneo (SEQ ID NO: 3218) que contenía 2 emparejamientos erróneos en la secuencia de reconocimiento de semilla (véase la Figura 8). Se transfectaron los constructos de indicadores de luciferasa descritos en el ejemplo 1 a la línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa junto con el oligo de control de emparejamiento erróneo de LNA de SEQ ID NO: 3218 y se comparó su eficacia con el LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3205) que se dirige a miR-21. Después de 24 horas, se midió la actividad de la luciferasa.

10

Resultados: Como se muestra en la Figura 8, la transfección del LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA en células HeLa dio como resultado una desrepresión completa del indicador de luciferasa de miR-21 ya a 5 nM. Por el contrario, cuando las células se transfectaron con el oligo de control de emparejamiento erróneo de LNA octamérico, combinado con los resultados obtenidos con indicador de luciferasa de miR-21 de control que tenía dos emparejamientos erróneos en la semilla de miR-21, estos datos demuestran una alta especificidad del LNA-antimiR octamérico completamente sustituido al dirigirse a miR-21 en células HeLa.

15

20

El análisis de la base de datos de secuencias de microARN miRBase mostró que la secuencia de reconocimiento de miR-21 del LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3205 es única para microRNA-21. Sin embargo, al disminuir la longitud del micrómero a 7 nt, no es específico solo para miR-21, ya que ath-miR-844, mmu-miR-590-3p y has-miR-590-3p también son dianas.

25

Conclusión: El intercambio de dos posiciones de nucleótidos dentro del LNA-antimiR octamérico por dos nucleótidos de emparejamiento erróneo anulaba por completo la actividad antagonizante del LNA-antimiR para miR-21.

Materiales y procedimientos:

30

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa se adquirió en ECACC (n.º 93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 µg/ml de gentamicina.

35

Transfección: Se sembraron 60 000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 0,2 µg de miR-21 de emparejamiento perfecto/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o un vector psiCHECK2 vacío junto con 0,7 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

40

45

Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 100 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a cada pocillo, después de lo cual las placas de 24 pocillos se pusieron en un agitador orbital durante 30 min. Las células se recogieron y se transfirieron a un tubo Eppendorf y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de lo cual se transfirieron 10 µl a una placa de 96 pocillos y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

Ejemplo 10. Valoración de la longitud más corta posible de un LNA-antimiR completamente modificado con LNA que media el antagonismo eficaz de miR-21.

50

Para investigar más a fondo los requisitos de longitud del LNA-antimiR, se diseñó un LNA-antimiR heptamérico y hexamérico que se dirigía a miR-21, ambos oligonucleótidos completamente modificados con LNA y fosforotiolados. Se transfectaron los constructos de indicadores de luciferasa de miR-21 en células HeLa junto con los LNA-antimiR a concentraciones variables. Las mediciones de la luciferasa se realizaron después de 24 horas.

55

Resultados: Como se ve en la Figura 9, el LNA-antimiR heptamérico media la desrepresión del plásmido de indicador de luciferasa de miR-21, pero a una potencia menor en comparación con el LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3205). No obstante, aún se puede observar una tendencia dependiente de la dosis. Por el contrario, el LNA-antimiR hexamérico no mostraba ninguna actividad inhibitoria.

60

Conclusión: Para concluir, la longitud más corta posible de un LNA-antimiR que es capaz de mediar la inhibición de miR-21 es de 7 nucleótidos. Sin embargo, el LNA-antimiR heptamérico es menos potente en comparación con LNA-antimiR octamérico para miR-21.

Materiales y procedimientos:

65

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa se adquirió en ECACC (n.º 93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

5 Transfección: Se sembraron 60 000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 0,2 µg de miR-21 de emparejamiento perfecto/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o el vector vacío psiCHECK2 junto con 0,7 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

10 Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 100 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a cada pocillo, después de lo cual las placas de 24 pocillos se pusieron en un agitador orbital durante 30 min. Las células se recogieron y se transfirieron a un tubo Eppendorf y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de lo cual se transfirieron 10 µl a una placa de 96 pocillos y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

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

20 A continuación, se investigó el efecto de aumentar la longitud de un LNA-antimiR noamérico a tetradecamérico completamente sustituido con LNA en el antagonismo de miR-21 en células HeLa. Los LNA-antimiR resultantes se transfectaron en células HeLa junto con los constructos de indicadores de luciferasa de miR-21 (Figura 10). Las mediciones de la luciferasa se realizaron después de 24 horas.

25 **Resultados:** El LNA-antimiR noamérico de SEQ ID NO: 3211 (noamérico) mostró una desrepresión dependiente de la dosis del indicador de luciferasa de miR-21 que no alcanzó la desrepresión completa, como se demostró para el LNA-antimiR heptamérico (SEQ ID NO: 3210). El aumento de la longitud desde decámeros a tetradecámeros (SEQ ID NO: 3212, SEQ ID. NO 3213 y SEQ ID NO: 3214) disminuyó la potencia como se muestra por una desrepresión menos eficaz del indicador de miR-21.

30 **Conclusión:** Como se muestra en la Figura 10, el LNA-antimiR completamente modificado con LNA y fosforotiolado más largo que todavía es capaz de mediar la inhibición de miR-21 es un LNA-antimiR noamérico de SEQ ID NO: 3211. Sin embargo, es claramente menos eficaz que los LNA-antimiR heptamérico y octamérico.

35 **Materiales y procedimientos:** Línea celular: La línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa se adquirió en ECACC (n.º 93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

40 Transfección: Se sembraron 60 000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección para alcanzar una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 0,2 ug de miR-21 de emparejamiento perfecto/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o vector de control psiCHECK2 vacío sin sitio diana junto con 0,7 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

45 Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 100 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a cada pocillo, después de lo cual las placas de 24 pocillos se pusieron en un agitador orbital durante 30 min. Las células se recogieron y se transfirieron a un tubo Eppendorf y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de lo cual se transfirieron 10 µl a una placa de 96 pocillos y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

Ejemplo 12. Determinación de la posición más óptima para un LNA-antimiR octamérico dentro de la secuencia de reconocimiento de la diana de miR.

55 Los experimentos han demostrado que el LNA-antimiR fosforotiolado completamente modificado con LNA más potente tiene 8 nucleótidos de longitud. Para valorar la posición más óptima para un LNA-antimiR octamérico dentro de la secuencia de reconocimiento de la diana de miR, se diseñaron cuatro LNA-antimiR octaméricos completamente modificados con LNA diferentes dispuestos a lo largo de la secuencia de miR-21 madura como se muestra en la Figura 11. Los diferentes LNA-antimiR se cotransfectaron junto con los constructos de indicadores de luciferasa de miR-21 en células HeLa. Las mediciones de la luciferasa se realizaron después de 24 horas. Resultados: El único LNA-antimiR que medió un silenciamiento eficaz de miR-21 medido por el indicador de luciferasa fue el de SEQ ID NO: 3205, que se dirige a la región semilla de miR-21. Ni la SEQ ID NO: 3215 que se diseñó para cubrir el extremo 3' de la semilla (que se dirigía a la semilla en un 50 %) mostró ningún efecto, ni tampoco los otros dos LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3216 o SEQ ID NO: 3217, que se colocaron para dirigirse a la región central y al extremo 3' del miR-21

maduro, respectivamente. Conclusión: El único silenciamiento potente de mi-21 por LNA-antimiR octamérico es el que se dirige a la semilla del miR-21.

Materiales y procedimientos:

5

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa se adquirió en ECACC (n.º 93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

10

Transfección: Se sembraron 60 000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección para alcanzar una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 0,2 µg de miR21 de emparejamiento perfecto /psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o vector psiCHECK2 vacío junto con 0,7 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

15

20

Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 100 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a cada pocillo, después de lo cual las placas de 24 pocillos se pusieron en un agitador orbital durante 30 min. Las células se recogieron y se transfirieron a un tubo Eppendorf y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de lo cual se transfirieron 10 µl a una placa de 96 pocillos y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

Ejemplo 13. Validación de la interacción del sitio diana de miR-21 en la 3'-UTR de Pdc4 y miR-21 usando el LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3205.

25

30

35

La proteína supresora de tumores Pdc4 inhibe la transformación neoplásica inducida por TPA, la promoción y la progresión tumorales. También se ha mostrado que Pdc4 se regula positivamente en la apoptosis en respuesta a diferentes inductores. Además, la regulación negativa de Pdc4 en el cáncer de pulmón y colorrectal también se ha asociado con un mal pronóstico del paciente. Recientemente, Asangani *et al* y Frankel *et al* mostraron que la 3'-UTR de Pdc4 contiene un sitio diana conservado para miR-21, y la transfección de células con un antimiR-21 dio como resultado un aumento de la proteína Pdc4. Por lo tanto, se construyó un plásmido de indicador de luciferasa que alberga 313 nt de la región 3'UTR de Pdc4 que abarca el sitio diana de miR-21 anteriormente mencionado, que se cotransfectó junto con diferentes LNA-antimiR en células HeLa. Los diferentes LNA-antimiR fueron: SEQ ID NO: 3205 (octámero, emparejamiento perfecto) o SEQ ID NO: 3218 (octámero, emparejamiento erróneo). Las mediciones de la luciferasa se realizaron después de 24 horas.

40

45

Resultados: Como se muestra en la Figura 12, en células transfectadas con el indicador de luciferasa de la 3'UTR de Pdc4 y la SEQ ID NO: 3205, se observó un aumento en la actividad de la luciferasa, que indicaba interacción entre la 3'UTR de Pdc4 y miR-21. Sin embargo, transfectando las células con el compuesto de emparejamiento erróneo, la SEQ ID NO: 3218, no se observó cambio en la actividad de la luciferasa, lo que era de esperar ya que el compuesto no antagoniza miR-21. Al comparar el LNA-antimiR octamérico frente a dos LNA-antimiR diseñados más largos, el LNA-antimiR corto modificado completamente con LNA y fosforotiolado era significativamente más potente, lo que confirma los datos anteriores de ensayo de luciferasa.

50

Conclusión: Estos datos concluyen que la SEQ ID NO: 3205, que antagoniza miR-21, puede regular la interacción entre la 3'UTR de Pdc4 y miR-21.

Materiales y procedimientos:

55

Línea celular: La línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa se adquirió en ECACC (n.º 93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

60

Transfección: Se sembraron 60 000 células por pocillo en una placa de 24 pocillos el día antes de la transfección para alcanzar una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 0,2 µg de 3'-UTR de Pdc4/psiCHECK2 o vector psiCHECK2 vacío junto con 0,7 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. También se transfectaron concentraciones variables de los oligonucleótidos LNA-antimiR. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

65

Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 100 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a cada pocillo, después de lo cual las placas de 24 pocillos se pusieron en un agitador orbital durante 30 min. Las células se recogieron y se transfirieron a un tubo Eppendorf y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de lo cual se transfirieron 10 µl a una placa de 96 pocillos y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

Ejemplo 14. Comparación de un LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3207) con un LNA-antimiR pentadecamérico (SEQ ID NO: 3206) en el antagonismo de miR-155 en células RAW de ratón.

Para averiguar si el enfoque de usar LNA-antimiR cortos podría adaptarse a otros miARN, se diseñó un LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA contra microARN-155. Se clonó un sitio diana de emparejamiento perfecto para miR-155 en la 3'UTR del gen de la luciferasa en el plásmido de indicador psiCHECK2 y se transfectó en la línea celular RAW de macrófagos de ratón junto con un LNA-antimiR octamérico o pentadecamérico. Debido a que los niveles endógenos de miR-155 son bajos en la línea celular RAW, las células se trataron con 100 ng/ml de LPS durante 24 horas para inducir la acumulación de miR-155. Después de 24 horas, se realizó el análisis de la luciferasa.

Resultados: Las mediciones de la luciferasa mostraron que el LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3207 completamente modificado con LNA que se dirige a miR-155 tenía una eficacia similar para antagonizar miR-155 en comparación con el LNA-antimiR pentadecamérico de SEQ ID NO: 3206 (Figura 13). Ambos LNA-antimiR mostraron una desrepresión >50 % del sensor de luciferasa de miR-155 a una concentración de 0,25 nM e inhibieron miR-155 de una manera dependiente de la dosis.

El análisis de la base de datos de secuencias de microARN miRBase mostró que la secuencia de reconocimiento de miR-155 del LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3207 es única para microRNA-155. Sin embargo, cuando se reduce la longitud del LNA-antimiR a 7 nt, no es específico solo para miR-155, también está dirigido a mdv1-miR-M4 y kshv-miR-K12-11.

Conclusión: Un LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA y fosforotiolado es igual de potente en comparación con un LNA-antimiR pentadecamérico de un diseño mixto de LNA/ADN en el antagonismo de miR-155. Por tanto, el enfoque de usar LNA-antimiR cortos se puede adaptar fácilmente para dirigirse a otros miARN.

Materiales y procedimientos:

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

Transfección: Se sembraron 500 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50 % al día siguiente. El día de la transfección, las células RAW 264.7 se transfectaron con 0,3 µg de miR-155 de emparejamiento perfecto con /psiCHECK2 o vector psiCHECK2 vacío junto con 10 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR. Para inducir la acumulación de miR-155, se añadió LPS (100 ng/ml) a las células RAW después de incubación durante 4 horas con los complejos de transfección. Después de otras 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se recogieron con un raspador celular, después de lo cual las células se centrifugaron durante 5 min a 2500 rpm. El sobrenadante se desechó y se añadieron 50 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) al sedimento celular, después de lo cual las células se pusieron en hielo durante 30 min. Las células lisadas se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de 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 15. Valoración de los niveles de proteína c/EBPβ como lectura funcional para el antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR corto (SEQ ID NO: 3207).

Como lectura funcional para el antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR corto (SEQ ID NO: 3207) se determinaron los niveles de proteína de una nueva diana de miR-155, c/EBPβ. La línea celular RAW de macrófagos de ratón se transfectó junto con un LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3207) o pentadecamérico (SEQ ID NO: 3206) en ausencia o presencia de pre-miR-155. Como controles de emparejamiento erróneo para el pentadecámero, se usó la SEQ ID NO: 4 que se dirige a miR-122, y para el octámero, se usó la SEQ ID NO: ID 3205, que se dirige a miR-21. Estos dos miARN de control no regulan los niveles de expresión de c/EBPβ. Se usó LPS para inducir la acumulación de miR-155 y las células se recogieron después de 16 horas con LPS. La c/EBPβ tiene tres isoformas; LIP, LAP y LAP*, que se detectaron mediante análisis de transferencia Western, y las mismas membranas se volvieron a sondear con tubulina beta como control de carga.

Resultados: Se calcularon las proporciones para c/EBPβ LIP y tubulina beta como se indica en la Figura 14.

Las células RAW que se transfectaron con el LNA-antimiR pentadecamérico y ningún pre-miR-155 mostraron todas iguales proporciones de c/EBPβ LIP/tubulina beta, debido a que la inhibición de miR-155 aumenta los niveles de c/EBPβ LIP (Figura 14, panel izquierdo). En comparación, la transfección de pre-miR-155 en células RAW dio como resultado una disminución de los niveles de c/EBPβ LIP, como se esperaba, si c/EBPβ era una diana de miR-155, como se muestra en carriles con extractos de proteína de células RAW tratadas sin LNA o un emparejamiento incorrecto. Sin embargo, los extractos proteicos de las células RAW transfectadas con LNA-antimiR contra miR-155

mostraron un aumento de los niveles de c/EBP β LIP. Los mismos experimentos también se llevaron a cabo con el LNA-antimiR-155 octamérico (SEQ ID NO: 3207) y, como se muestra en la Figura 14 (panel derecho), se obtuvieron resultados similares a los del LNA-antimiR pentadecamérico de SEQ ID NO: 3206.

- 5 **Conclusión:** El antagonismo de miR-155 utilizando un LNA-antimiR octamérico o pentadecamérico da lugar a la desrepresión de la diana directa c/EBP β .

Materiales y procedimientos:

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

- 15 Transfección: Se sembraron 500 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección para alcanzar una confluencia de un 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 μ l de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR. Para inducir la acumulación de miR-155, se añadió LPS (100 ng/ml) a las células RAW después de incubación durante 4 horas con los complejos de transfección. Después de 16 horas, las células se recogieron para la extracción de proteínas y el análisis de transferencia Western.

- 20 Transferencia Western: Las células se lavaron con PBS, se tripsinizaron, se transfirieron a tubos Eppendorf y se añadieron 250 μ l de tampón de lisis (1 \times RIPA). El lisado celular se colocó en hielo durante 20 min y se centrifugó a 10 000 rpm durante 10 minutos. La concentración de proteína se midió con Coomassie Plus de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se cargaron 80 ug en un gel de BIS-TRIS al 4-12 %. La membrana se incubó durante la noche a 4 °C con el anticuerpo monoclonal primario de ratón C/EBP B (Santa Cruz) con una concentración de 1:100. Las bandas inmunorreactivas se visualizaron con ECL Plus (Amersham).

- 30 **Ejemplo 16. Antagonismo de miR-106b por un LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA (SEQ ID NO: 3221).**

- Para confirmar que el enfoque de usar LNA-antimiR cortos podría adaptarse a dirigirse a otros miARN, se diseñó un LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA contra microARN-106b. Se clonó un sitio diana de emparejamiento perfecto para miR-106b en la 3'UTR del gen de la luciferasa en el vector (psiCHECK2) y se transfectó en la línea de células HeLa de carcinoma de cuello uterino humano junto con un LNA-antimiR corto (SEQ ID NO 3221) o con un LNA-antimiR pentadecamérico (SEQ ID NO: 3228) a concentraciones variables. Las mediciones de la luciferasa se realizaron después de 24 horas.

- 40 **Resultados:** La transfección del LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3221 contra miR-106b dio como resultado la inhibición dependiente de la dosis de miR-106b, como se muestra por la desrepresión del indicador de luciferasa, que se desreprimió por completo a una concentración de 1 nM de LNA-antimiR (Figura 15).

- Se obtuvieron resultados similares usando el LNA-antimiR pentadecamérico de SEQ ID NO: 3228, demostrando que un LNA-antimiR octamérico tiene una potencia similar a un pentadecámero.

- 45 **Conclusión:** Dirigirse a miR-106b en células HeLa muestra que un LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA y fosforotiolado es igual de potente en comparación con un LNA-antimiR de secuencia mixta de LNA/ADN pentadecamérico.

50 **Materiales y procedimientos:**

- Línea celular: La línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa se adquirió en ECACC (n.º 93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 \times NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

- 55 Transfección: Se sembraron 5200 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección para alcanzar una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 57 ng de miR-21 de emparejamiento perfecto/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o vector psiCHECK2 vacío junto con 0,14 μ l de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

- 60 Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 30 μ l de 1 \times tampón de lisis pasiva (Promega) a cada pocillo, después de lo cual las placas de 24 pocillos se pusieron en un agitador orbital durante 30 min. Las células se recogieron y se transfirieron a tubos Eppendorf y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de lo cual se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

Ejemplo 17. Antagonismo de miR-19a por un LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA (SEQ ID NO: 3222).

5 Para confirmar además que el enfoque del uso de LNA-antimiR cortos se puede adaptar fácilmente para dirigirse a otros miARN, se diseñó un LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA contra microARN-19a. Se clonó un sitio diana de emparejamiento perfecto para miR-19a en la 3'UTR del gen de la luciferasa en el vector psiCHECK2. El plásmido de indicador se transfectó en la línea celular HeLa de carcinoma de cuello uterino humano junto con un LNA-antimiR corto (SEQ ID NO: 3222) o con un LNA-antimiR pentadecamérico (SEQ ID NO: 3229) que se dirigía a miR-19a a concentraciones variables. Las mediciones de la luciferasa se realizaron después de 24 horas.

10 **Resultados:** Como se muestra en la Figura 16, la transfección del LNA-antimiR pentadecamérico de SEQ ID NO: 3229 en HeLa antagoniza eficazmente miR-19a, como se demuestra por desrepresión completa a una concentración de 1 nM de LNA-antimiR. En comparación, la transfección del LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3222 dio como resultado un antagonismo de miR-19a eficaz ya a una concentración de 0,5 nM, lo que indica que este LNA-antimiR octamérico es al menos igual de potente en comparación con un LNA-antimiR pentadecamérico en células HeLa.

15 **Conclusión:** Dirigirse a miR-19a en células HeLa muestra que un LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA y fosforotiolado es al menos igual de potente en comparación con un LNA-antimiR de secuencia mixta de LNA/ADN pentadecamérico.

20 **Materiales y procedimientos:** Línea celular: La línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa se adquirió en ECACC (n.º 93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

25 Transfección: Se sembraron 5200 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección para alcanzar una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con 57 ng de miR-21 de emparejamiento perfecto/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 o vector psiCHECK2 vacío junto con 0,14 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

30 Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 30 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a cada pocillo, después de lo cual las placas de 24 pocillos se pusieron en un agitador orbital durante 30 min. Las células se recogieron y se transfirieron a tubos Eppendorf y se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de lo cual se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

Ejemplo 18. Dirigir una familia de microARN usando LNA-antimiR corto completamente sustituido con LNA.

40 A continuación, se investigó si es posible dirigir una familia de microARN utilizando un único LNA-antimiR corto heptamérico complementario de la secuencia semilla que es común para todos los miembros de la familia (véase la Figura 17). Este experimento se centró en miR-221 y miR-222, que se sobreexpresan en tumores sólidos de colon, páncreas, próstata y estómago. También se ha mostrado que miR-221 y miR-222 son los microARN regulados positivamente más significativos en el glioblastoma multiforme. Además, la sobreexpresión de miR-221 y miR-222 puede contribuir al crecimiento y progresión del carcinoma de próstata, al menos en parte bloqueando la proteína supresora tumoral p27. Se clonó un sitio diana de emparejamiento perfecto tanto para miR-221 como miR-222, respectivamente, en la 3'UTR del gen de la luciferasa, dando como resultado dos constructos de indicadores. Estos constructos se transfectaron por separado o combinados en la línea celular de carcinoma de próstata, PC3. Además del heptámero, dirigido tanto a miR-221 como a miR-222, también se cotransfectó un LNA-antimiR pentadecamérico (pentadecámero) que se dirigía a miR-221 (SEQ ID NO: 3223) o miR-222 (SEQ ID NO: 3224), cada uno transfectado por separado o juntos (véase la Figura 18 a la izquierda).

45 **Resultados:** Como se muestra en la Figura 18, la transfección de células PC3 con el LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3223 contra miR-221 dio como resultado una inhibición eficaz de miR-221 a una concentración de LNA-antimiR de 1 nM. También se observó un efecto inhibitor cuando se usaba el plásmido de indicador de la luciferasa para miR-222, así como cuando se cotransfectaban ambos indicadores de luciferasa para miR-221 y miR-222 simultáneamente en células PC3. Este efecto inhibitor es más probable debido a la secuencia semilla compartida entre miR-221 y miR-222. De forma similar, la transfección de células PC3 con el LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3224 contra miR-222 dio como resultado una inhibición eficaz de miR-222 a una concentración de LNA-antimiR de 1 nM como se muestra mediante la desrepresión completa del indicador de luciferasa para miR-222. También se observó un efecto inhibitor cuando se usaba el plásmido de indicador de la luciferasa para miR-222, así como cuando se cotransfectaban ambos indicadores de luciferasa para miR-221 y miR-222 simultáneamente en células PC3. La cotransfección de ambos compuestos LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3223 y SEQ ID NO: 3224 contra miR-221 y miR-222, respectivamente (véase la Figura 18 a la izquierda), dio como resultado la inhibición eficaz de ambos miARN como se muestra mediante la desrepresión completa de los plásmidos de indicadores de luciferasa tanto cuando se transfectan por separado como cuando se cotransfectan en células PC3. Curiosamente, la transfección de un único LNA-antimiR heptamérico

completamente modificado con LNA (SEQ ID NO: 3225) que se dirige a la secuencia semilla de miR-221 y miR-222 en células PC3 dio como resultado un antagonismo eficaz y dependiente de la dosis de miR-221 y miR-222 simultáneamente, como se muestra mediante la desrepresión completa de los plásmidos de indicadores de luciferasa tanto cuando se transfectan por separado como cuando se cotransfectan en células PC3. Esto demuestra que un

5

único LNA-antimiR corto sustituido con LNA puede dirigirse eficazmente a las secuencias semilla, antagonizando de este modo familias de microARN completas simultáneamente. El análisis de la base de datos de secuencias de microARN miRBase mostró que la secuencia de reconocimiento de semilla de miR-221/222, del LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3225, es única para ambos miARN.

10

Materiales y procedimientos:

15

Línea celular: La línea celular PC3 de carcinoma de próstata humano se adquirió en ECACC (n.º 90112714). Se cultivaron células PC3 en medio DMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM y 25 µg/ml de gentamicina.

Transfección: Se sembraron 100 000 células por pocillo en una placa de 12 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50 % al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con 0,3 µg de plásmido de indicador de luciferasa para miR-221 o para miR-222 o con el vector psiCHECK2 vacío sin sitio diana de miARN como control junto con 1,2 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

25

Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 250 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a los pocillos. Las placas se colocaron en un agitador durante 30 min, después de lo cual los lisados celulares se transfirieron a tubos Eppendorf. El lisado celular se centrifugó durante 10 min a 2500 rpm, después de 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).

30

Ejemplo 19. Valoración de los niveles de proteína p27 como lectura funcional para el antagonismo de la familia de miR-221/222 por el LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3225 heptamérico.

El trabajo previo ha 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 observó que la regulación negativa de miR-221 y miR-222 aumentaba los niveles de expresión de p27. Por tanto, como lectura funcional para el antagonismo de la familia de miR-221/222 por el LNA-antimiR heptamérico de SEQ ID NO: 3225, se determinaron los niveles de proteína p27 después de la transfección del LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3225 en células PC3 en comparación con un control de emparejamiento incorrecto de LNA octamérico. Después de 24 horas, las células se recogieron para análisis de transferencia Western (Figura 19).

35

40

Resultados: Como se muestra en la Figura 19, la transfección del LNA-antimiR heptamérico de SEQ ID NO: 3225 que se dirigía a la secuencia semilla de miR-221 y miR-222 dio como resultado un aumento dependiente de la dosis de los niveles de proteína p27 en comparación con células PC3 no transfectadas o transfectadas con control de emparejamiento erróneo de LNA. Estos resultados demuestran claramente que el LNA-antimiR heptamérico es capaz de antagonizar eficazmente la familia de miR-221/222, lo que da lugar a la desrepresión de la diana directa p27 al nivel de proteína.

45

Conclusión: Un LNA-antimiR heptamérico completamente modificado con LNA que se dirige a la secuencia semilla de la familia de miR-221/222 antagonizó eficazmente ambos miARN, dando lugar a la desrepresión de la diana directa p27 al nivel de proteína.

50

Materiales y procedimientos:

55

Línea celular: La línea celular PC3 de carcinoma de próstata humano se adquirió en ECACC (n.º 90112714). Se cultivaron células PC3 en medio DMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM y 25 µg/ml de gentamicina.

Transfección: Se sembraron 250 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50 al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con LNA-antimiR a concentraciones variables con Lipofectamine2000. Las células se recogieron después de 24 horas para la extracción de proteínas y el análisis de transferencia Western.

60

Transferencia Western: Las células se lavaron con PBS, se tripsinizaron, se transfirieron a tubos Eppendorf y se añadieron 250 µl de tampón de lisis (1 × RIPA). El lisado celular se colocó en hielo durante 20 min y se centrifugó

65

entonces a 10 000 rpm durante 10 minutos. La concentración de proteína se midió con Coomassie Plus de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se cargaron 100 µg en un gel de BIS-TRIS al 4-12 %. La membrana se incubó durante la noche a 4 °C con el anticuerpo monoclonal primario de ratón p27 (BO Biosciences) a una dilución de 1:1000. Las bandas inmunorreactivas se visualizaron con ECL Plus (Amersham).

Ejemplo 20. Temperaturas de fusión del dúplex (T_m) de los LNA-antimiR.

Como se muestra en la tabla 5, los valores de T_m aumentan al aumentar la longitud de LNA-antimiR cortos completamente modificados con LNA (véanse los valores de T_m para la SEQ ID NO: 3205 y SEQ ID NO: 3209-3214 en la tabla 7). El efecto inhibitorio más óptimo se logró con el LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3205 contra miR-21, mientras que la T_m muy baja del hexámero de SEQ ID NO: 3209 probablemente no sea suficiente para mediar el antagonismo de la diana de miR-21. Por otro lado, aumentar la longitud más allá de un decámero (SEQ ID NO: 3212) aumenta significativamente la T_m , mientras que simultáneamente disminuye la actividad inhibitoria medida usando el indicador de luciferasa de miR-21, lo que muy probablemente se deba a la alta tendencia de los LNA-antimiR dodecaméricos y tetradecaméricos completamente modificados a formar homodímeros. Los experimentos que usan una ventana deslizante de LNA-antimiR octaméricos completamente modificados con LNA a lo largo de la secuencia de reconocimiento de miR-21 demuestran claramente que, además de un valor de T_m adecuado del LNA-antimiR, la región semilla es lo más crítico para la función de miARN y, por tanto, la región más óptima para que se dirija a ella un LNA-antimiR.

Tabla 5: Valores de T_m para LNA-antimiR de miR-21, medidos frente a un oligonucleótido de ARN complementario

SEQ ID NO	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 los datos experimentales obtenidos con los indicadores de luciferasa, muestran que un potente antagonismo por LNA-antimiR no solo depende de la T_m , sino que también depende de la colocación del LNA-antimiR dentro de la secuencia de reconocimiento de microARN.

Materiales y procedimientos:

Mediciones de la T_m : Se diluyeron dúplex de oligonucleótido:ARN de miR-21 a 3 pM en 500 µl de H₂O libre de ARNasa y se mezclaron con 500 µl de 2 × tampón de T_m (NaCl 200 mM, EDTA 0,2 mM, fosfato de Na 20 mM, pH 7,0). La solución se calentó a 95 °C durante 3 min y luego se dejó reasociar a TA durante 30 min. Las temperaturas de fusión del dúplex (T_m) 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 elevó de 20 °C a 95 °C y luego bajó a 25 °C, registrándose la absorción a 260 nm. Se usaron la primera derivada y los máximos locales tanto de la fusión como de la reasociación para evaluar las temperaturas de fusión del dúplex.

Ejemplo 21. Valoración del antagonismo de miR-21 mediante la comparación de un LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3205) frente a uno pentadecamérico (SEQ ID NO: 3204) en la línea celular hepatocítica humana HepG2.

Se ha demostrado previamente en esta solicitud que un LNA-antimiR octamérico que está completamente modificado con LNA y fosforotiolado antagoniza eficazmente miR-21 en la línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa, la línea celular de carcinoma de mama humano MCF-7 y la línea celular de cáncer de próstata humano PC3. Se amplió este enfoque de cribado a la línea celular de cáncer hepatocelular humano HepG2. Para valorar la eficacia del oligonucleótido LNA-antimiR octamérico contra miR-21, se generaron constructos de indicadores de luciferasa en los que se clonó un sitio diana de emparejamiento perfecto para el miR-21 maduro en la 3'UTR del gen de la luciferasa de renilla. Para monitorizar la inhibición de miR-21, se transfectaron células HepG2 con los constructos de luciferasa junto con el antagonista de miR-21 de SEQ ID NO: 3205 (octámero) y para la comparación de la especificidad con el LNA-antimiR octamérico de emparejamiento erróneo (SEQ ID NO: 3218) y para la comparación de la potencia junto

con el pentadecámero (SEQ ID NO: 3204) a concentraciones variables. Después de 24 horas, se midió la actividad de la luciferasa.

5 **Resultados:** Los experimentos del indicador de luciferasa mostraron una desrepresión dependiente de la dosis de la actividad del indicador de luciferasa de miR-21 con el LNA-antimiR pentadecamérico contra miR-21 (SEQ ID NO: 3204). Sin embargo, no se obtuvo una desrepresión completa de indicador de luciferasa siquiera a las concentraciones más altas (Figura 20). Por el contrario, las células que se transfectaron con LNA-antimiR octamérico completamente modificado con LNA (SEQ ID NO: 3205) mostraron una desrepresión completa ya a 5 nM, lo que indica una potencia significativamente mejorada en comparación con el LNA-antimiR pentadecamérico. Comparando la especificidad del 10 octámero de emparejamiento perfecto y el octámero de emparejamiento erróneo, el LNA-antimiR de emparejamiento erróneo (SEQ ID NO: 3218) no mostró ninguna desrepresión, demostrando una alta especificidad del compuesto de LNA-antimiR contra miR- 21.

15 **Conclusión:** El LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3205) es más potente que el pentadecamérico al dirigirse a miR-21, y el antagonismo de miR-21 por la SEQ ID NO: 3205 es específico.

Materiales y procedimientos:

20 Línea celular: La línea celular HepG2 hepatocítica humana se adquirió de ECACC (n.º 85011430). Las células HepG2 se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM y 25 ug/ml de gentamicina.

25 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 µg de miR-21, o vector psiCHECK2 vacío junto con 2,55 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

30 Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 300 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a los pocillos. Las placas se colocaron en un agitador durante 30 min, después de lo cual los lisados celulares se transfirieron a tubos Eppendorf. El lisado celular se centrifugó durante 10 min a 2500 rpm, después de 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).

35 **Ejemplo 22. Validación de la interacción del sitio diana de miR-21 en la 3'-UTR de Pdc4 y miR-21 usando el LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3205 en la línea celular hepatocelular humana Huh-7.**

La proteína supresora tumoral Pdc4 inhibe la promoción y progresión tumorales. Además, la regulación negativa de Pdc4 en el cáncer de pulmón y colorrectal también se ha asociado con un mal pronóstico del paciente. Recientemente, Asangani *et al* (Oncogene 2007) y Frankel *et al* (J Biol Chem 2008) mostraron que la 3'-UTR de Pdc4 40 contiene un sitio diana conservado para miR-21, y la transfección de células con un antimiR-21 dio como resultado un aumento de la proteína Pdc4. Por lo tanto, se construyó un plásmido de indicador de luciferasa que alberga 313 nt de la región 3'UTR de Pdc4 que abarca el sitio diana de miR-21 anteriormente mencionado, que se cotransfectó junto con diferentes LNA-antimiR y pre-miR21 (10 nM) en células Huh-7. Los diferentes LNA-antimiR fueron: SEQ ID NO 3205 (octámero, emparejamiento perfecto), SEQ ID NO: 3218 (octámero, emparejamiento erróneo) y SEQ ID NO: 45 3204 (pentadecámero, secuencia mixta de ADN/LNA). Las mediciones de la luciferasa se realizaron después de 24 horas.

50 **Resultados:** Como se muestra en la Figura 21, en células transfectadas con el indicador de luciferasa de la 3'UTR de Pdc4 y la SEQ ID NO: 3205, se observó un aumento en la actividad de la luciferasa, que indicaba interacción entre la 3'UTR de Pdc4 y miR-21. Sin embargo, transfectando las células con el compuesto de emparejamiento erróneo, la SEQ ID NO: 3218, no se observó cambio en la actividad de la luciferasa, lo que era de esperar ya que el compuesto no antagoniza miR-21. Al comparar el LNA-antimiR octamérico frente al LNA-antimiR pentadecamérico (SEQ ID NO: 3204), el LNA-antimiR corto modificado completamente con LNA y fosforotiolado era significativamente más potente, lo que confirma los datos anteriores.

55

Materiales y procedimientos:

60 Línea celular: La línea de células de hepatoma humano Huh-7 fue un amable regalo de R. Bartinschlager (Dept. Virología Mol., Universidad de Heidelberg). Se cultivaron células Huh-7 en medio DMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

65 Transfección: Se sembraron 11 000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección para alcanzar una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células Huh-7 se transfectaron con 20 ng de 3'UTR de Pdc4/psiCHECK2 o vector psiCHECK2 vacío junto con pre-miR-21 10 nM (Ambion) y 0,14 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. También se transfectaron

concentraciones variables de los oligonucleótidos LNA-antimiR. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

5 Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron y se añadieron 30 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a cada pocillo, después de lo cual las placas de 96 pocillos se pusieron en un agitador orbital. Después de 30 min, se añadieron 50 µl de sustrato de luciferasa disuelto en tampón de ensayo de luciferasa II (Dual-Luciferase Reporter Assay System de Promega, n.º de cat. E1910) a los pocillos con células lisadas y se realizaron mediciones de la luciferasa de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

10 **Ejemplo 23. Valoración de los niveles de proteína Pdc4 como lectura funcional para el antagonismo de miR-21 por el LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3205).**

Además, también se transfectaron células HeLa con SEQ ID NO: 3205 (emparejamiento perfecto), SEQ ID NO: 3218 (emparejamiento erróneo), SEQ ID NO: 3219 (secuencia aleatoria) y se analizaron los niveles de proteína Pdc4 después de 24 horas con transferencia Western (Figura 22). Como se muestra, en los extractos proteicos de las células en las que se había añadido la SEQ ID NO: 3205, los niveles de proteína Pdc4 aumentan, debido al antagonismo de miR-21 por la SEQ ID NO: 3205, en contraste con los dos oligonucleótidos de LNA de control.

20 **Conclusión:** El antagonismo de miR-21 usando un octámero (SEQ ID NO: 3205) da lugar a la desrepresión del antagonismo de miR-21 por la diana directa Pdc4.

Materiales y procedimientos:

25 Línea celular: La línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa se adquirió en ECACC (n.º 93021013). Las células HeLa se cultivaron en medio EMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 µg/ml de gentamicina.

30 Transfección: Se sembraron 200 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa se transfectaron con oligonucleótidos de LNA 5 nM y Lipofectamine2000 2,5 µl/ml (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas, las células se recogieron para análisis de transferencia Western.

35 Transferencia Western: Las células se lavaron con PBS, se tripsinizaron, se transfirieron a tubos Eppendorf y se añadieron 50 µl de tampón de lisis (1 × RIPA). El lisado celular se colocó en hielo durante 20 min y se centrifugó a 10 000 rpm durante 10 minutos. Se cargaron cantidades iguales (15 µl de lisado celular) en un gel de BIS-TRIS al 4-12 %. 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 primario sérico de conejo purificado por afinidad Pdc4 (Rockland) con una concentración de 1:2000. Como control, se usaron anticuerpos anti-tubulina beta (Thermo Scientific) a una dilución de 1:5000. Las bandas inmunorreactivas se visualizaron con ECL Plus (Amersham).

Ejemplo 24. Valoración de la hepatotoxicidad potencial del LNA-antimiR octamérico de emparejamiento perfecto de SEQ ID NO: 3205 y la SEQ ID NO: 3218 de control de emparejamiento erróneo de LNA.

45 Cada compuesto se inyectó en ratones hembra NMRI, a dosis de 25 mg/kg, 5 mg/kg y 1 mg/kg, cada dos días durante 2 semanas. Los animales se sacrificaron y se recogió el suero de sangre completa para análisis de ALT y AST. Como se ve en la Figura 23, los niveles de ALT y AST no se elevaron para la SEQ ID NO: 3205 en comparación con la solución salina o la SEQ ID NO: 3218 (control de emparejamiento erróneo). Sin embargo, un ratón mostró niveles aumentados (marcados en rojo), ya que las muestras de suero estaban contaminadas con glóbulos rojos, que contienen niveles 6-8 veces más altos de ALT y AST en comparación con el plasma. En los ratones que recibieron 5 mg/kg y 1 mg/kg también se analizaron los niveles de ALT y AST, y no mostraron cambios en comparación con los animales de control tratados con solución salina (datos no mostrados).

Materiales y procedimientos:

55

Diseño experimental:

N.º de gr.	N.º de ID de animal	N.º de ratones	Nivel de dosis de compuesto al día	Conc. a un vol. de dosis de 10 ml/kg	Vía de administración	Dosificación
1	1-10	10	NaCl 0,9 %	-	i.v.	0, 2, 4, 7, 9.
2	11-15	5	SEQ ID NO: 3205 25 mg/kg	2,5 mg/ml	i.v.	0, 2, 4, 7, 9.

3	16-20	5	SEQ ID NO: 3205 5 mg/kg	0,5 mg/ml	i.v.	0, 2, 4, 7, 9.
4	21-25	5	SEQ ID NO: 3205 1 mg/kg	0,1 mg/ml	i.v.	0, 2, 4, 7, 9.
5	26-30	5	SEQ ID NO: 3230 25 mg/kg	2,5 mg/ml	i.v.	0, 2, 4, 7, 9.
6	31-35	5	SEQ ID NO: 3230 5 mg/kg	0,5 mg/ml	i.v.	0, 2, 4, 7, 9.

Sacrificio: Los animales fueron sacrificados por luxación cervical.

- 5 **Muestreo de suero para ALT/AST:** Los animales fueron anestesiados con un 70 % de CO₂-30 % de O₂ antes de la recogida de sangre del seno retroorbitario. La sangre se recogió en viales S-monovette Serum-Gel. Las muestras de suero se recogieron y almacenaron de cada ratón individual. Las muestras de sangre se almacenaron a temperatura ambiente durante dos horas y después de ello se centrifugaron 10 min, 3000 rpm, a temperatura ambiente. Las fracciones de suero se recogieron en tubos Eppendorf sobre hielo húmedo.
- 10 **Mediciones de ALT y AST:** Las mediciones de ALT y AST se realizaron en placas de 96 pocillos usando reactivos de 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 2,5 veces con H₂O y cada muestra se sometió a prueba por duplicado. Después de la adición de 50 µl de muestra diluida o patrón (Multical de ABX Pentra A11A01652) a cada pocillo, se añadieron 200 µl de mezcla de reactivo para AST o ALT a 37 °C a cada pocillo. Las mediciones cinéticas se realizaron durante 5 min con un intervalo de 30 s a 340 nm y 37 °C.

Ejemplo 25. Valoración de los niveles de proteína PU.1 como lectura funcional para el antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR corto (SEQ ID NO: 3207).

- 20 Se ha demostrado previamente que el octámero (SEQ ID NO: 3207) que antagoniza miR-155 da lugar a la desrepresión de la diana de miR-155 c/EBPbeta en las células RAW de macrófagos de ratón. Para verificar además la potencia de la SEQ ID NO: 3207, se determinaron los niveles de proteína de otra diana de miR-155, PU.1. Como lectura funcional para el antagonismo de miR-155 por LNA-antimiR corto (SEQ ID NO: 3207), se realizó una transferencia Western. El antagonismo se verificó en la línea celular THP-1 monocítica humana, que se transfectó junto con un octámero de emparejamiento perfecto (SEQ ID NO: 3207) o un LNA octamérico de control en ausencia o presencia de pre-miR-155. Se usó LPS para inducir la acumulación de miR-155 y las células se recogieron después de 24 horas.

- 30 **Resultados:** Las células THP-1 que se transfectaron con pre-miR-155 muestran una disminución de los niveles de PU.1 (Figura 24). La transfección de las células con la SEQ ID NO: 3207 completamente modificada con LNA y fosforotiolada antagoniza eficazmente miR-155, dando lugar a niveles inalterados de proteína PU.1. En comparación, transfectando las células con un control de LNA octamérico, los niveles de PU.1 disminuyeron, lo que indica que el antagonismo de miR-155 por el LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3207 es específico.

- 35 **Conclusión:** El antagonismo de miR-155 usando un octámero da lugar a la desrepresión de la diana directa PU.1 en células THP-1 humanas.

Materiales y procedimientos:

- 40 **Línea celular:** La línea de células THP-1 monocítica humana se adquirió de ECACC (n.º 88081201). Las células THP-1 se cultivaron en RPMI con L-glutamina, complementada con suero bovino fetal al 10 %.

- 45 **Transfección:** Se sembraron 200 000 células por pocillo en una placa de 12 pocillos el día anterior. 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 Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se añadió LPS (100 ng/ml) a las células después de incubación durante 4 horas con los complejos de transfección. Después de 24 horas, las células se recogieron para la extracción de proteínas y el análisis de transferencia Western.

- 50 **Transferencia Western:** Las células se lavaron con PBS, se tripsinizaron, se transfirieron a tubos Eppendorf y se añadieron 50 µl de tampón de lisis (1 × RIPA). El lisado celular se colocó en hielo durante 20 min y se centrifugó a 10 000 rpm durante 10 minutos. Se cargaron cantidades iguales (15 µl de lisado celular) en un gel de BIS-TRIS al 4-12 %. 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 contra PU.1 de conejo (Cell Signaling) a una concentración de 1:2000. Como carga igual, se usó tubulina (Thermo Scientific) a una dilución de 1:5000. Las bandas inmunorreactivas se visualizaron con ECL Plus (Amersham).

Ejemplo 26. Valoración de los niveles de proteína p27 como lectura funcional para el antagonismo de la familia de miR-221/222 por el LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3225 heptamérico.

5 El trabajo previo ha 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 observó que la regulación negativa de miR-221 y miR-222 aumentaba los niveles de expresión de p27. Por tanto, como lectura funcional para el antagonismo de la familia de miR-221/222 por el LNA-antimiR heptamérico de SEQ ID NO: 3225, se determinaron los niveles de proteína p27 después de la transfección
10 del LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3225 en células PC3.

Resultados: Como se muestra en la Figura 25, la transfección del LNA-antimiR heptamérico de SEQ ID NO: 3225 que se dirigía a la secuencia semilla de miR-221 y miR-222 dio como resultado un aumento dependiente de la dosis de los niveles de proteína p27 en comparación con células PC3 no transfectadas o transfectadas con control de secuencia aleatoria de LNA. Estos resultados demuestran claramente que el LNA-antimiR heptamérico es capaz de antagonizar eficazmente la familia de miR-221/222, lo que da lugar a la desrepresión de la diana directa p27 al nivel
15 de proteína a concentraciones de tan solo 5 nM.

Conclusión: Un LNA-antimiR heptamérico completamente modificado con LNA que se dirige a la secuencia semilla en la familia de miR-221/222 a 5 nM puede antagonizar eficazmente ambos miARN, dando lugar a la desrepresión de la diana directa p27 al nivel de proteína.
20

Materiales y procedimientos:

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

30 Transfección: Se sembraron 250 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50 al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con oligonucleótidos de LNA a concentraciones variables (véase la Figura 25) con Lipofectamine2000. Las células se recogieron después de 24 horas para la extracción de proteínas y el análisis de transferencia Western.

35 Transferencia Western: Las células se lavaron con PBS, se tripsinizaron, se transfirieron a tubos Eppendorf y se añadieron 50 µl de tampón de lisis (1 × RIPA). El lisado celular se colocó en hielo durante 20 min y se centrifugó entonces a 10 000 rpm durante 10 minutos. Se cargaron cantidades iguales (15 µl de lisado celular) en un gel de BIS-TRIS al 4-12 %. 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 primario de ratón p27 (BD Biosciences) a una dilución de 1:1000. Como control de carga, se usó tubulina (Thermo Scientific) a una dilución de 1:5000. Las bandas inmunorreactivas se visualizaron con ECL Plus (Amersham).
40

Ejemplo 27. La desactivación génica de miR-221/222 por LNA-antimiR heptamérico de SEQ ID NO: 3225 reduce la formación de colonias de células PC3.

45 Un signo distintivo de la transformación celular es la capacidad de las células tumorales de crecer de una manera independiente del anclaje en un medio semisólido. Por lo tanto, se ha realizado un ensayo en agar blando que es un ensayo fenotípico que es pertinente para el cáncer, dado que mide la disminución de las células tumorales. Se transfectaron la SEQ ID NO: 3225 (emparejamiento perfecto) y la SEQ ID NO: 3231 (secuencia aleatoria) en células PC3 y, después de 24 horas, se sembraron células en agar blando. Las colonias se contaron después de 12 días. Se muestra en la Figura 26 que la inhibición de miR-221 y miR-222 por la SEQ ID NO: 3225 puede reducir la cantidad de colonias que crecen en agar blando en comparación con LNA-antimiR de control de secuencia aleatoria, lo que indica una disminución de las células tumorales.
50

Conclusión: El heptámero (SEQ ID NO: 3225) que se dirige a la familia de miR-221/222 reduce el número de colonias en agar blando, lo que indica la detención de la proliferación de las células PC3.
55

Materiales y procedimientos:

60 Línea celular: La línea celular PC3 de carcinoma de próstata humano se adquirió de ECACC (n.º 90112714). Las células PC3 se cultivaron en medio DMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM y 25 ug/ml de gentamicina.

65 Transfección: Se sembraron 250 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50 al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con 25 nM de diferentes oligonucleótidos de LNA con Lipofectamine2000.

Crecimiento clonogénico en agar blando: Se sembraron $2,5 \times 10^3$ células PC3 en agar al 0,35 % sobre la parte superior de una capa base que contenía agar al 0,5 %. Las células se sembraron 24 horas después de la transfección. Las placas se incubaron a 37 °C y 5 % de CO₂ en una incubadora humidificada durante 12 días y se tiñeron con 0,005 % de violeta cristal durante 1 h, después de lo cual se contaron las células. El ensayo se realizó por triplicado.

5

Ejemplo 28: Valoración del antagonismo de let-7 por LNA-antimiR hexaméricos a nonaméricos en células Huh-7 transfectadas con miARN precursor de let-7a, y un ensayo de sensor de luciferasa.

Para valorar la eficacia de los oligonucleótidos hexaméricos a nonaméricos completamente modificados con LNA para dirigirse a y antagonizar la familia let-7 de miARN-7, se construyó un constructo de sensor de luciferasa, que contenía aproximadamente 800 pb de la 3'UTR de HMGA2. La secuencia clonada en el vector contiene cuatro de siete sitios de unión a let-7 funcionales (sitios 2-5), como se demostró anteriormente por Mayr et al. (Science, 2007) y Lee y Dutta (Genes Dev, 2007). Para monitorizar la inhibición de let-7, la línea celular de carcinoma hepatocelular Huh-7 (con niveles bajos a inexistentes de let-7 endógeno) se transfectó con el constructo de sensor de luciferasa, con el miARN precursor de let-7a, y con los antagonistas hexaméricos a nonaméricos de let-7 de SEQ ID NO: 3232, 3233, 3227, 3234, 3235; véase la Figura 27) a concentraciones crecientes. Los LNA-antimiR hexaméricos a nonaméricos se compararon con la SEQ ID NO: 3226, un pentadecámero contra let-7a, como control positivo. Después de 24 horas, se midió la actividad de la luciferasa.

Resultados: Como se ve en la Figura 28, los LNA-antimiR octaméricos y nonaméricos completamente modificados con LNA (SEQ ID NO: 3227, SEQ ID NO: 3234 y SEQ ID NO: 3235) muestran potencias similares en la desrepresión de las dianas de let-7 en el ensayo de sensor de luciferasa, como el control positivo pentadecamérico de SEQ ID NO: 3226. La desrepresión total de la diana para estos compuestos altamente potentes se alcanza ya a 1-5 nM, mientras que el heptámero de SEQ ID NO: 3233 necesita estar presente en concentraciones ligeramente mayores (10 nM) para generar el mismo efecto. Sin embargo, el hexámero de SEQ ID NO: 3232 no muestra ningún efecto siquiera a concentraciones de hasta 50 nM. La desrepresión de la actividad de la luciferasa por los LNA-antimiR heptaméricos a nonaméricos y pentadecaméricos es dependiente de la dosis, lo que es particularmente claro en el caso de la SEQ ID NO: 3233 ligeramente menos potente.

Conclusión: Para concluir, los LNA-antimiR octaméricos a nonaméricos (SEQ ID NO: 3227, SEQ ID NO: 3234 y SEQ ID NO: 3235) muestran potencias antagonistas iguales en la inhibición de let-7a *in vitro* en comparación con el LNA-antimiR pentadecamérico de SEQ ID NO: 3226 que se dirige a let-7a. También se observa un efecto potente, aunque a concentraciones ligeramente más altas, para el heptámero SEQ ID NO: 3233, mientras que un hexámero no tiene efecto a las concentraciones sometidas a prueba.

35

Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma hepatocelular Huh-7 fue un amable regalo de R. Bartinschlager (Dept. Virología Mol., Universidad de Heidelberg). Se cultivaron células Huh-7 en medio DMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, $1 \times$ NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

40

Transfección: Se sembraron 8000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 60-80 % al día siguiente. El día de la transfección, se transfectaron células Huh-7 en cada pocillo con 20 ng de plásmido de la 3'UTR de HMGA2/psiCHECK2, miARN precursor de let-7a (Dharmacon, concentración final 10 nM), LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3232, 3233, 3227, 3234, 3235, 3226; concentraciones finales de 0-50 nM) junto con 0,17 μ l de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

45

Ensayo de luciferasa: Se desechó el medio de crecimiento y se añadieron 30 μ l de $1 \times$ tampón de lisis pasiva (Promega) a cada pocillo. Después de 15-30 minutos de incubación en un agitador orbital, se realizaron mediciones de la luciferasa de renilla y luciérnaga de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega).

50

Ejemplo 29: Valoración del antagonismo de la familia completa de let-7 por LNA-antimiR octaméricos y pentadecaméricos en células Huh-7 transfectadas con un ensayo de sensor de luciferasa.

55

Para valorar la eficacia de un oligonucleótido octamérico completamente modificado con LNA para antagonizar la familia completa de miARN de let-7, se usó el mismo constructo de sensor de luciferasa que se describió en el ejemplo anterior. De nuevo, las células Huh-7 (con niveles bajos a inexistentes de let-7 endógeno) se transfectaron con el constructo de sensor, con uno de los representantes de la familia de precursores let-7a, let-7d, let-7e o let-7i y con el antagonista de SEQ ID NO: 3227 a concentraciones crecientes. El LNA-antimiR octamérico se comparó con la SEQ ID NO: 3226, un pentadecámero contra let-7a, como control positivo y potente. Después de 24 horas, se midió la actividad de la luciferasa.

60

Resultados: Como se ve en la Figura 29, los LNA-antimiR octaméricos completamente modificados con LNA (SEQ ID NO: 3227) muestran potencias similares para desreprimir las diversas dianas de let-7 en el ensayo de sensor de luciferasa, como el pentadecámero de SEQ ID NO: 3226 de control positivo. La desrepresión casi total de la diana

65

para el octámero se alcanza ya a 0,5-1 nM, excepto en el caso del premiR de let-7e (Figura 29C), en el que solo hibridan 7 de 8 nucleótidos de SEQ ID NO: 3227 con la diana. Sin embargo, a pesar del emparejamiento erróneo terminal en este caso, la SEQ ID NO: 3227 genera una desrepresión total de la diana a 5 nM. El pentadecámero de control positivo muestra un potente antagonismo de todos los precursores y proporciona una desrepresión casi total a 0,5 nM. La desrepresión de la actividad de la luciferasa por los LNA-antimiR tanto octaméricos como pentadecaméricos es claramente dependiente de la dosis, como se ve en los cuatro paneles (Fig. 29A-D).

Conclusión: Para concluir, el LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3227) es un potente antagonista contra cuatro miembros de la familia de let-7 representativos *in vitro* y, por tanto, probablemente contra toda la familia. Comparado con un antagonista de control positivo pentadecamérico, SEQ ID NO: 3226, el octámero es igual de potente para tres de las cuatro dianas, y ligeramente menos potente para la cuarta diana, let-7e, lo que se explica por un emparejamiento erróneo terminal en este caso.

Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de carcinoma hepatocelular Huh-7 fue un amable regalo de R. Bartinschlager (Dept. Virología Mol., Universidad de Heidelberg). Se cultivaron células Huh-7 en medio DMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

Transfección: Se sembraron 8000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 60-80 % al día siguiente. El día de la transfección, se transfectaron células Huh-7 en cada pocillo con 20 ng de plásmido de la 3'UTR de HMGA2/psiCHECK2, con miARN precursor de let-7a, 7d, 7e o 7i (Dharmacon; concentración final 10 nM) y con LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3227 y SEQ ID NO: 3226; concentraciones finales de 0-50 nM junto con 0,17 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

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

Ejemplo 30. Valoración del antagonismo de let-7 endógeno por la SEQ ID NO: 3227, un LNA-antimir octamérico, en células HeLa transfectadas con un ensayo de sensor de luciferasa.

Para determinar la eficacia de un oligonucleótido octamérico completamente modificado con LNA para dirigirse a y antagonizar let-7 endógeno, se cotransfectó el mismo constructo de sensor de luciferasa que se describió en los dos ejemplos anteriores con la SEQ ID NO: 3227 en la línea celular de cáncer de cuello uterino HeLa (que expresa niveles moderados a altos de let-7 según lo determinado por Q-PCR, datos no mostrados). El vector psiCHECK-2 vacío se incluyó como control negativo.

Resultados: Como se ve en la Figura 30, el LNA-antimiR octamérico de SEQ ID NO: 3227 completamente modificado con LNA muestra un potente antagonismo de let-7 endógeno, y proporciona una desrepresión total de la diana a concentraciones de 5-10 nM. La desrepresión de la actividad luciferasa es dependiente de la dosis, comenzando alrededor de 1 nM y alcanzando una meseta a aproximadamente 10 nM.

Conclusión: Para concluir, el LNA-antimiR octamérico (SEQ ID NO: 3227), es un potente antagonista también contra let-7 endógeno *in vitro* y, por tanto, proporciona pruebas definitivas de que familias enteras de miARN pueden dirigirse con éxito por antagonistas cortos y completamente modificados con LNA.

Materiales y procedimientos:

Línea celular: La línea celular de cáncer de cuello uterino HeLa se adquirió de ATCC (n.º CCL-2™). Las células HeLa se cultivaron en medio MEM de Eagle, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM, 1 × NEAA y 25 ug/ml de gentamicina.

Transfección: Se sembraron 8000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50-70 % al día siguiente. El día de la transfección, las células HeLa en cada pocillo se cotransfectaron con 20 ng de plásmido de la 3'UTR de HMGA2/psiCHECK2 o psiCHECK-2 (vector vacío), y con LNA-antimiR de SEQ ID NO: 3227 (0-50 nM, concentraciones finales) junto con 0,17 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

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

Ejemplo 31. Valoración del antagonismo de miR-21 por un LNA-antimiR-21 octamérico (n.º 3205) frente a un LNA de control octamérico de secuencia aleatoria (n.º 3219) en la línea celular de carcinoma de colon humano HCT116.

5 Se ha demostrado previamente en esta solicitud que un LNA-antimiR octamérico que está completamente modificado con LNA y fosforotiolado antagoniza eficazmente miR-21 en la línea celular de carcinoma de cuello uterino humano HeLa, la línea celular de carcinoma de mama humano MCF-7, la línea celular de cáncer de próstata humano PC3 y línea celular HepG2 de carcinoma hepatocelular humano. Se amplió este enfoque de cribado a la línea celular de carcinoma de colon humano HCT116. Para valorar la eficacia del oligonucleótido LNA-antimiR octamérico contra miR-21, se generaron constructos de indicadores de luciferasa en los que se clonó un sitio diana de emparejamiento perfecto para el miR-21 maduro en la 3'UTR del gen de la luciferasa de renilla. Para monitorizar la inhibición de miR-21, se transfectaron células HCT116 con los constructos de luciferasa junto con el antagonista de miR-21 n.º 3205 (octámero) y para la comparación de la especificidad con el control de secuencia aleatoria de LNA octamérico (n.º 3219). Después de 24 horas, se midió la actividad de la luciferasa.

15 **Resultados:** Los experimentos del indicador de luciferasa mostraron una desrepresión dependiente de la dosis de la actividad del indicador de luciferasa de miR-21 con el LNA-antimiR octamérico contra miR-21 (n.º 3205) y se obtuvo la desrepresión completa a 5 nM (Figura 31). Al comparar la especificidad del octámero de emparejamiento perfecto y el octámero de control de secuencia aleatoria, el LNA-antimiR de control de secuencia aleatoria (n.º 3219) no mostró ninguna desrepresión en absoluto, demostrando una alta especificidad del compuesto de LNA-antimiR contra miR-21.

20 **Conclusión:** El octámero (n.º 3205) es potente al dirigirse a miR-21 y el antagonismo de miR-21 por la n.º 3205 es específico.

25 **Materiales y procedimientos:**

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

30 Transfección: Se sembraron 110 000 células por pocillo en una placa de 12 pocillos y se realizó la transfección. Las células HCT116 se transfectaron con 0,3 µg de plásmido de sensor de luciferasa de miR-21 o vector PSICHECK2 vacío junto con 1,2 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también concentraciones variables de LNA-antimiR y oligonucleótidos de control. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

35 Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se añadieron 250 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) a los pocillos. Las placas se colocaron en un agitador durante 30 min, después de lo cual los lisados celulares se transfirieron a tubos Eppendorf. El lisado celular se centrifugó durante 10 min a 2500 rpm, después de 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).

Ejemplo 32. La desactivación génica de miR-21 por LNA-antimiR octamérico n.º 3205 reduce la formación de colonias de células PC3.

45 Un signo distintivo de la transformación celular es la capacidad de las células tumorales de crecer de una manera independiente del anclaje en un medio semisólido. Por lo tanto, se realizó un ensayo en agar blando que es un ensayo fenotípico que es pertinente para el cáncer, dado que mide la disminución de las células tumorales. Se transfectaron la n.º 3205 (LNA-antimiR-21 de emparejamiento perfecto) y la n.º 3219 (control de secuencia aleatoria de LNA) en células PC3, y después de 24 horas se sembraron células en agar blando. Las colonias se contaron después de 12 días. Se muestra en la Figura 32 que la inhibición de miR-21 por la n.º 3205 puede reducir la cantidad de colonias que crecen en agar blando en comparación con el LNA de control de secuencia aleatoria tratado o no tratado (transfectado, pero sin LNA), lo que demuestra la disminución de las células tumorales.

50 **Conclusión:** El octámero (n.º 3205) que se dirige a la familia de miR-21 reduce el número de colonias en agar blando, lo que demuestra la detención de la proliferación de las células PC3.

Materiales y procedimientos:

60 Línea celular: La línea celular PC3 de carcinoma de próstata humano se adquirió de ECACC (n.º 90112714). Las células PC3 se cultivaron en medio DMEM, complementado con suero bovino fetal al 10 %, Glutamax 2 mM y 25 ug/ml de gentamicina.

65 Transfección: Se sembraron 250 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50 al día siguiente. El día de la transfección, las células PC3 se transfectaron con 25 nM de diferentes oligonucleótidos de LNA con Lipofectamine2000.

Crecimiento clonogénico en agar blando: Se sembraron $2,5 \times 10^3$ células PC3 en agar al 0,35 % sobre la parte superior de una capa base que contenía agar al 0,5 %. Las células se sembraron 24 horas después de la transfección. Las placas se incubaron a 37 °C y 5 % de CO₂ en una incubadora humidificada durante 12 días y se tiñeron con 0,005 % de violeta cristal durante 1 h, después de lo cual se contaron las células. El ensayo se realizó por triplicado.

Ejemplo 33. El silenciamiento de miR-21 por el LNA-antimiR octamérico de n.º 3205 reduce la formación de colonias de células HepG2. El miR-21 está sobreexpresado en la línea celular de carcinoma hepatocelular humano HepG2 y se ha demostrado previamente que es posible regular la actividad de la luciferasa de un plásmido de sensor de miR-21 con la n.º 3205 en estas células. Las células HepG2 se transfectaron con la n.º 3205 y la n.º 3219 (octámero de secuencia aleatoria), y después de 24 horas se sembraron en agar blando. Las colonias se contaron después de 17 días con un microscopio.

Resultados: Se muestra en la Figura 33 que la inhibición de miR-21 por la n.º 3205 puede reducir la cantidad de colonias que crecen en agar blando, lo que muestra que se ha producido una detención de la proliferación. Además, el control octamérico de secuencia aleatoria, n.º 3219, no tenía un efecto significativo sobre el número de colonias. **Conclusión:** El octámero (n.º 3205) que se dirige a miR-21 reduce el número de colonias en agar blando, lo que indica la detención de la proliferación de las células HepG2.

Materiales y procedimientos:

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

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 µg de plásmido de sensor de luciferasa de miR-21 o vector PSICHECK2 vacío junto con 2,55 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también LNA-antimiR y oligonucleótidos de control a concentraciones variables. Después de 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

Crecimiento clonogénico en agar blando: Se sembraron $2,0 \times 10^3$ células HepG2 en agar al 0,35 % sobre la parte superior de una capa base que contenía agar al 0,5 %. Las células se sembraron 24 horas después de la transfección. Las placas se incubaron a 37 °C y 5 % de CO₂ en una incubadora humidificada durante 12 días y se tiñeron con 0,005 % de violeta cristal durante 1 h, después de lo cual se contaron las células. El ensayo se realizó por triplicado.

Ejemplo 34. El silenciamiento de miR-21 por LNA-antimiR octamérico n.º 3205 inhibe la migración celular en células PC3.

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 de células, y se capturan imágenes al principio y a intervalos regulares durante la migración celular. Al comparar las imágenes, se puede determinar la cuantificación de la tasa de migración de las células. Esto se hizo en la línea celular de cáncer de próstata humano PC3. Las células se sembraron y, el día 3, las células se transfectaron, y al día siguiente, cuando se alcanzó una confluencia de un 100 %, se realizó un raspado (= herida). Cuando se hizo el raspado, se tomaron fotografías para documentar la herida inicial. Posteriormente, el área del cierre de la herida se mide en diferentes puntos temporales con el programa de software libre Imagen J. Como se muestra en la Figura 34A, las células PC3 se trataron con n.º 3205 25 nM (emparejamiento perfecto, miR-21), el control n.º 3219 o se dejaron sin transfectar. Las imágenes se tomaron después de 24 horas, y se calculó el área para el cierre de la herida en el punto temporal respectivo. El cierre de la herida para las células no transfectadas y para el control, n.º 3219, fue más rápido en comparación con el LNA-antimiR contra miR-21, n.º 3205, lo que indica que la n.º 3205 inhibe el miR-21 y evita que las células migren (Figura 34B) .

Conclusión: El octámero (n.º 3205) que se dirige a miR-21 inhibe la migración celular de las células PC3 en comparación con las células no transfectadas y transfectadas de control.

Materiales y procedimientos:

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

Ensayo de raspado: Se sembraron 150 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos tres días antes de la transfección para recibir una confluencia de un 100 % al día siguiente. A las 24 horas después de la transfección, se realizó un raspado en la monocapa celular con una punta de 200 µl. Se tomaron imágenes a las 0 h y después de las 24 horas mediante el uso de una cámara digital acoplada a un microscopio. Se usó el programa de software Image J para determinar el cierre de la herida.

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

5 Se ha mostrado previamente una valoración de la longitud de miR-21 con respecto a LNA-antimiR completamente sustituidos con LNA, y se ha mostrado que los LNA-antimiR más potentes tienen una longitud de 7, 8 o 9 nt. El mismo experimento se repitió con miR-155. Se clonó un sitio diana de emparejamiento perfecto para miR-155 en la 3'UTR del gen de la luciferasa en el plásmido de indicador psiCHECK2 y se transfectó en la línea celular RAW de macrófagos de ratón junto con LNA-antimiR completamente sustituidos con LNA de diferentes longitudes. Debido a que los niveles endógenos de miR-155 son bajos en la línea celular RAW, las células se trataron con 100 ng/ml de LPS durante 10 24 horas para inducir la acumulación de miR-155. Después de 24 horas, se realizó el análisis de la luciferasa.

Resultados: Como se muestra en la Figura 35, los LNA-antimiR más potentes son la n.º 3207 (8 nt) y la n.º 3241 (9 nt), alcanzando casi un 80 % de desrepresión a solo 0,25 nM de concentración de LNA. El hexámero (n.º 3244) no muestra una desrepresión significativa. El aumento de la longitud desde dodecámero a tetradecámero (n.º 3242 y n.º 15 3243) disminuyó la potencia como se muestra por una desrepresión menos eficaz del indicador de miR-155.

Conclusión: Los LNA-antimiR completamente sustituidos con LNA más potentes que se dirigen a miR-155 eran un octámero y un nonámero (n.º 3207 y n.º 3241).

20 Materiales y procedimientos:

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

Transfección: Se sembraron 500 000 células por pocillo en una placa de 6 pocillos el día antes de la transfección para recibir una confluencia de un 50 % al día siguiente. El día de la transfección, las células RAW 264.7 se transfectaron con 0,3 µg de miR-155 de emparejamiento perfecto con /psiCHECK2 o vector psiCHECK2 vacío junto con 10 µl de Lipofectamine2000 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se transfectaron también 30 concentraciones variables de LNA-antimiR. Para inducir la acumulación de miR-155, se añadió LPS (100 ng/ml) a las células RAW después de incubación durante 4 horas con los complejos de transfección. Después de otras 24 horas, las células se recogieron para mediciones de la luciferasa.

Ensayo de luciferasa: Las células se lavaron con PBS y se recogieron con un raspador celular, después de lo cual las células se centrifugaron durante 5 min a 2500 rpm. El sobrenadante se desechó y se añadieron 50 µl de 1 × tampón de lisis pasiva (Promega) al sedimento celular, después de lo cual las células se pusieron en hielo durante 30 min. Las células lisadas se centrifugaron a 10 000 rpm durante 30 min, después de 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).

40 Ejemplo 36. Unión a proteínas plasmáticas para el octámero completamente sustituido con LNA de n.º 3205 que se dirige a miR-21 (LNA-antimiR-21).

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

Materiales y procedimientos: Se añadieron a plasma de ratón (100 µl) concentraciones de n.º 3205 marcado con FAM 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 de 30 000 MWCO). Los filtros se centrifugaron durante 20 minutos a 2000 g y a temperatura ambiente en una microcentrífuga. El filtrado se diluyó 5, 10 y 20 veces y se transfirieron muestras de 100 µl a una placa de microtitulación (poliestireno negro NUNC-237108). La fluorescencia se detectó usando un lector de ELISA FLUOstar Optima con excitación a 458 nm y emisión a 520 nm. La cantidad de n.º 3205 marcado con FAM no unido se calculó a partir de una curva patrón derivada de plasma filtrado 55 adicionado con n.º 3205 marcado con FAM a 12 concentraciones diferentes (0,45-1000 nM). Los números se corrigieron con el índice de recuperación establecido a partir de experimentos de filtración con concentraciones de la n.º 3205 de 0,167, 1,67, 5,01, 10,02, 16,7, 25,05 y 50,1 µM en plasma filtrado. La recuperación de n.º 3205 marcado con FAM fue de un 86 %.

60 Ejemplo 37. Estudio de autorradiografía de cuerpo entero cuantitativa en ratones hembra pigmentados después de administración intravenosa única de LNA-antimiR-21 de n.º 3205 marcado con ³⁵S.

65 Para determinar la biodistribución de un LNA-antimiR completamente modificado con LNA (n.º 3205, octámérico), se realizó una distribución tisular de cuerpo entero del compuesto marcado radiactivamente en ratones. Se dosificó n.º

3205 marcado con ³⁵S a ratones con una única administración intravenosa y los ratones fueron sacrificados en diferentes puntos temporales, que iban desde 5 min a 21 días.

5 **Tabla 6(i).** Concentraciones en los tejidos individuales (µg de n.º 3205/g de tejido) después de una única administración intravenosa de n.º 3205 marcado con ³⁵S en ratones hembra pigmentados. Las cifras son valores medios de tres mediciones para cada tejido y proporción. El coeficiente de variación (CV) generalmente es de aproximadamente un 10 %.

Tejido	Conc. máx. de oligo µg de n.º 3205/g de tejido	Tiempo de concentración máxima horas	T½ horas
Gl. 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 del 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
Ganglio linfático	5	0,083	262
	2,4	48	
Linfa	18,8	4	
	20,8	168	
Miocardio	8,1	0,083	662
Ovario	13	0,083	198
Páncreas	5	0,083	
Gl. pituitaria	6,7	0,083	
Gl. salivar	8,6	0,083	405
	5,5	168	
Músculo esquelético	4,8	0,083	
Pig. cutáneo	5,4	0,25	
Bazo	9,8	0,083	564
Timo	3,8	0,083	185
Gl. tiroidea	10,9	0,083	592
Orina	328,9	0,083	
Útero	9,6	0,25	177
Úvea ocular	13,6	0,083	
LOQ	0,045	0,083	
	0,033	24	
	0,03	168	

Tabla 6 (ii) Proporciones de tejido respecto a hígado después de la administración intravenosa única de n.º 3205 marcado con ³⁵S en ratones hembra pigmentados.

³⁵ S-n.º 3205									
N.º de animal	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Tiempo de supervivencia (h)	0,083	0,25	1 h	4 h	24 h	48 h	96 h	168	504
Órgano									
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 del 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
Ganglio linfático	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
Ovario	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
Glándula pituitaria	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 esquel.	0,73	0,81	0,38	0,25	0,25	0,42	0,23	0,85	0,24
Pigm. cutáneo	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 tiroidea	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 ocular	0,56	1,23	0,65	0,30	0,30	0,07	0,27	0,16	0,08

5 **Conclusiones** La n.º 3205 muestra un aclaramiento sanguíneo de la radiactividad con semividas de eliminación de 8-10 horas. Se registraron altos niveles de radiactividad en la corteza renal, la linfa, el hígado, la médula ósea, el bazo, el ovario y el útero. El nivel más alto de radiactividad se registró en la corteza renal y muestra niveles cinco veces superiores a los del hígado para la n.º 3205. Se observó una fuerte retención de radiactividad en la corteza renal, la linfa, el hígado, la médula ósea y el bazo para LNA-antimiR n.º 3205.

10

Materiales y procedimientos:

Administración de dosis: Se pesaron todos los ratones antes de la administración. Nueve ratones hembra recibieron 10 mg/kg de n.º 3205 marcado con ^{35}S por vía intravenosa en una vena de la cola. El volumen administrado a cada animal fue de 10 ml/kg de la formulación problema. La actividad específica es 75,7 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$. Los ratones individuales se sacrificaron 5 min, 15 min, 1 hora, 4 horas, 24 horas, 2 días, 4 días, 7 días y 21 días después de la administración de n.º 3205. Autorradiografía de cuerpo entero: Se anestesió a los ratones con sevoflurano, y luego se les sumergió inmediatamente en heptano y se les enfrió con hielo seco a $-80\text{ }^\circ\text{C}$, ABR-SOP-0130. Los cadáveres congelados se incluyeron en un gel de carboximetilcelulosa acuosa (CMC), se congelaron en etanol, se enfriaron con nieve carbónica ($-80\text{ }^\circ\text{C}$) y se seccionaron de forma sagital para autorradiografía de cuerpo entero de acuerdo con el procedimiento estándar, ABR-SOP-0131. De cada animal se cortaron secciones de $20\text{ }\mu\text{m}$ a diferentes niveles con un criomicrotomo (Leica CM 3600) a una temperatura de aproximadamente $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Las secciones obtenidas se recogieron en cinta (Minnesota Mining and Manufacturing Co., n.º 810) y se numeraron consecutivamente con tinta radiactiva. Después de liofilizar a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ durante aproximadamente 24 horas, las secciones seleccionadas se cubrieron con una capa fina de lámina de Mylar y se colocaron en placas de formación de imágenes (Fuji, Japón). La exposición se llevó a cabo en módulos herméticos a la luz en una caja protectora de plomo a $-20\text{ }^\circ\text{C}$, para proteger las placas de imagen de la radiación ambiental. Después de la exposición, las placas de imágenes se escanearon a un tamaño de píxel de $50\text{ }\mu\text{m}$ y se analizaron mediante radioluminografía usando un sistema de análisis de bioimagen (Bas 2500, Fuji, Japón), y descrito en ABR-SOP-0214. Se mezcló una solución problema de radioactividad estándar hidrosoluble con sangre completa y se usó para la producción de una escala de calibración, ABR-SOP-0251. Sin embargo, los diferentes patrones de sangre se disolvieron en 500 μl de Soluene-35. Luego se añadieron 4,5 ml de Ultima Gold a las muestras disueltas. Como ^{35}S y ^{14}C tienen espectros de energía muy similares, se usó un programa de ^{14}C estándar (Packard 2200CA) cuando se estableció la radiactividad para las diferentes muestras de sangre.

Cálculos farmacocinéticos: La radioactividad de ^{35}S medida en sangre completa y tejidos se expresó como nCi/g de tejido y se volvió a calcular en nmol de equiv/g de tejido para la evaluación farmacocinética. Los parámetros farmacocinéticos $C_{\text{máx}}$, $t_{1/2}$ y AUC se determinaron para la sangre completa y los tejidos mediante análisis no compartimental utilizando WinNonlin Professional (Pharsight Corporation, Mountain View, CA, EE. UU.). Después de la administración intravenosa, la concentración se extrapoló de vuelta a cero y se expresó como (C_0). La constante de tasa de eliminación λ se estimó por análisis de regresión lineal de la pendiente terminal de la curva logarítmica de concentración plasmática-tiempo. La semivida de eliminación, $t_{1/2}$, se calculó usando la ecuación, $t_{1/2} = \ln 2/\lambda$. Los tres últimos puntos temporales superiores al LOQ se usaron en los cálculos de la semivida de eliminación, si no se señala lo contrario.

Ejemplo 38. Valoración de la inhibición de let-7 *in vivo* por un LNA-antimiR octamérico, según se determina a través de la cuantificación de proteína Ras en pulmón y riñón de ratón.

Para investigar la posibilidad de antagonizar la familia de let-7 expresada abundantemente *in vivo*, a los ratones se les inyectó por vía intravenosa (iv) un antagonista de LNA-antimiR octamérico o solución salina. Para medir el efecto del tratamiento, se aislaron proteínas de los pulmones y los riñones. Debido a que Johnson et al. (Cell, 2005) mostró previamente que la familia de las proteínas Ras (N-Ras, K-Ras y H-Ras), en particular N-Ras y K-Ras, está regulada (reprimida) por la familia de let-7, el objetivo era analizar si estas dianas de let-7 podrían desreprimirse *in vivo*.

Resultados: Como se ve en la Figura 37, el LNA-antimiR octamérico desreprimía potentemente los niveles de proteína Ras en los riñones de los ratones tratados, normalizados frente a los controles de solución salina. La regulación positiva en este órgano era de más de 3 veces, mostrando un claro efecto *in vivo*. En los pulmones, sin embargo, solo se observó una desrepresión mínima de Ras (1,2 veces) (Fig. 1B), lo que sugiere que han entrado cantidades insuficientes de LNA-antimiR en este órgano para inhibir sus cantidades masivas de let-7, como se describe previamente por Johnson et al. (Cancer Research, 2007).

Conclusión: El LNA-antimiR octamérico muestra un claro efecto en la regulación del miARN de let-7 diana *in vivo*, según se evaluó basándose en los niveles de proteína Ras en ratones tratados frente a controles. Mientras que el efecto parece ser menor en los pulmones, los niveles de Ras en el riñón muestran una regulación positiva sustancial después del tratamiento con antimiR.

Materiales y procedimientos: Animales y dosificación: Se trataron ratones C57BL/6 hembra con 10 mg/kg de LNA-antimiR o solución salina durante tres días consecutivos (0, 1 y 2) y se sacrificaron el día 4. Las muestras tisulares de los pulmones y los riñones se congelaron rápidamente y se almacenaron a $-80\text{ }^\circ\text{C}$ hasta su procesamiento posterior.

Análisis de transferencia Western: Las proteínas de pulmón y riñón de ratones tratados con solución salina y LNA-antimiR se separaron en NuPAGE Bis Tris al 4-12 % (Invitrogen), usando 100 μg por muestra. Las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa usando iBlot (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El bloqueo, dilución y detección de anticuerpos se realizaron de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Para la detección de Ras, se usó un anticuerpo primario anti-Ras de conejo (SC-3339, Santa Cruz Biotechnology) y un anticuerpo secundario porcino contra inmunoglobulinas de conejo conjugado con HRP (P0399, Dako), y para la detección de tubulina, una tubulina alfa primaria (MS-581-P1, Neomarkers) y un anticuerpo secundario caprino contra inmunoglobulinas de ratón conjugado con HRP (P0447, Dako).

Ejemplo 40. Valoración de la eficacia *in vivo* del LNA-antimiR octamérico (n.º 3205) al dirigirse a miR-21, según se determina por la regulación positiva de la proteína Pcd4 en riñón de ratón.

5 Se ha demostrado que un LNA-antimiR octamérico que está completamente modificado con LNA antagoniza miR-21 y tiene la capacidad de regular los niveles de proteína de la diana de miR-21 Pcd4 *in vitro*. Por lo tanto, se inyectó el LNA-antimiR en ratones para determinar los efectos del LNA-antimiR *in vivo*. Los ratones recibieron 25 mg/kg de n.º 3205 por inyección i.v. cada dos días durante 14 días (un total de 5 dosis). Se sacrificó a los ratones el día 14, se extrajo el riñón y se aisló la proteína. Para determinar la regulación de la diana, se realizó un análisis de transferencia Western.

10 **Resultados:** Como se muestra en la Figura 38, el tratamiento de ratones con n.º 3205 mostró niveles de proteína Pcd4 significativamente aumentados en comparación con el control de solución salina. Si bien la proporción normalizada de Pcd4 frente a Gapdh era constante en ambas muestras de solución salina, la regulación positiva de la proteína en los dos ratones tratados con LNA-antimiR (n.º 3205) se midió a 3,3 y 6,3 veces, respectivamente, demostrando un efecto farmacológico *in vivo* del LNA-antimiR octamérico de n.º 3205.

15 **Conclusión:** El LNA-antimiR n.º 3205 octamérico completamente modificado con LNA antagoniza miR-21 *in vivo*, como se demuestra por su capacidad de desreprimir (regular positivamente) los niveles en riñón de ratón de Pcd4, una diana de miR-21 validada.

20 **Materiales y procedimientos:**

Animales y dosificación: Se usaron ratones C57BL/6 hembra con un promedio de 20 g de peso corporal en la primera dosificación en todos los experimentos y recibieron dieta de pienso regular (Altromin n.º 1324, Brogaarden, Gentofte, Dinamarca). Las sustancias se formularon en solución salina fisiológica (NaCl al 0,9 %). Se administró a los animales LNA-antimiR o solución salina (NaCl al 0,9 %), recibiendo una inyección de 25 mg/kg cada dos días durante 14 días, un total de 5 dosis. Los animales fueron sacrificados el día 14.

30 Análisis de transferencia Western: Se separaron 80 µg de tejido renal de ratones tratados con solución salina o LNA en NuPAGE Bis Tris al 4-12 % (Invitrogen). Las proteínas se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa usando iBlot (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La membrana se incubó con anticuerpo contra Pcd4 (Bethyl Laboratories), seguido de anticuerpo porcino contra inmunoglobulinas de conejo conjugado con HRP (Dako). Como control de igual carga, se usó GAPDH (Abcam), seguido de anticuerpo porcino contra inmunoglobulinas de ratón conjugado con HRP. Las membranas se visualizaron por quimioluminiscencia (ECL, Amersham).

35

microARN	Secuencia de microARN	SEQ ID NO	Nonúmero	SEQ ID NO	Octámero	SEQ ID NO	Heptámero	SEQ ID NO
ebv-miR-BART1-3p	UAGCACCGCUAUCCACUAUGUC	40	AGCGGTGCT	977	GCGGTGCT	1914	CGGTGCT	2851
ebv-miR-BART1-5p	UCUAGUGGAAGUGACGUGCUGUG	41	TCCACTAAG	978	CCACTAAG	1915	CACTAAG	2852
ebv-miR-BART10	UACAUAACCAUGGAGUUGCUGU	42	TGGTTATGT	979	GTTATGT	1916	GTTATGT	2853
ebv-miR-BART10*	GCCACCUCUUGGUUCUGUACA	43	AAGAGGTGG	980	AGAGGTGG	1917	GAGGTGG	2854
ebv-miR-BART11-3p	ACGCACACCAGGUGACUGCC	44	TGGTGTGCG	981	GGTGTGCG	1918	GTGTGCG	2855
ebv-miR-BART11-5p	UCAGACAGUUUGGUGCGCUAGUUG	45	AACTGTCTG	982	ACTGTCTG	1919	CTGTCTG	2856
ebv-miR-BART12	UCCUGUGUGUUUGGUGUGUU	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	UAAAUUGCUCAGUAGUAGGGAU	49	GCAGCATTT	986	CAGCATTT	1923	AGCATTT	2860
ebv-miR-BART14*	UACCCUACGCUGCCGAUUUACA	50	GCGTAGGGT	987	CGTAGGGT	1924	GTAGGGT	2861
ebv-miR-BART15	GUCAGUGUUUUUGUUUCUUGA	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	CGTCTCTT	991	GCTCTCTT	1928	CTCTCTT	2865
ebv-miR-BART18-3p	UAUCGGGAAGUUUGGCUUCGUC	55	ACTTCCGAT	992	CTTCCGAT	1929	TCCGAT	2866
ebv-miR-BART18-5p	UCAAGUUCGCACUUCUAUACA	56	GCGAACTTG	993	CGAACTTG	1930	GAACTTG	2867
ebv-miR-BART19-3p	UUUUGUUUGCUUGGGAUUGCU	57	GCAAACAAA	994	CAAACAAA	1931	AAACAAA	2868
ebv-miR-BART19-5p	ACAUUCCCCGCAACAUUGACAUG	58	CGGGGAATG	995	GGGGGAATG	1932	GGGGAATG	2869
ebv-miR-BART2-3p	AAGGAGCGAUUUGGAGAAAUAUA	59	ATCGTCCT	996	TCGTCCT	1933	CGTCCT	2870
ebv-miR-BART2-5p	UAUUUCUGCAUUCGCCUUGC	60	GCAGAAAAT	997	CAGAAAAT	1934	AGAAAAT	2871
ebv-miR-BART20-3p	CAUGAAGGCACAGCCUGUUAACC	61	TGCCCTCAT	998	GCCTCAT	1935	CCTCAT	2872
ebv-miR-BART20-5p	UAGCAGGAUGUCUUAUUC	62	ATGCCGTGCT	999	TGCCGTGCT	1936	GCCTGCT	2873
ebv-miR-BART3	CGCACCAUAGUCACCAGGUGU	63	TAGTGGTGC	1000	AGTGGTGC	1937	GTGGTGC	2874
ebv-miR-BART3*	ACCUAGUGUAGUGUUGUGCU	64	AACACTAGG	1001	ACACTAGG	1938	CACTAGG	2875
ebv-miR-BART4	GACCUAGUCUGCUGGUGUGCU	65	GCATCAGGT	1002	CATCAGGT	1939	ATCAGGT	2876
ebv-miR-BART5	CAAGGUGAAUAUAGCUGCCAUUCG	66	ATTCACCTT	1003	TTCACCTT	1940	TCACCTT	2877
ebv-miR-BART6-3p	CGGGGAUCGGACUAGCCUAGA	67	CCGATCCCC	1004	CGATCCCC	1941	GATCCCC	2878
ebv-miR-BART6-5p	UAAGGUUGGUCAAUCCAUAAGG	68	ACCAACCTT	1005	CCAACCTT	1942	CAACCTT	2879
ebv-miR-BART7	CAUCAUAGUCCAGUCCAGGG	69	GACTATGAT	1006	ACTATGAT	1943	CTATGAT	2880
ebv-miR-BART7*	CCUGGACCUUGACUAUGAACA	70	AAGGTCCAG	1007	AGGTCCAG	1944	GTCCAG	2881
ebv-miR-BART8	UACGGUUUCUAGAUAUGACAG	71	GGAACCGT	1008	GAAACCGT	1945	AAACCGT	2882
ebv-miR-BART8*	GUCACAAUCUAGGGUCGUAGA	72	AGATTGTGA	1009	GATTGTGA	1946	ATTGTGA	2883
ebv-miR-BART9	UAACACUUAUGGGUCCCGUAGU	73	TGAAGTGT	1010	GAAAGTGT	1947	AAGTGT	2884
ebv-miR-BART9*	UACUGGACCCUGAAUUGGAAAC	74	GGTCCAGT	1011	GGTCCAGT	1948	GTCAGT	2885
ebv-miR-BHRF1-1	UAACUGAUCAGCCCGGAGUU	75	GATCAGGTT	1012	ATCAGGTT	1949	TCAGGTT	2886
ebv-miR-BHRF1-2	UAUCUUUUGCGGAGAAUUGA	76	GCAAAGAT	1013	CAAAGAT	1950	AAAGAT	2887
ebv-miR-BHRF1-2*	AAAUUCUGUUGCAGCAGAUAGC	77	AACAGAATT	1014	ACAGAATT	1951	CAGAATT	2888
ebv-miR-BHRF1-3	UAACGGGAAGUGUGUAAGCACA	78	CTTCCGTT	1015	TCCCGTT	1952	TCCCGTT	2889
hcmv-miR-UL112	AAGUGACGGUGAGAUCCAGGCU	79	ACCGTCACT	1016	CCGTCACT	1953	CGTCACT	2890
hcmv-miR-UL148D	UCGUCCUCCCUUCUUCACCG	80	GGGAGGACG	1017	GAGGAGC	1954	GAGGACG	2891
hcmv-miR-UL22A	UAACUAGCCUCCCGUGAGA	81	AGGCTAGTT	1018	GGCTAGTT	1955	GCTAGTT	2892
hcmv-miR-UL22A*	UCACCAGAAUGCUAGUUUGUAG	82	ATTCTGGTG	1019	TCTGGTG	1956	TCTGGTG	2893
hcmv-miR-UL36	UCGUUGAAGACACCGGAAAGA	83	TCTCAACG	1020	CTTCAACG	1957	TCAACG	2894
hcmv-miR-UL36*	UUCCAGGUGUUUUAACGUGC	84	CACCTGGAA	1021	ACCTGGAA	1958	CTGGAA	2895
hcmv-miR-UL70-3p	GGGGAUGGGCUGGGCGCGG	85	GCCATCCC	1022	CCATCCC	1959	CCTCCC	2896
hcmv-miR-UL70-5p	UGCGUCUCGGCCUCGUCCAGA	86	CCGAGACGC	1023	CGAGACGC	1960	GAGACGC	2897
hcmv-miR-US25-1	AACCGCUCAGUGGUCGACCG	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	UCACGGUCCGAGCACAUGCA	91	CGGACCGTG	1028	GGACCGTG	1965	GACCGTG	2902
hcmv-miR-US33-5p	GAUUGUGCCCGACCGUGGGCG	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	UUUAGUAGGUGUGACGAUGUC	95	CCTATCATA	1032	CTATCATA	1969	TATCATA	2906
hsa-let-7a	UGAGGUAGUAGGUUUAUAGUU	96	TACTACCTC	1033	ACTACCTC	1970	CTACCTC	2907
hsa-let-7a*	CUAUACAUCUACUGUCUUUC	97	GATTGTATA	1034	ATTGTATA	1971	TTGTATA	2908
hsa-let-7b	UGAGGUAGUAGGUUUGUGUUU	98	TACTACCTC	1035	ACTACCTC	1972	CTACCTC	2909
hsa-let-7b*	CUAUACAACCUACUGCCUCCC	99	GGTTGTATA	1036	GTTGTATA	1973	TTGTATA	2910
hsa-let-7c	UGAGGUAGUAGGUUUAUGUU	100	TACTACCTC	1037	ACTACCTC	1974	CTACCTC	2911
hsa-let-7c*	UAGAGUUACACCCUGGGAGUUA	101	TGTAACCTC	1038	GTAACCTC	1975	TAACCTC	2912
hsa-let-7d	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	102	TACTACCTC	1039	ACTACCTC	1976	CTACCTC	2913
hsa-let-7d*	CUAUACGACCGUCUGCCUUUCU	103	GGTCGTATA	1040	GTCGTATA	1977	TCGTATA	2914
hsa-let-7e	UGAGGUAGGAGGUUUAUAGUU	104	TCCTACCTC	1041	CCTACCTC	1978	CTACCTC	2915
hsa-let-7e*	CUAUACGCGCCUCCUAGCUUCC	105	GGCCGTATA	1042	GCCGTATA	1979	CCGTATA	2916
hsa-let-7f	UGAGGUAGUAGUUGUUAUAGUU	106	TACTACCTC	1043	ACTACCTC	1980	CTACCTC	2917
hsa-let-7f-1*	CUAUACAUCUUAUUGCCUCCC	107	GATTGTATA	1044	ATTGTATA	1981	TTGTATA	2918
hsa-let-7f-2*	CUAUACAGUCUACUGUCUUUC	108	GACTGTATA	1045	ACTGTATA	1982	CTGTATA	2919
hsa-let-7g	UGAGGUAGUAGUUUUAUAGUU	109	TACTACCTC	1046	ACTACCTC	1983	CTACCTC	2920
hsa-let-7g*	CUGUACAGGCCACUGCCUUGC	110	GCCTGTACA	1047	CCTGTACA	1984	CTGTACA	2921
hsa-let-7i	UGAGGUAGUAGUUUGUCUGUU	111	TACTACCTC	1048	ACTACCTC	1985	CTACCTC	2922
hsa-let-7i*	CUGCGCAAGCUACUGCCUUGCU	112	GCTTGCGCA	1049	CTTGCGCA	1986	TTGCGCA	2923
hsa-miR-1	UGGAAUGUAAAGAAUGUUAU	113	TTACATTCC	1050	TACATTCC	1987	ACATTCC	2924
hsa-miR-100	AACCCGUAGAUCGAAUCUUGUG	114	TCTACGGGT	1051	CTACGGGT	1988	TACGGGT	2925
hsa-miR-100*	CAAGCUUGUAUCUAUAGGUUAG	115	TACAAGCTT	1052	ACAAGCTT	1989	CAAGCTT	2926
hsa-miR-101	UACAGUACUGUGUAUACUGAA	116	CAGTACTGT	1053	AGTACTGT	1990	GTACTGT	2927
hsa-miR-101*	CAGUUAUCACAGUCUGAUGCU	117	GTGATAACT	1054	TGATAACT	1991	GATAACT	2928
hsa-miR-103	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA	118	CAATGCTGC	1055	AATGCTGC	1992	ATGCTGC	2929
hsa-miR-103-as	UCAUAGCCUGUACAAUGUCUGU	119	AGGGCTATG	1056	GGGCTATG	1993	GGCTATG	2930
hsa-miR-105	UCAAAUGUCUACAGACUCCUGUGU	120	GAGCATTTG	1057	AGCATTTG	1994	GCATTTG	2931
hsa-miR-105*	ACGGAUGUUUGAGCAUGUGCUA	121	AAACATCCG	1058	AACATCCG	1995	ACATCCG	2932
hsa-miR-106a	AAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	122	AAGCACTTT	1059	AGCACTTT	1996	GCACCTTT	2933
hsa-miR-106a*	CUGCAAUGUAAGCACUUCUUAC	123	TACATTGCA	1060	ACATTGCA	1997	CATTGCA	2934
hsa-miR-106b	UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU	124	CAGCACTTT	1061	AGCACTTT	1998	GCACCTTT	2935
hsa-miR-106b*	CCGCACUGUGGUUACUUGCUGC	125	CACAGTGCG	1062	ACAGTGCG	1999	CAGTGCG	2936
hsa-miR-107	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA	126	CAATGCTGC	1063	AATGCTGC	2000	ATGCTGC	2937
hsa-miR-10a	UACCCUGUAGAUCCGAAUUUGUG	127	CTACAGGGT	1064	TACAGGGT	2001	ACAGGGT	2938
hsa-miR-10a*	CAAUUCUGUAUCUAGGGGAUA	128	TACGAATTT	1065	ACGAATTT	2002	CGAATTT	2939
hsa-miR-10b	UACCCUGUAGAACCGAAUUUGUG	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	AAGCAUUCUUCAUUGGUUGG	132	AAGAATGCT	1069	AGAATGCT	2006	GAATGCT	2943
hsa-miR-1180	UUCCGGCUCGCGUGGGUGUGU	133	GAGCCGGAA	1070	AGCCGGAA	2007	GCCGGAA	2944
hsa-miR-1181	CCGUCGCCGCCACCCGAGCCG	134	GCGCGACG	1071	CGCGACG	2008	GCGACG	2945
hsa-miR-1182	GAGGGUCUUGGGAGGGAUGUGAC	135	CAAGACCCT	1072	AAGACCCT	2009	AGACCCT	2946
hsa-miR-1183	CACUGUAGGUGAUGGUGAGUGGGCA	136	ACCTACAGT	1073	CCTACAGT	2010	CTACAGT	2947
hsa-miR-1184	CCUGCAGCGACUUGAUGGCUUCC	137	TCGCTGCAG	1074	CGCTGCAG	2011	GCTGCAG	2948
hsa-miR-1185	AGAGGAUACCCUUUGUAUGUU	138	GGTATCCTC	1075	GTATCCTC	2012	TATCCTC	2949
hsa-miR-1197	UAGGACACAUGGUCUACUUCU	139	ATGTGTCCT	1076	TGTGTCCT	2013	GTGTCCT	2950
hsa-miR-1200	CUCCUGAGCCAUUCUGAGCCUC	140	GGCTCAGGA	1077	GCTCAGGA	2014	CTCAGGA	2951
hsa-miR-1201	AGCCUGAUUAAACACAUUCUGA	141	TAATCAGGC	1078	AATCAGGC	2015	ATCAGGC	2952
hsa-miR-1202	GUGCCAGCUGCAGUGGGGGAG	142	CAGCTGGCA	1079	AGCTGGCA	2016	GCTGGCA	2953
hsa-miR-1203	CCCAGGACAGGAUGCAGCUC	143	TGGTCCGG	1080	GGTCCGG	2017	GCTCCGG	2954

hsa-miR-1204	UCGUGGCCUGGUCUCCAUAU	144	CAGGCCACG	1081	AGGCCACG	2018	GGCCACG	2955
hsa-miR-1205	UCUGCAGGGUUGCUUUGAG	145	ACCCTGCAG	1082	CCCTGCAG	2019	CCTGCAG	2956
hsa-miR-1206	UGUUCAUGAUGAUUUAAAGC	146	TACATGAAC	1083	ACATGAAC	2020	CATGAAC	2957
hsa-miR-1207-3p	UCAGCUGGCCUCUAUUUC	147	GGCCAGCTG	1084	GCCAGCTG	2021	CCAGCTG	2958
hsa-miR-1207-5p	UGGCAGGGAGGCUGGAGGGG	148	CTCCTGCC	1085	TCCCTGCC	2022	CCCTGCC	2959
hsa-miR-1208	UCACUGUUCAGACAGGCCGA	149	TGAACAGTG	1086	GAACAGTG	2023	AACAGTG	2960
hsa-miR-122	UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG	150	TCACACTCC	1087	CACACTCC	2024	ACACTCC	2961
hsa-miR-122*	AACGCCAUUAUCACACUAAAUA	151	TAATGGCGT	1088	AATGGCGT	2025	ATGGCGT	2962
hsa-miR-1224-3p	CCCCACCUCUCUCCUCAG	152	GGAGGTGGG	1089	GAGGTGGG	2026	AGGTGGG	2963
hsa-miR-1224-5p	GUGAGGACUCGGGAGGUGG	153	GAGTCTCA	1090	AGTCTCA	2027	GTCTCA	2964
hsa-miR-1225-3p	UGAGCCCUGUGCCGCCCCAG	154	CAGGGGCTC	1091	AGGGGCTC	2028	GGGGCTC	2965
hsa-miR-1225-5p	GUGGGUACGGCCAGUGGGGG	155	CGTACCCA	1092	CGTACCCA	2029	GTACCCA	2966
hsa-miR-1226	UCACCAGCCUGUGUCCUAG	156	GGGTGGTG	1093	GGTGGTG	2030	GCTGGTG	2967
hsa-miR-1226*	GUGAGGGCAUGCAGGCCUGGAGGGG	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*	GUGGGCGGGGCGAGGUGUGUG	160	CCCGCCCA	1097	CCCGCCA	2034	CCGCCCA	2971
hsa-miR-1229	CUCUCACCACUGCCUCCACAG	161	GTGGTGAGA	1098	TGGTGAGA	2035	GGTGAGA	2972
hsa-miR-1231	GUGUCUGGGCGACAGUCG	162	GCCAGACA	1099	CCCAGACA	2036	CCAGACA	2973
hsa-miR-1233	UGAGCCUGUCCUCCCGCAG	163	ACAGGGCTC	1100	CAGGGCTC	2037	AGGGCTC	2974
hsa-miR-1234	UCGGCCUGACCACCCACCCAC	164	GTCAGGCCG	1101	TCAGGCCG	2038	CAGGCCG	2975
hsa-miR-1236	CCCUUCCCCUUGUCUCUCCAG	165	GGGAAGAG	1102	GGGAAGAG	2039	GGAAGAG	2976
hsa-miR-1237	UCCUUCUGCUCGCCCCCAG	166	AGCAGAAGG	1103	GCAGAAGG	2040	CAGAAGG	2977
hsa-miR-1238	CUUCCUGCUCUGUCGCCCC	167	GACGAGGAA	1104	ACGAGGAA	2041	CGAGGAA	2978
hsa-miR-124	UAAGGCACGCGGUGAAUGCC	168	GCCTGCCTT	1105	CGTGCCTT	2042	GTGCCTT	2979
hsa-miR-124*	CGUGUUCACAGCGGACCUUGAU	169	TGTGAACAC	1106	GTGAACAC	2043	TGAACAC	2980
hsa-miR-1243	AACUGGAUCAUUUAUAGGAGUG	170	TGATCCAGT	1107	GATCCAGT	2044	ATCCAGT	2981
hsa-miR-1244	AAGUAGUUGGUUUGUAUGAUGGUU	171	CCAATACT	1108	CAATACT	2045	AAATACT	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	ACCCGUCCCUGUCGCCCGGA	174	CGGACGGG	1111	GGGACGGG	2048	GGACGGG	2985
hsa-miR-1248	ACCUUCUUGUAUAAGCACUGUCUAAA	175	ACAAGAAGG	1112	CAAGAAGG	2049	AAGAAGG	2986
hsa-miR-1249	ACGCCUUCSCCCCCUUCUUA	176	GGAAGGGCG	1113	GAAGGGCG	2050	AAGGGCG	2987
hsa-miR-1250	ACGGUGCUGGAUGUGGCCUUU	177	CCAGCACCG	1114	CAGCACCG	2051	AGCACCG	2988
hsa-miR-1251	ACUCUAGCUGCCAAAGCGCU	178	CAGTATAG	1115	AGCTATAG	2052	GCTATAG	2989
hsa-miR-1252	AGAAGGAAUUGAAUUAUUUA	179	ATTCCTTC	1116	TTCTCTTC	2053	TCTCTTC	2990
hsa-miR-1253	AGAGAAGAAGUACGCCUGCA	180	CTTCTTCTC	1117	TTCTTCTC	2054	TCTTCTC	2991
hsa-miR-1254	AGCCUGAAGCUGGAGCCUGCAGU	181	CTTCAGGC	1118	TTCCAGGC	2055	TCCAGGC	2992
hsa-miR-1255a	AGGAUGACCAAAGAAAGUAGAUU	182	TGCTCATCC	1119	GCTCATCC	2056	CTCATCC	2993
hsa-miR-1255b	CGGAUGAGCAAAGAAAGUGGUU	183	TGCTCATCC	1120	GCTCATCC	2057	CTCATCC	2994
hsa-miR-1256	AGGCAUUGACUUCACUAGCU	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	AUAUAUGAUGACUAGCUUUU	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*	ACGGUUAGGCUCUUGGGAGCU	191	CCTAACCCG	1128	CTAACCCG	2065	TAACCCG	3002
hsa-miR-125b-2*	UCACAAGUCAGGCUCUUGGGAC	192	TGACTTGTG	1129	GACTTGTG	2066	ACTTGTG	3003
hsa-miR-126	UCGUACCUGAGUAAUUAUGCG	193	CACGGTACG	1130	ACGGTACG	2067	CGGTACG	3004
hsa-miR-126*	CAUUAUACUUUUGGUACGCG	194	AGTAATAAT	1131	GTAATAAT	2068	TAATAAT	3005
hsa-miR-1260	AUCCACCUCUGCCACCA	195	GAGGTGGGA	1132	AGGTGGGA	2069	GGTGGGA	3006
hsa-miR-1261	AUGGAUAAGGCUUUUGGCUU	196	CCTTATCCA	1133	CTTATCCA	2070	TTATCCA	3007
hsa-miR-1262	AUGGGUGAAUUUGUAGAAGGAU	197	ATTACCCA	1134	TTCACCCA	2071	TCACCCA	3008
hsa-miR-1263	AUGGUACCCUGGCAUACUGAGU	198	AGGTACCA	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	CCUGUUGAAGUGUAAUCCCCA	202	CTTCAACAG	1139	TTC AACAG	2076	TCAACAG	3013
hsa-miR-1268	CGGGCUGGUGGUGGGG	203	ACCAGGCC	1140	CCAGGCC	2077	CAGGCC	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	CUGGAGAUUAUGGAAGAGCUGUGU	207	ATATCTCCA	1144	TATCTCCA	2081	ATCTCCA	3018
hsa-miR-1271	CUUGGCACCUAGCAAGCACUCA	208	AGGTGCCAA	1145	GGTGCCAA	2082	GTGCCAA	3019
hsa-miR-1272	GAUGAUGAUGGCAGAAAUCUGAAA	209	CATCATCAT	1146	ATCATCAT	2083	TCATCAT	3020
hsa-miR-1273	GGGCGACAAAGCAAGACUUUCUU	210	TTTGTGCGC	1147	TTGTGCGC	2084	TGTGCGC	3021
hsa-miR-1274a	GUCCUGUUCAGGGCCCA	211	GAACAGGGA	1148	AACAGGGA	2085	ACAGGGA	3022
hsa-miR-1274b	UCCUGUUCGGGCGCCA	212	CGAACAGGG	1149	GAACAGGG	2086	AACAGGG	3023
hsa-miR-1275	GUGGGGAGAGGCUGUC	213	TCTCCCCA	1150	CTCCCCA	2087	TCCCCA	3024
hsa-miR-1276	UAAAGAGCCUGUGGAGACA	214	GGGCTCTTT	1151	GGCTCTTT	2088	GCTCTTT	3025
hsa-miR-1277	UACGUAGAUUAUUAUGUAUUUU	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	UCACAGUAACCGGUCUCUUU	218	TTCAGTGTG	1155	TCAGTGTG	2092	CACTGTG	3029
hsa-miR-1280	UCCACCGCUGCCACCC	219	AGCGGTGGG	1156	GCGGTGGG	2093	CGGTGGG	3030
hsa-miR-1281	UCGCCUCCUCUCUCCC	220	GAGGAGGCG	1157	AGGAGGCG	2094	GGAGGCG	3031
hsa-miR-1282	UCGUUUGCCUUUUUCUGCUU	221	AGGCAAACG	1158	GGCAAACG	2095	GCAAACG	3032
hsa-miR-1283	UCUACAAAGGAAAGCGUUUCU	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	GTCTCTGC	3036
hsa-miR-1287	UGCUGGAUCAGUGGUUCGAGUC	226	TGATCCAGC	1163	GATCCAGC	2100	ATCCAGC	3037
hsa-miR-1288	UGGACUGCCUGAUCUGGAGA	227	GGGAGTCC	1164	GGCAGTCC	2101	GCAGTCC	3038
hsa-miR-1289	UGGAGUCCAGGAAUCUGCAUUU	228	CTGGACTCC	1165	TGGACTCC	2102	GGACTCC	3039
hsa-miR-129*	AAGCCCUUACCCCAAAAAGUAU	229	GTAAGGGCT	1166	TAAGGGCT	2103	AAGGGCT	3040
hsa-miR-129-3p	AAGCCCUUACCCCAAAAAGCAU	230	GTAAGGGCT	1167	TAAGGGCT	2104	AAGGGCT	3041
hsa-miR-129-5p	CUUUUUGCGGUCUGGGCUUGC	231	CCGCAAAA	1168	CGCAAAA	2105	GCAAAA	3042
hsa-miR-1290	UGGAUUUUUGGAUCAGGGA	232	CAAAAATCC	1169	AAAAATCC	2106	AAAATCC	3043
hsa-miR-1291	UGGCCUCGACUGAAGACCAGCAGU	233	GTCAGGGCC	1170	TCAGGGCC	2107	CAGGGCC	3044
hsa-miR-1292	UGGGAACGGGUCCGGCAGACGUG	234	CCCCTCCC	1171	CCCTCCC	2108	CGTCCC	3045
hsa-miR-1293	UGGUGGUCUGGAGAUUUGUGC	235	AGACCACC	1172	GACCACC	2109	ACCACC	3046
hsa-miR-1294	UGUGAGGUUGGCAUUGUGUCU	236	AACCTCAC	1173	AACCTCAC	2110	ACCTCAC	3047
hsa-miR-1295	UUAGGCCGAGAUUGGGUGA	237	TGGGCCTA	1174	GCGGCCTA	2111	GGCCTA	3048
hsa-miR-1296	UUAGGCCCCUGGCUCCAUCUCC	238	AGGGCCCTA	1175	GGGCCCTA	2112	GGCCTA	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	AATCCAGA	1178	ATTCCAGA	2115	TCCAGA	3052
hsa-miR-1300	UUGAGAAGGAGGCGUCUG	242	TCCTTCTCA	1179	CCTTCTCA	2116	CTTCTCA	3053
hsa-miR-1301	UUGCAGCUGCCUGGAGUGACUUC	243	GCAGTGCA	1180	CAGTGCA	2117	AGTGCA	3054
hsa-miR-1302	UUGGGACAUACUUAUGC UAAA	244	TATGTCCA	1181	ATGTCCA	2118	TGTCCA	3055
hsa-miR-1303	UUUAGAGACGGGUCUUGUCU	245	CGTCTTAA	1182	GTCTTAA	2119	TCTTAA	3056
hsa-miR-1304	UUUGAGGCUACAGUGAGAUGUG	246	TAGCTCAA	1183	AGCTCAA	2120	GCCTCAA	3057
hsa-miR-1305	UUUUCAACUCUAAUGGGAGAGA	247	GAGTTGAAA	1184	AGTTGAAA	2121	GTTGAAA	3058
hsa-miR-1306	ACGUUGGCUCUGGUGGUG	248	GAGCCAACG	1185	AGCCAACG	2122	GCCAACG	3059
hsa-miR-1307	ACUCGGCUGGGCUGCGGUCUGUG	249	CACGCCGAG	1186	ACGCCGAG	2123	CGCCGAG	3060
hsa-miR-1308	GCAUGGGUGGUUCAGUGG	250	CCACCCATG	1187	CACCCATG	2124	ACCCATG	3061
hsa-miR-130a	CAGUGCAAUGUAAAAGGGCAU	251	CATTGCCT	1188	ATTGCCT	2125	TGCCT	3062
hsa-miR-130a*	UUCACAUUGGCUACUGUCG	252	ACAATGTGA	1189	CAATGTGA	2126	AATGTGA	3063
hsa-miR-130b	CAGUGCAAUGAUGAAAGGGCAU	253	CATTGCCT	1190	ATTGCCT	2127	TGCCT	3064

hsa-miR-130b*	ACUCUUUCCUGUUGCACUAC	254	GGGAAAGAG	1191	GAAAGAG	2128	GAAAGAG	3065
hsa-miR-132	UACAGUCUACAGCCAUGGUCG	255	TAGACTGTT	1192	AGACTGTT	2129	GACTGTT	3066
hsa-miR-132*	ACCGUGGCUUUCGAUUGUUACU	256	AAGCCACGG	1193	AGCCACGG	2130	GCCACGG	3067
hsa-miR-1321	CAGGAGGUGAAUGUGAU	257	CACCTCCCT	1194	ACCTCCCT	2131	CCTCCCT	3068
hsa-miR-1322	GAUGAUGCUGCUGAUGCUG	258	CAGCATCAT	1195	AGCATCAT	2132	GCATCAT	3069
hsa-miR-1323	UCAAACUGAGGGGCAUUUUUCU	259	TCAGTTTGT	1196	CAGTTTGT	2133	AGTTTGT	3070
hsa-miR-1324	CCAGACAGAAUUCUAUGCACUUUC	260	TTCTGTCTG	1197	TCTGTCTG	2134	CTGTCTG	3071
hsa-miR-133a	UUUGGUCCCCUUAACCAGCUG	261	GGGACCAA	1198	GGGACCAA	2135	GGACCAA	3072
hsa-miR-133b	UUUGGUCCCCUUAACCAGCUA	262	GGGACCAA	1199	GGGACCAA	2136	GGACCAA	3073
hsa-miR-134	UGUGACUGGUUGACCAGAGGGG	263	ACCAGTCAC	1200	CCAGTCAC	2137	CAGTCAC	3074
hsa-miR-135a	UAUGGCUUUUUAUUCUUAUGUGA	264	AAAAGCCAT	1201	AAAGCCAT	2138	AAGCCAT	3075
hsa-miR-135a*	UAUAGGGAUUGGAGCCGUGGCG	265	AATCCCTAT	1202	ATCCCTAT	2139	TCCCTAT	3076
hsa-miR-135b	UAUGGCUUUUCAUUCUUAUGUGA	266	AAAAGCCAT	1203	AAAGCCAT	2140	AAGCCAT	3077
hsa-miR-135b*	AUGUAGGGCUAAAAGCCAUUGG	267	AGCCCTACA	1204	GCCCTACA	2141	CCCTACA	3078
hsa-miR-136	ACUCCAUUUGUUUGAUGAUGGA	268	CAAATGGAG	1205	AAATGGAG	2142	AATGGAG	3079
hsa-miR-136*	CAUCAUCGUCUCAAUGAGUCU	269	GACGATGAT	1206	ACGATGAT	2143	CGATGAT	3080
hsa-miR-137	UUUUGCUUAAGAAUACGCGUAG	270	TAAGCAATA	1207	AAGCAATA	2144	AGCAATA	3081
hsa-miR-138	AGCUGGUGUUGUAAUCAGGCCG	271	AACACCAGC	1208	ACACCAGC	2145	CACCAGC	3082
hsa-miR-138-1*	GCUACUUCACAAACACCAGGGCC	272	GTGAAGTAG	1209	TGAAGTAG	2146	GAAAGTAG	3083
hsa-miR-138-2*	GCUAUUUCACGACACCAGGGUU	273	GTGAAATAG	1210	TGAAATAG	2147	GAAATAG	3084
hsa-miR-139-3p	GGAGACGCGGCCUGUUGGAGU	274	CCGCGTCTC	1211	CGCGTCTC	2148	CGTCTC	3085
hsa-miR-139-5p	UCUACAGUCACGUGUCUCCAG	275	CACCTGTAG	1212	CACTGTAG	2149	ACTGTAG	3086
hsa-miR-140-3p	UACCACAGGGUAGAACCACGG	276	CCCTGTGGT	1213	CCTGTGGT	2150	CTGTGGT	3087
hsa-miR-140-5p	CAGUGGUUUUACCCUAGUGUAG	277	AAAACCACT	1214	AAACCACT	2151	AACCACT	3088
hsa-miR-141	UACACUGUCUGGUAAAAGAUUG	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	UACAGUAUAGAGUAGUACU	284	CTATACTGT	1221	TATACTGT	2158	ATACTGT	3095
hsa-miR-144*	GGAUAUCAUCAUAUCUGUAAG	285	GATGATATC	1222	ATGATATC	2159	TGATATC	3096
hsa-miR-145	GUCCAGUUUCCAGGAAUCCCU	286	AAAACGGGA	1223	AAACGGGA	2160	AACTGGA	3097
hsa-miR-145*	GGAUUCCUGGAAUACUGUUCU	287	CCAGGAATC	1224	CAGGAATC	2161	AGGAATC	3098
hsa-miR-146b	CUCCGUUUGCCUGUUUCGCG	288	GCAAACGGA	1225	CAAACGGA	2162	AAACGGA	3099
hsa-miR-1469	CUCGGCGCGGGCGCGGGUCC	289	CCGCGCCGA	1226	CGCGCCGA	2163	CGCGCCGA	3100
hsa-miR-146a	UGAGAUCUGAAUUCUAGGUGU	290	TCAGTTCTC	1227	CAGTTCTC	2164	AGTTCTC	3101
hsa-miR-146a*	CCUCUGAAUUCAGUUCUUCAG	291	ATTCAGAG	1228	TTCAGAG	2165	TTCAGAG	3102
hsa-miR-146b-3p	UGCCUGUGGACUCAGUUCUGG	292	CCACAGGGC	1229	CACAGGGC	2166	ACAGGGC	3103
hsa-miR-146b-5p	UGAGAUCUGAAUUCUAGGCU	293	TCAGTTCTC	1230	CAGTTCTC	2167	AGTTCTC	3104
hsa-miR-147	GUGUGUGGAAUGCUUCUGC	294	TTCCACACA	1231	TCCACACA	2168	CCACACA	3105
hsa-miR-1470	GCCUCCGCCGUGCACCCTCG	295	GGCGGAGGG	1232	GCGGAGGG	2169	CGGAGGG	3106
hsa-miR-1471	GCCCGGUGUGGAGCCAGGUGU	296	ACACGCGGG	1233	CACGCGGG	2170	ACGCGGG	3107
hsa-miR-147b	GUGUGCGGAAUUCUUCGCUA	297	TTCCGCACA	1234	TCCGCACA	2171	CCGCACA	3108
hsa-miR-148a	UCAGUGCACUACAGAACUUUGU	298	AGTGCCTGT	1235	GTGCCTGT	2172	TGCCTGT	3109
hsa-miR-148a*	AAAGUUCUGAGACACUCCGACU	299	TCAGAACTT	1236	CAGAACTT	2173	AGAACTT	3110
hsa-miR-148b	UCAGUGCACUACAGAACUUUGU	300	GATGCACTG	1237	ATGCACTG	2174	TGCACTG	3111
hsa-miR-148b*	AAGUUCUGUUAUACACUCAGGC	301	AACAGAACT	1238	ACAGAACT	2175	CAGAACT	3112
hsa-miR-149	UCUGGCUCCGUGUCUUCACUCC	302	CGGAGCCAG	1239	GGAGCCAG	2176	GAGCCAG	3113
hsa-miR-149*	AGGGAGGGACGGGGGUGUGC	303	GTCCCTCCC	1240	TCCCTCCC	2177	CCCTCCC	3114
hsa-miR-150	UCUCCAAACCUUGUACCAGUG	304	GGTTGGGAG	1241	GTTGGGAG	2178	TTGGGAG	3115
hsa-miR-150*	CUGGUACAGGCCUGGGGACAG	305	CCTGTACCA	1242	CTGTACCA	2179	TGTACCA	3116
hsa-miR-151-3p	CUAGACUGAAGCUUCUUGAGG	306	TTCAGTCTA	1243	TCAGTCTA	2180	CAGTCTA	3117
hsa-miR-151-5p	UCGAGGAGCUCACAGUCUAGU	307	AGCTCCTCG	1244	GCTCCTCG	2181	CTCCTCG	3118
hsa-miR-152	UCAGUGCAGACAGAACUUGG	308	CATGCACTG	1245	ATGCACTG	2182	TGCACTG	3119

hsa-miR-153	UUGCAUAGUCACAAAAGUGAUC	309	GACTATGCA	1246	ACTATGCA	2183	CTATGCA	3120
hsa-miR-1537	AAAACCGUCUAGUACAGUUUGU	310	AGACGGTTT	1247	GACGGTTT	2184	ACGGTTT	3121
hsa-miR-1538	CGGCCCGGGCUGCUGUUCU	311	GCCCGGGCC	1248	CCCGGGCC	2185	CCGGGCC	3122
hsa-miR-1539	UCCUGCGGUCGCCAGAUGCCC	312	ACGCGCAGG	1249	CGCGCAGG	2186	GCGCAGG	3123
hsa-miR-154	UAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCG	313	GGATAACCT	1250	GATAACCT	2187	ATAACCT	3124
hsa-miR-154*	AAUCAUACACGGUUGACCUUU	314	GTGTATGAT	1251	TGTATGAT	2188	GTATGAT	3125
hsa-miR-155	UUAAUGCUAAUCGUAUAGGGGU	315	TTAGCATT	1252	TAGCATT	2189	AGCATT	3126
hsa-miR-155*	CUCCUACAUUUAGCAUUUACA	316	TATGTAGGA	1253	ATGTAGGA	2190	TGTAGGA	3127
hsa-miR-15a	UAGCAGCACAUAAUGGUUUGUG	317	TGTGCTGCT	1254	GTGCTGCT	2191	TGCTGCT	3128
hsa-miR-15a*	CAGGCCAUUUUGUGUCUCCUCA	318	ATATGGCCT	1255	TATGGCCT	2192	ATGGCCT	3129
hsa-miR-15b	UAGCAGCACAUCAUGGUUUACA	319	TGTGCTGCT	1256	GTGCTGCT	2193	TGCTGCT	3130
hsa-miR-15b*	CGAAUCAUUUUUGCUGCUCUA	320	TAATGATTC	1257	AATGATTC	2194	ATGATTC	3131
hsa-miR-16	UAGCAGCACGUAUUUUUGGCG	321	CGTGCTGCT	1258	GTGCTGCT	2195	TGCTGCT	3132
hsa-miR-16-1*	CCAGUUAUACUGUGCUGCUGA	322	TTAATACTG	1259	TAATACTG	2196	AATACTG	3133
hsa-miR-16-2*	CCAAUUAUACUGUGCUGCUUA	323	GTAATATTG	1260	TAATATTG	2197	AATATTG	3134
hsa-miR-17	CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	324	AAGCACTTT	1261	AGCACTTT	2198	GCACTTT	3135
hsa-miR-17*	ACUGCAGUGAAGGCACUUGUAG	325	TCACTGCAG	1262	CACTGCAG	2199	ACTGCAG	3136
hsa-miR-181a	AACAUUAACCGUCGCGGUGAGU	326	GTTGAATGT	1263	TTGAATGT	2200	TGAATGT	3137
hsa-miR-181a*	ACCACGACCGUUGAUUGUACC	327	GGTCGATGG	1264	GTCGATGG	2201	TCGATGG	3138
hsa-miR-181a-2*	ACCACUGACCGUUGACUGUACC	328	GGTCAGTGG	1265	GTCAGTGG	2202	TCAGTGG	3139
hsa-miR-181b	AACAUUAUUGCUGUCGGUGGU	329	AATGAATGT	1266	ATGAATGT	2203	TGAATGT	3140
hsa-miR-181c	AACAUUAACCGUCGCGGUGAGU	330	GTTGAATGT	1267	TTGAATGT	2204	TGAATGT	3141
hsa-miR-181c*	AACCAUCGACCGUUGAGUGGAC	331	GTCGATGGT	1268	TCGATGGT	2205	CGATGGT	3142
hsa-miR-181d	AACAUUAUUGUUGCUGGGUGGU	332	AATGAATGT	1269	ATGAATGT	2206	TGAATGT	3143
hsa-miR-182	UUUGGCAAUGUAGAACUCACACU	333	CATTGCCAA	1270	ATTGCCAA	2207	TTGCCAA	3144
hsa-miR-182*	UGGUUCUAGACUUGCCAACUA	334	TCTAGAACC	1271	CTAGAACC	2208	TAGAACC	3145
hsa-miR-1825	UCCAGUGCCCUCCUCCUCC	335	GGGCACTGG	1272	GGCACTGG	2209	GCACTGG	3146
hsa-miR-1826	AUUGAUCAUAGCACAUUCGAACGAAU	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	TGCCAT	3149
hsa-miR-183*	GUGAAUACCGAAGGGCCAUAA	339	GGAATTTCA	1276	GTAATTTCA	2213	TAATTTCA	3150
hsa-miR-184	UGACGGGAGACUGAUUAGGGU	340	TCTCCGTCC	1277	CTCCGTCC	2214	TCCGTCC	3151
hsa-miR-185	UGGAGAGAAAGCAGUUCUGA	341	TTTCTCTCC	1278	TTCTCTCC	2215	TCTCTCC	3152
hsa-miR-185*	AGGGGCGGCUUCCUUGGUC	342	GCCAGCCCC	1279	CCAGCCCC	2216	CAGCCCC	3153
hsa-miR-186	CAAAGAAUUCUUUUUGGCU	343	GAATCTTT	1280	AATCTTT	2217	ATCTTT	3154
hsa-miR-186*	GCCCAAAGGUGAAUUUUUGGG	344	ACCTTTGGG	1281	CCTTTGGG	2218	CTTTGGG	3155
hsa-miR-187	UCGUGUCUUGUUGCAGCCGG	345	CAAGACACG	1282	AAGACACG	2219	AGACACG	3156
hsa-miR-187*	GGCUACAACACAGGCCCGGC	346	TGTTGTAGC	1283	GTTGTAGC	2220	TTGTAGC	3157
hsa-miR-188-3p	CUCCACAUGCAGGGUUUGCA	347	CATGTGGGA	1284	ATGTGGGA	2221	TGTGGGA	3158
hsa-miR-188-5p	CAUCCCUUGCAUGGGGAGGG	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	UGAUUGUUUGAUUAUUAGGU	353	AAACATATC	1290	AACATATC	2227	ACATATC	3164
hsa-miR-1908	CGGCGGGACGGCAUUGGUC	354	GTCCCGGCC	1291	TCCCGGCC	2228	CCCGGCC	3165
hsa-miR-1909	CGCAGGGCCGGGUGCUCACCG	355	GGCCCTGC	1292	GCCCTGC	2229	CCCTGC	3166
hsa-miR-1909*	UGAGUGCCGGUGCCUCCUG	356	CCGGCACTC	1293	CGGCACTC	2230	GGCACTC	3167
hsa-miR-190b	UGAUUGUUUGAUUAUUUGGUU	357	AAACATATC	1294	AACATATC	2231	ACATATC	3168
hsa-miR-191	CAACGGAAUCCAAAAGCAGCUG	358	GATTCCGTT	1295	ATTCCGTT	2232	TCCGTT	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	UGAGUACCGCAUGUCUGUUGGG	361	GCGTACTC	1298	CGTACTC	2235	GTACTC	3172
hsa-miR-1911*	CACCAGGCAUUGUGGUCUCC	362	ATGCCTGGT	1299	TGCCTGGT	2236	GCCTGGT	3173
hsa-miR-1912	UACCAGAGCAUGCAGUGUGAA	363	GCTCTGGGT	1300	CTCTGGGT	2237	TCTGGGT	3174

hsa-miR-1913	UCUGCCCCUCCGUCGUGCCA	364	AGGGGGCAG	1301	GGGGGCAG	2238	GGGGCAG	3175
hsa-miR-1914	CCCUGUGCCCGCCACUUCUG	365	GGGCACAGG	1302	GGCACAGG	2239	GCACAGG	3176
hsa-miR-1914*	GGAGGGGUCCCACUGGGAGG	366	GGACCCCTC	1303	GACCCCTC	2240	ACCCCTC	3177
hsa-miR-1915	CCCCAGGGCGACGCGGGGG	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	UGGGUCUUUGCGGGCAGAUGA	372	CAAAGACCC	1309	AAAGACCC	2246	AAGACCC	3183
hsa-miR-193b	AACUGGCCUCAAAUGCCGCU	373	AGGGCCAGT	1310	GGGCCAGT	2247	GGCCAGT	3184
hsa-miR-193b*	CGGGUUUUAGGGCGAGAUGA	374	CAAAACCCC	1311	AAAACCCC	2248	AAACCCC	3185
hsa-miR-194	UGUAAACAGCAACUCCAUGUGA	375	TGCTGTAC	1312	GCTGTAC	2249	CTGTAC	3186
hsa-miR-194*	CCAGUGGGCUGCUGUUAUCUG	376	GCCCACTG	1313	CCCACTG	2250	CCCACTG	3187
hsa-miR-195	UAGCAGCACAGAAUUAUUGGC	377	TGTGTGCT	1314	GTGTGCT	2251	TGTGTGCT	3188
hsa-miR-195*	CCAUAUUGGCUGUGUCUCC	378	CCAATATTG	1315	CAATATTG	2252	AATATTG	3189
hsa-miR-196a	UAGGUAGUUCAUGUUGUUGG	379	AAACTACCT	1316	AACTACCT	2253	ACTACCT	3190
hsa-miR-196a*	CGGCAACAAGAAACUGCCUGAG	380	CTTGTGCC	1317	TTGTGCC	2254	TGTGCC	3191
hsa-miR-196b	UAGGUAGUUCCUGUUGUUGG	381	AAACTACCT	1318	AACTACCT	2255	ACTACCT	3192
hsa-miR-197	UUCACCACCUUCCACCCAGC	382	AGGTGGTGA	1319	GGTGGTGA	2256	GTGGTGA	3193
hsa-miR-198	GGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUC	383	CCTCTGGAC	1320	CTCTGGAC	2257	TCTGGAC	3194
hsa-miR-199a-5p	CCCAGUGUUCAGACUACCUUUC	384	GAACACTGG	1321	AACACTGG	2258	ACACTGG	3195
hsa-miR-199b-3p	ACAGUAGUCUGCAUUGGUUA	385	AACTACTG	1322	GACTACTG	2259	ACTACTG	3196
hsa-miR-199b-5p	CCCAGUGUUUAGACUUCUUGUUC	386	AAACTACTG	1323	AACACTGG	2260	ACACTGG	3197
hsa-miR-19a	UGUGCAAUCUUAUGCAAAACUGA	387	GATTTGCAC	1324	ATTTGCAC	2261	TTTGCAC	3198
hsa-miR-19a*	AGUUUUGCAUAGUUGCACUACA	388	ATGCAAAAC	1325	TGCAAAAC	2262	GCAAAAC	3199
hsa-miR-19b	UGUGCAAUCCAUUGCAAAACUGA	389	GATTTGCAC	1326	ATTTGCAC	2263	TTTGCAC	3200
hsa-miR-19b-1*	AGUUUUGCAGGUUUUGCAUCCAGC	390	CTGCAAAAC	1327	TGCAAAAC	2264	GCAAAAC	3201
hsa-miR-19b-2*	AGUUUUGCAGGUUUUGCAUUUCA	391	CTGCAAAAC	1328	TGCAAAAC	2265	GCAAAAC	3202
hsa-miR-200a	UAACACUGUCUGUAACGAUGU	392	GACAGTGTT	1329	ACAGTGTT	2266	CAGTGTT	3203
hsa-miR-200a*	CAUCUUACCGGACAGUCUGGA	393	CGGTAAGAT	1330	GGTAAGAT	2267	GTAAGAT	3204
hsa-miR-200b	UAAUACUGCCUGUAUUGAUGA	394	GGCAGTATT	1331	GCAGTATT	2268	CAGTATT	3205
hsa-miR-200b*	CAUCUUACUGGGCAGCAUUGGA	395	CAGTAAGAT	1332	AGTAAGAT	2269	GTAAGAT	3206
hsa-miR-200c	UAAUACUGCCGGUAAUUGAUGGA	396	GGCAGTATT	1333	GCAGTATT	2270	CAGTATT	3207
hsa-miR-200c*	CGUCUUACCCAGCAGUGUUUGG	397	GGGTAAGAC	1334	GGTAAGAC	2271	GTAAGAC	3208
hsa-miR-202	AGAGGUUAUAGGGCAUUGGAA	398	CTATACCTC	1335	TATACCTC	2272	ATACCTC	3209
hsa-miR-202*	UUCCUAUGCAUAUACUUCUUUG	399	TGCATAGGA	1336	GCATAGGA	2273	CATAGGA	3210
hsa-miR-203	GUGAAAUGUUUAGGACCACUAG	400	AACATTTCA	1337	ACATTTCA	2274	CATTTCA	3211
hsa-miR-204	UUCCUUUGUCAUCCUUAUGCCU	401	ACAAAGGGA	1338	CAAAGGGA	2275	AAAGGGA	3212
hsa-miR-205	UCCUUAUCCACCGGAGUCUG	402	GAATGAAGG	1339	AATGAAGG	2276	ATGAAGG	3213
hsa-miR-206	UGGAAUGUAAGGAAGUGUGGG	403	TTACATTCC	1340	TACATTCC	2277	ACATTCC	3214
hsa-miR-208a	AUAAGACGAGCAAAAAGCUUGU	404	CTCGTCTTA	1341	TCGTCTTA	2278	CGTCTTA	3215
hsa-miR-208b	AUAAGACGAACAAAAGGUUGU	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	CAAAGUGCUAUAGUGCAGGUAG	408	GAGCACTTT	1345	AGCACTTT	2282	GCACTTT	3219
hsa-miR-20b*	ACUGUAGUAUGGGCACUUCAG	409	ATACTACAG	1346	TACTACAG	2283	ACTACAG	3220
hsa-miR-21	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	410	TGATAAGCT	1347	GATAAGCT	2284	ATAAGCT	3221
hsa-miR-21*	CAACACCAGUCGAUUGGGCUGU	411	ACTGGTGT	1348	CTGGTGT	2285	TGGTGT	3222
hsa-miR-210	CUGUGCGUGUGACCGGCGUGA	412	ACACGCACA	1349	CACGCACA	2286	ACGCACA	3223
hsa-miR-211	UUCCUUUGUCAUCCUUCGCCU	413	ACAAAGGGA	1350	CAAAGGGA	2287	AAAGGGA	3224
hsa-miR-212	UAAACAGUCUCCAGUCACGGCC	414	GAGACTGTT	1351	AGACTGTT	2288	GACTGTT	3225
hsa-miR-214	ACAGCAGGCACAGACAGGCAGU	415	TGCTGCTG	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	AAAUCUCUGCAGGCAAUUGUGA	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*	AUGGUUCCGUC AAGCACCAUGG	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	AGAAUUGUGGCUGACAUUCUGU	425	CCACAATTC	1362	CACAATTC	2299	ACAATTC	3236
hsa-miR-219-5p	UGAUUGUCCAACGCAAUUCU	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	AGCUACAUUGUCUGCGGGUUUC	432	CAATGTAGC	1369	AATGTAGC	2306	ATGTAGC	3243
hsa-miR-221*	ACCUGGCAUACAUGUAGAUAUU	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	UGUCAGUUUGUCAAUACCCCA	436	CAAATGAC	1373	AAATGAC	2310	AACTGAC	3247
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	AUCACAUUGCCAGGGAUUUUC	439	GCAATGTGA	1376	CAATGTGA	2313	AATGTGA	3250
hsa-miR-23a*	GGGUUCCUGGGAUUGGGAUUU	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	UUC AAGUAAUCCAGGAUAGGCU	448	ATTACTTGA	1385	TTACTTGA	2322	TACTTGA	3259
hsa-miR-26a-1*	CCUAUUCUUGGUUACUUGCAGC	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*	CCUGUUCUCAAUUCUUGGCUC	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	UUCACAGUGGCUAAGUUCGCG	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	AAGGAGCUCACAGUCUAUUGAG	458	TGAGCTCCT	1395	GAGCTCCT	2332	AGCTCCT	3269
hsa-miR-296-3p	GAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCC	459	CCCAACCCT	1396	CCAACCCT	2333	CAACCCT	3270
hsa-miR-296-5p	AGGGCCCCCUCAAUCCUGU	460	GGGGGCC	1397	GGGGGCC	2334	GGGGGCC	3271
hsa-miR-297	AUGUAUGUGUGCAUGUGCAUG	461	ACACATACA	1398	CACATACA	2335	ACATACA	3272
hsa-miR-298	AGCAGAAGCAGGGAGGUUCUCCA	462	TGCTTCTGC	1399	GCTTCTGC	2336	CTTCTGC	3273
hsa-miR-299-3p	UAUGUGGGAUGGUAACCGCUU	463	ATCCACAT	1400	TCCACAT	2337	CCCACAT	3274
hsa-miR-299-5p	UGGUUUACCGUCCACAUAUCAU	464	CGGTAACC	1401	GGTAACC	2338	GTAACC	3275
hsa-miR-299a	UAGCACCAUCUGAAUCCGGUUA	465	GATGGTGCT	1402	ATGGTGCT	2339	TGGTGCT	3276
hsa-miR-299a*	ACUGAUUUUUUUGGUGUUCAG	466	AGAAATCAG	1403	GAAATCAG	2340	AAATCAG	3277
hsa-miR-299b	UAGCACCAUUUGAAUUCAGUGUU	467	AATGGTGCT	1404	ATGGTGCT	2341	TGGTGCT	3278
hsa-miR-299b-1*	GCUGGUUUCAUAUGGUGGUUAGA	468	TGAAACCAG	1405	GAAACCAG	2342	AAACCAG	3279
hsa-miR-299b-2*	CUGGUUUCACAUUGGUGGUUAG	469	GTGAAACCA	1406	TGAAACCA	2343	GAAACCA	3280
hsa-miR-299c	UAGCACCAUUUGAAUUCGGUUA	470	AATGGTGCT	1407	ATGGTGCT	2344	TGGTGCT	3281
hsa-miR-299c*	UGACCGAUUUCUCCUGGUGUUC	471	AAATCGGTC	1408	AATCGGTC	2345	ATCGGTC	3282
hsa-miR-300	UAUACAAGGCAGACUCUCUCU	472	CCCTTGAT	1409	CCTTGAT	2346	CTTGAT	3283
hsa-miR-301a	CAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAGC	473	TATTGCACT	1410	ATTGCACT	2347	TGCACT	3284

hsa-miR-301b	CAGUGCAAUGAUUUGUCAAGC	474	CATTGCACT	1411	ATTGCACT	2348	TTGCACT	3285
hsa-miR-302a	UAAGUGCUUCCAUGUUUGGUGA	475	GAAGCACTT	1412	AAGCACTT	2349	AGCACTT	3286
hsa-miR-302a*	ACUUAACCGUGGAUGUACUUGCU	476	ACGTTTAAAG	1413	CGTTTAAAG	2350	GTTTAAAG	3287
hsa-miR-302b	UAAGUGCUUCCAUGUUUAGUAG	477	GAAGCACTT	1414	AAGCACTT	2351	AGCACTT	3288
hsa-miR-302b*	ACUUUAACAUGGAAGUCUUUC	478	ATGTTAAAG	1415	TGTTAAAG	2352	GTTAAAG	3289
hsa-miR-302c	UAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGG	479	GAAGCACTT	1416	AAGCACTT	2353	AGCACTT	3290
hsa-miR-302c*	UUUAACAUGGGGUACCGUCUG	480	CCATGTTAA	1417	CATGTTAA	2354	ATGTTAA	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*	CUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGC	486	CGACTGAAA	1423	GACTGAAA	2360	ACTGAAA	3297
hsa-miR-30b	UGUAAACAUCUACACUCAGCU	487	GATGTTTAC	1424	ATGTTTAC	2361	TGTTTAC	3298
hsa-miR-30b*	CUGGGAGGUGGAUGUUUACUUC	488	CACCTCCCA	1425	ACCTCCCA	2362	CCTCCCA	3299
hsa-miR-30c	UGUAAACAUCUACACUCAGC	489	GATGTTTAC	1426	ATGTTTAC	2363	TGTTTAC	3300
hsa-miR-30c-1*	CUGGGAGAGGGUUGUUUACUCC	490	CCTCTCCCA	1427	CTCTCCCA	2364	TCTCCCA	3301
hsa-miR-30c-2*	CUGGGAGAAGGCUGUUUACUCU	491	CTTCTCCCA	1428	TTCTCCCA	2365	TCTCCCA	3302
hsa-miR-30d	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG	492	GATGTTTAC	1429	ATGTTTAC	2366	TGTTTAC	3303
hsa-miR-30d*	CUUUCAGUCGGAUGUUUGCUGC	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*	UGCUAUGCCAACAUAUUGCCAU	497	TGGCATAGC	1434	GGCATAGC	2371	GCATAGC	3308
hsa-miR-32	UAUUGCACAUAUCUAAGUUGCA	498	ATGTGCAAT	1435	TGTGCAAT	2372	GTGCAAT	3309
hsa-miR-32*	CAUUUAGUGUGUGAUUUUU	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	AGGUGGUCUGGGCGUUCGC	505	CGGACCACC	1442	GGACCACC	2379	GACCACC	3316
hsa-miR-324-3p	ACUGCCCAGGUGCUGCG	506	CTGGGCAG	1443	TGGGCAG	2380	GGGCAG	3317
hsa-miR-324-5p	CGCAUCCCUAGGGCAUUGGUGU	507	AGGGGATGC	1444	GGGGATGC	2381	GGGATGC	3318
hsa-miR-325	CCUAGUAGGUGUCCAGUAAGUGU	508	ACCTACTAG	1445	CCTACTAG	2382	CTACTAG	3319
hsa-miR-326	CCUCUGGCCCUUCCUCCAG	509	GGCCAGAG	1446	GCCAGAG	2383	CCAGAG	3320
hsa-miR-328	CUGGCCUCUCUGCCUUCUGU	510	AGAGGGCCA	1447	GAGGGCCA	2384	AGGGCCA	3321
hsa-miR-329	AACACACCUGGUUAACCUCUUU	511	CAGGTGTGT	1448	AGGTGTGT	2385	GGTGTGT	3322
hsa-miR-330-3p	GCAAAGCACAGGCCUGCAGAGA	512	TGTGCTTTG	1449	GTGCTTTG	2386	TGCTTTG	3323
hsa-miR-330-5p	UCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGC	513	GGCCAGAG	1450	GCCAGAG	2387	CCAGAG	3324
hsa-miR-331-3p	GCCCCUGGGCUUAUCCUAGAA	514	GCCAGGGG	1451	CCCAGGGG	2388	CCAGGGG	3325
hsa-miR-331-5p	CUAGGUUAGGUCCAGGGAUCC	515	CCATACCTA	1452	CATACCTA	2389	ATACCTA	3326
hsa-miR-335	UCAAGAGCAAUAACGAAAAUUGU	516	TTGCTCTTG	1453	TGCTCTTG	2390	GCTCTTG	3327
hsa-miR-335*	UUUUUCAUUUUGUCUCCUGACC	517	TAATGAAAA	1454	AATGAAAA	2391	ATGAAAA	3328
hsa-miR-337-3p	CUCCUAUAUGAUGCCUUUCUUC	518	CATATAGGA	1455	ATATAGGA	2392	TATAGGA	3329
hsa-miR-337-5p	GAACGGCUUCAUACAGGAGUU	519	GAAGCCGTT	1456	AAGCCGTT	2393	AGCCGTT	3330
hsa-miR-338-3p	UCCAGCAUCAGUGUUUUGUUG	520	TGATGCTGG	1457	GATGCTGG	2394	ATGCTGG	3331
hsa-miR-338-5p	AACAUAUCCUGGUGCUGAGUG	521	GGATATTGT	1458	GATATTGT	2395	ATATTGT	3332
hsa-miR-339-3p	UGAGCGCCUCGACGACAGGCCG	522	GAGCGCTC	1459	AGCGCTC	2396	GGCGCTC	3333
hsa-miR-339-5p	UCCUGUCCUCAGGAGCUCACG	523	AGGACAGGG	1460	GGACAGGG	2397	GACAGGG	3334
hsa-miR-33a	GUGCAUUGUAGUUGCAUUGCA	524	TACAATGCA	1461	ACAATGCA	2398	CAATGCA	3335
hsa-miR-33a*	CAAUGUUUCCACAGUGCAUCAC	525	GGAACATT	1462	GAAACATT	2399	AAACATT	3336
hsa-miR-33b	GUGCAUUGCUUGUUGCAUUGC	526	AGCAATGCA	1463	GCAATGCA	2400	CAATGCA	3337
hsa-miR-33b*	CAGUGCCUCGGCAGUCAGCCC	527	CGAGGCACT	1464	GAGGCACT	2401	AGGCACT	3338
hsa-miR-340	UUUAUAAGCAAUGAGACUGAUU	528	TGCTTTATA	1465	GCTTTATA	2402	CTTTATA	3339

hsa-miR-340*	UCCGUCUCAGUUACUUUAUAGC	529	CTGAGACGG	1466	TGAGACGG	2403	GAGACGG	3340
hsa-miR-342-3p	UCUCACACAGAAAUCGCACCCGU	530	CTGTGTGAG	1467	TGTGTGAG	2404	GTGTGAG	3341
hsa-miR-342-5p	AGGGGUGCUAUCUGUGAUUGA	531	TAGCACCCC	1468	AGCACCCC	2405	GCACCCC	3342
hsa-miR-345	GCUGACUCCUAGUCCAGGCUC	532	AGGAGTCAG	1469	GGAGTCAG	2406	GAGTCAG	3343
hsa-miR-346	UGUCUGCCCUGCAUGCCUGCCUCU	533	CGGCAGAC	1470	GGGCAGAC	2407	GGCAGAC	3344
hsa-miR-34a	UGGCAGUGUCUAGCUGGUUGU	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*	UAGGCAGUGUCAUUAGCUGAUUG	537	ACACTGCCT	1474	CACTGCCT	2411	ACTGCCT	3348
hsa-miR-34c-3p	AAUCACUAACCACACGGCCAGG	538	GTTAGTGAT	1475	TTAGTGAT	2412	TAGTGAT	3349
hsa-miR-34c-5p	AGGCAGUGUAGUAGCUGAUUGC	539	TACTACTGCC	1476	ACTACTGCC	2413	CACTGCC	3350
hsa-miR-361-3p	UCCCCAGGUGUGAUUCUGAUUU	540	ACCTGGGGG	1477	CCTGGGGG	2414	CTGGGGG	3351
hsa-miR-361-5p	UUUUCAGAAUCUCCAGGGGUAC	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
hsa-miR-363*	CGGGUGGAUCACGAUGCAAUUU	545	GATCCACCC	1482	ATCCACCC	2419	TCCACCC	3356
hsa-miR-365	UAAUGCCCCUAAAAUCCUUUU	546	AGGGGCATT	1483	GGGGCATT	2420	GGGCATT	3357
hsa-miR-367	AAUUGCACUUUAGCAAUGGUGA	547	AAGTGCAAT	1484	AGTGCAAT	2421	GTGCAAT	3358
hsa-miR-367*	ACUGUUGCUAAUAUGCAACUCU	548	TAGCAACAG	1485	AGCAACAG	2422	GCAACAG	3359
hsa-miR-369-3p	AAUAAUACAUGGUUGAUUUUU	549	ATGTATTAT	1486	TGTATTAT	2423	GTATTAT	3360
hsa-miR-369-5p	AGAUCGACCGUGUUUAUUAUCGC	550	CGGTGATC	1487	GGTGCATC	2424	GTCGATC	3361
hsa-miR-370	GCCUGCUGGGUGGAACCUUGU	551	CCCAGCAGG	1488	CCAGCAGG	2425	CAGCAGG	3362
hsa-miR-371-3p	AAGUGCCGCCAUUUUUGAGUGU	552	GGCGGCACT	1489	GCGGCACT	2426	CGGCACT	3363
hsa-miR-371-5p	ACUCAAACUGUGGGGGCACU	553	CAGTTTGAG	1490	AGTTTGAG	2427	GTTTGAG	3364
hsa-miR-372	AAAGUCUGCGACAUUUGAGCGU	554	GCAGCACTT	1491	CAGCACTT	2428	AGCACTT	3365
hsa-miR-373	GAAGUGCUUCGAUUUUGGGGUGU	555	GAAGCACTT	1492	AAGCACTT	2429	AGCACTT	3366
hsa-miR-373*	ACUCAAAUUGGGGGCGCUUCC	556	CATTTTGAG	1493	ATTTTGAG	2430	TTTTGAG	3367
hsa-miR-374a	UUUAAUACAACCGUAUAAAGUG	557	TGTATTATA	1494	GTATTATA	2431	TATTATA	3368
hsa-miR-374a*	CUUAUCAGAUUGUAUUGUAAUU	558	ATCTGATAA	1495	TCTGATAA	2432	CTGATAA	3369
hsa-miR-374b	AUAUAAUACAACCGCUAAAGUG	559	TGTATTATA	1496	GTATTATA	2433	TATTATA	3370
hsa-miR-374b*	UUUAGCAGGUUGUAUUAUCAUU	560	ACCTGCTAA	1497	CCTGCTAA	2434	CTGCTAA	3371
hsa-miR-375	UUUGUUCGUUCGGCUCGGUGA	561	ACGAACAA	1498	ACGAACAA	2435	CGAACAA	3372
hsa-miR-376a	AUCAUAGAGGAAAUCACCGU	562	CCTCTATGA	1499	CTCTATGA	2436	TCTATGA	3373
hsa-miR-376a*	GUAGAUUCUCCUUCUAUGAGUA	563	GAGAACTTA	1500	AGAATCTA	2437	GAATCTA	3374
hsa-miR-376b	AUCAUAGAGGAAAUCUUGUU	564	CCTCTATGA	1501	CTCTATGA	2438	TCTATGA	3375
hsa-miR-376c	AACAUAGAGGAAAUCCACGU	565	CCTCTATGT	1502	CTCTATGT	2439	TCTATGT	3376
hsa-miR-377	AUCACACAAAGGCAACUUUUGU	566	TTTGTGTGA	1503	TTGTGTGA	2440	TGTGTGA	3377
hsa-miR-377*	AGAGGUUGCCCUGGUGAAUUC	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
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	CCC TTGTAT	1511	CCTTGTAT	2448	CTTGTAT	3385
hsa-miR-382	GAAGUUGUUCGUGUGGAUUCG	575	GAACAACCTT	1512	AACAACCTT	2449	ACAACCTT	3386
hsa-miR-383	AGAUCAGAAGGUGAUUGUGGCU	576	CTTCTGATC	1513	TTCTGATC	2450	TCTGATC	3387
hsa-miR-384	AUUCUAGAAAUGUUAUCAUA	577	TTCTAGGAA	1514	TCTAGGAA	2451	CTAGGAA	3388
hsa-miR-409-3p	GAAUGUUGCUCGGUAAACCCU	578	AGCAACATT	1515	GCAACATT	2452	CAACATT	3389
hsa-miR-409-5p	AGGUUACCCGAGCAACUUUGCAU	579	CGGGTAACC	1516	GGGTAACC	2453	GGTAACC	3390
hsa-miR-410	AAUUAUACACAGAUGGCCUGU	580	GTGTTATAT	1517	TGTTATAT	2454	GTTATAT	3391
hsa-miR-411	UAGUAGACCGUAUAGCGUACG	581	CGGTCTACT	1518	GGTCTACT	2455	GTCTACT	3392
hsa-miR-411*	UAUGUAACACGGUCCACUAACC	582	GTGTTACAT	1519	TGTTACAT	2456	GTTACAT	3393
hsa-miR-412	ACUUCACCUGGUCCACUAGCCGU	583	CAGGTGAAG	1520	AGGTGAAG	2457	GGTGAAG	3394

hsa-miR-421	AUCAACAGACAUAAUUGGGCGC	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	UGAGGGGACAGAGCGAGACUUU	587	CTGCCCTC	1524	TGCCCTC	2461	GCCCTC	3398
hsa-miR-424	CAGCAGCAAUCAUGUUUUGAA	588	ATTGCTGCT	1525	TGCTGCT	2462	TGCTGCT	3399
hsa-miR-424*	CAAACGUGAGGCGUCUUAU	589	TCACGTTT	1526	CACGTTT	2463	ACGTTT	3400
hsa-miR-425	AAUGACACGAUCACUCCGUUGA	590	TCGTGCAT	1527	CGTGCAT	2464	GTGCAT	3401
hsa-miR-425*	AUCGGAAUGUCGUGCCGCC	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*	CUGGAUGGCUCUCCAUUGUCU	596	AGCCATCCA	1533	GCCATCCA	2470	CCATCCA	3407
hsa-miR-433	AUCAUGAUGGGCUCUCGGUGU	597	CCATCATGA	1534	CATCATGA	2471	ATCATGA	3408
hsa-miR-448	UUGCAUUGUAGGAUGCCAU	598	ACATATGCA	1535	CATATGCA	2472	ATATGCA	3409
hsa-miR-449a	UGGCAGUGUAUUGUUAAGCUGGU	599	TACTACTGCC	1536	ACACTGCC	2473	CACTGCC	3410
hsa-miR-449b	AGGCAGUGUAUUGUUAAGCUGGC	600	TACTACTGCC	1537	ACACTGCC	2474	CACTGCC	3411
hsa-miR-450a	UUUUGCGAUGUGUUCUCAAUAU	601	CATCGCAA	1538	ATCGCAA	2475	TCGCAA	3412
hsa-miR-450b-3p	UUGGGAUCAUUUGCAUCCAUA	602	ATGATCCCA	1539	TGATCCCA	2476	GATCCCA	3413
hsa-miR-450b-5p	UUUUGCAAUAUUGUCCUGAAUA	603	TATTGCAA	1540	ATTGCAA	2477	TGCAA	3414
hsa-miR-451	AAACGUUACCAUUAUCAGUU	604	GTAACGGT	1541	TAACGGT	2478	AACGGT	3415
hsa-miR-452	AACUGUUUCAGAGGAAACUGA	605	GCAAACAGT	1542	CAAACAGT	2479	AAACAGT	3416
hsa-miR-452*	CUCAUCGCAAGAAGUAAGUG	606	TGCAGATGA	1543	GCAGATGA	2480	CAGATGA	3417
hsa-miR-453	AGGUUGCCGUGGUGAGUUCGCA	607	CGGACAACC	1544	GGACAACC	2481	GACAACC	3418
hsa-miR-454	UAGUGCAAUAUUGCUUAUAGGGU	608	TATTGCACT	1545	ATTGCACT	2482	TTGCACT	3419
hsa-miR-454*	ACCCUAUCAUAUUGUCUCUGC	609	TTGATAGGG	1546	TGATAGGG	2483	GATAGGG	3420
hsa-miR-455-3p	GCAGUCCAUGGGCAUAUACAC	610	CATGGACTG	1547	ATGGACTG	2484	TGGACTG	3421
hsa-miR-455-5p	UAUGUGCCUUUGGACUACUCCG	611	AAGCACAT	1548	AGGCACAT	2485	GGCACAT	3422
hsa-miR-483-3p	UCACUCCUCUCCUCCGUCUU	612	AGAGGAGTG	1549	GAGGAGTG	2486	AGGAGTG	3423
hsa-miR-483-5p	AAGACGGGAGGAAAGAAGGGAG	613	CTCCCGTCT	1550	TCCCGTCT	2487	CCCGTCT	3424
hsa-miR-484	UCAGGCUCAGUCCUCCCGAU	614	CTGAGCCTG	1551	TGAGCCTG	2488	GAGCCTG	3425
hsa-miR-485-3p	GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU	615	CGTGTATGA	1552	GTGTATGA	2489	TGTATGA	3426
hsa-miR-485-5p	AGAGGCUGGCCUGAUGAAUUC	616	GCCAGCCTC	1553	CCAGCCTC	2490	CAGCCTC	3427
hsa-miR-486-3p	CGGGCAGCUCAGUACAGGAU	617	AGCTGCCCC	1554	GCTGCCCC	2491	CTGCCCC	3428
hsa-miR-486-5p	UCUGUACUGAGCUGCCCGAG	618	CATACAGG	1555	AGTACAGG	2492	GTACAGG	3429
hsa-miR-487a	AAUCAUACAGGACAUCCAGUU	619	CTGTATGAT	1556	TGTATGAT	2493	GTATGAT	3430
hsa-miR-487b	AAUCGUACAGGUGAUCCACUU	620	CTGTACGAT	1557	TGTACGAT	2494	GTACGAT	3431
hsa-miR-488	UUGAAAGGCUAUUCUUGGUC	621	AGCCTTCA	1558	GCCTTCA	2495	CCTTCA	3432
hsa-miR-488*	CCCAGUAUAGGCACUCUCAA	622	ATTATCTGG	1559	TTATCTGG	2496	TATCTGG	3433
hsa-miR-489	GUGACAUACAUAUACGGCAGC	623	GTGATGCA	1560	TGATGCA	2497	GATGCA	3434
hsa-miR-490-3p	CAACUGGAGGACUCCAUGCUG	624	CTCCAGGTT	1561	TCCAGGTT	2498	CCAGGTT	3435
hsa-miR-490-5p	CCAUGGAUCUCCAGGUGGGU	625	AGATCCATG	1562	GATCCATG	2499	ATCCATG	3436
hsa-miR-491-3p	CUUAUGCAAGAUUCCUUCUAC	626	CTGCATAA	1563	TGCATAA	2500	GCATAA	3437
hsa-miR-491-5p	AGUGGGAAACCCUCCAUGAGG	627	GTCCCCAC	1564	TCCCCAC	2501	CCCCAC	3438
hsa-miR-492	AGGACCUGCGGACAGAUUCUU	628	CGCAGGTCC	1565	GCAGGTCC	2502	CAGGTCC	3439
hsa-miR-493	UGAAGGUCUACUGUGGCCAGG	629	TAGACCTTC	1566	AGACCTTC	2503	GACCTTC	3440
hsa-miR-493*	UUGUACAUGGUAGGCUUUCUUAU	630	CCATGTACA	1567	CATGTACA	2504	ATGTACA	3441
hsa-miR-494	UGAAACAUAACGGGAACCUC	631	GTATGTTTC	1568	TATGTTTC	2505	ATGTTTC	3442
hsa-miR-495	AAACAACAUGGUCACUUCUU	632	ATGTTTGT	1569	TGTTTGT	2506	GTTTGT	3443
hsa-miR-496	UAGUAUUAACAUGGCCAUUCUC	633	GTAATACTC	1570	TAATACTC	2507	AATACTC	3444
hsa-miR-497	CAGCAGCACACUGUGUUUGU	634	TGTCTGCT	1571	GTCTGCT	2508	TCTGCT	3445
hsa-miR-497*	CAAACCACACUGUGUUUAGA	635	GTGTGTTT	1572	TGTGTTT	2509	GTGTTT	3446
hsa-miR-498	UUUCAAGCCAGGGGCGUUUUUC	636	TGGCTTGAA	1573	GGCTTGAA	2510	GCTTGAA	3447
hsa-miR-499-3p	AAACAUCACAGCAAGUCUGUCU	637	CTGTGATGT	1574	TGTGATGT	2511	GTGATGT	3448
hsa-miR-499-5p	UUAAGACUUGCAGUGAUGUUU	638	CAAGTCTTA	1575	AAGTCTTA	2512	AGTCTTA	3449

hsa-miR-500	UAAUCCUUGCUACCUUGGGUGAGA	639	GCAAGGATT	1576	CAAGGATT	2513	AAGGATT	3450
hsa-miR-500*	AUGCACCUUGGGCAAGGAUUCUG	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	AAUGCACCUUGGGCAAGGAUUCU	643	CAGGTGCAT	1580	AGGTGCAT	2517	GGTGCAT	3454
hsa-miR-502-5p	AUCCUUGCUAUCUGGGUGCUA	644	TAGCAAGGA	1581	AGCAAGGA	2518	GCAAGGA	3455
hsa-miR-503	UAGCAGCGGGAACAGUUCUGCAG	645	CCCGCTGCT	1582	CCGCTGCT	2519	CGCTGCT	3456
hsa-miR-504	AGACCCUGGUCUGCACUCUAUC	646	ACCAGGGTC	1583	CCAGGGTC	2520	CAGGGTC	3457
hsa-miR-505	CGUCAACACUUGCUGGUUUCCU	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	UUUUGCACUUUUGGAGUGAA	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
hsa-miR-509-3-5p	UACUGCAGACGUGGCAAUCAUG	653	GTCTGCAGT	1590	TCTGCAGT	2527	CTGCAGT	3464
hsa-miR-509-3p	UGAUUGGUACGUCUGGGUAG	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	CAAAAGACA	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	CTGAGT	3470
hsa-miR-513a-3p	AAAUUUACCCUUUCUGAGAAGG	660	GTGAAATTT	1597	TGAAATTT	2534	GAAATTT	3471
hsa-miR-513a-5p	UUCACAGGGAGGUGUCAU	661	TCCCTGTGA	1598	CCCTGTGA	2535	CCTGTGA	3472
hsa-miR-513b	UUCACAAGGAGGUGUCAUUUAU	662	TCCTGTGA	1599	CCTGTGA	2536	CTGTGA	3473
hsa-miR-513c	UUCUCAAGGAGGUGUCGUUUUAU	663	TCCTTGAGA	1600	CCTTGAGA	2537	CTTGAGA	3474
hsa-miR-514	AUUGACACUUCUGUGAGUAGA	664	AAGTGTCAA	1601	AGTGTCAA	2538	GTGTCAA	3475
hsa-miR-515-3p	GAGUGCCUUUUUGGAGCGUU	665	GAAGGCACT	1602	AAGGCACT	2539	AGGCACT	3476
hsa-miR-515-5p	UUCUCCAAAAGAAAGCACUUUCUG	666	TTTTGGAGA	1603	TTTGGAGA	2540	TGGAGA	3477
hsa-miR-516a-3p	UGCUUCCUUUCAGAGGGU	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	GAAAGCGCUUCCUUUGGAGGA	674	AAGCGCTTT	1611	AGCGCTTT	2548	GCGCTTT	3485
hsa-miR-518b	CAAAGCGCUUCCUUUAGAGGU	675	GAGCGCTTT	1612	AGCGCTTT	2549	GCGCTTT	3486
hsa-miR-518c	CAAAGCGCUUCCUUUAGAGUGU	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	CCCTTAGA	1616	CCTTAGA	2553	CTTAGA	3490
hsa-miR-518e	AAAGCGCUUCCUUUCAGAGUG	680	GAAGCGCTT	1617	AAGCGCTT	2554	AGCGCTT	3491
hsa-miR-518f	GAAAGCGCUUCCUUUAGAGG	681	AAGCGCTTT	1618	AGCGCTTT	2555	GCGCTTT	3492
hsa-miR-518f*	CUCUAGAGGGAAGCACUUUCUC	682	CCCTTAGA	1619	CCTTAGA	2556	CTTAGA	3493
hsa-miR-519a	AAAGUGCAUCCUUUAGAGUGU	683	GATGCACTT	1620	ATGCACTT	2557	TGCACTT	3494
hsa-miR-519a*	CUCUAGAGGGAAGCGUUUCUG	684	CCCTTAGA	1621	CCTTAGA	2558	CTTAGA	3495
hsa-miR-519b-3p	AAAGUGCAUCCUUUAGAGGUU	685	GATGCACTT	1622	ATGCACTT	2559	TGCACTT	3496
hsa-miR-519c-3p	AAAGUGCAUCCUUUAGAGGAU	686	GATGCACTT	1623	ATGCACTT	2560	TGCACTT	3497
hsa-miR-519d	CAAAGUGCCUCCUUUAGAGUG	687	AGGCACTTT	1624	GGCACTTT	2561	GCACTTT	3498
hsa-miR-519e	AAGUGCCUCCUUUAGAGUGUU	688	GGAGGCACT	1625	GAGGCACT	2562	AGGCACT	3499
hsa-miR-519e*	UUCUCCAAAAGGAGCACUUUC	689	TTTTGGAGA	1626	TTTGGAGA	2563	TGGAGA	3500
hsa-miR-520a-3p	AAAGUGCUUCCUUUGGAGUGU	690	AAGCACTT	1627	AAGCACTT	2564	AGCACTT	3501
hsa-miR-520a-5p	CUCCAGAGGGAAGUAUUUCU	691	CCCTTGGA	1628	CCTTGGA	2565	CTTGGA	3502
hsa-miR-520b	AAAGUGCUUCCUUUAGAGGG	692	GAAGCACTT	1629	AAGCACTT	2566	AGCACTT	3503
hsa-miR-520c-3p	AAAGUGCUUCCUUUAGAGGGU	693	GAAGCACTT	1630	AAGCACTT	2567	AGCACTT	3504

hsa-miR-520d-3p	AAAGUGCUUCUCUUUGGUGGGU	694	GAAGCACTT	1631	AAGCACTT	2568	AGCACTT	3505
hsa-miR-520d-5p	CUACAAAGGGAAGCCUUUC	695	CCTTTGTA	1632	CCTTTGTA	2569	CTTTGTA	3506
hsa-miR-520e	AAAGUGCUUCUUUUUAGAGGG	696	GAAGCACTT	1633	AAGCACTT	2570	AGCACTT	3507
hsa-miR-520f	AAGUGCUUCUUUUAGAGGGUU	697	GGAAGCACT	1634	GAAGCACT	2571	AAGCACT	3508
hsa-miR-520g	ACAAAGUGCUUCCUUUAGAGUGU	698	AGCACTTTG	1635	GCACTTTG	2572	CACTTTG	3509
hsa-miR-520h	ACAAAGUGCUUCCUUUAGAGU	699	AGCACTTTG	1636	GCACTTTG	2573	CACTTTG	3510
hsa-miR-521	AACGCACUCCUUUAGAGUGU	700	GAAGTGCGT	1637	AAGTGCGT	2574	AGTGCGT	3511
hsa-miR-522	AAAAGUGUCCUUUAGAGUGU	701	GAACCATTT	1638	AACCATTT	2575	ACCATTT	3512
hsa-miR-523	GAACGCGUCCUUUAGAGGGU	702	AAGCGCGTT	1639	AGCGCGTT	2576	GCGCGTT	3513
hsa-miR-524-3p	GAAGGCGUCCUUUUGGAGU	703	AAGCGCCTT	1640	AGCGCCTT	2577	GCGCCTT	3514
hsa-miR-524-5p	CUACAAAGGGAAGCACUUUC	704	CCTTTGTA	1641	CCTTTGTA	2578	CTTTGTA	3515
hsa-miR-525-3p	GAAGGCGUCCUUUAGAGCG	705	AAGCGCCTT	1642	AGCGCCTT	2579	GCGCCTT	3516
hsa-miR-525-5p	CUCCAGAGGGAUGCACUUUCU	706	CCCTCTGGA	1643	CCTCTGGA	2580	CTCTGGA	3517
hsa-miR-526b	CUCUUGAGGGAAGCACUUUCUGU	707	CCCTCAAGA	1644	CCTCAAGA	2581	CTCAAGA	3518
hsa-miR-526b*	GAAAGUGCUUCUUUAGAGGC	708	AAGCACTTT	1645	AGCACTTT	2582	GCACTTT	3519
hsa-miR-527	CUGCAAAGGGAAGCCUUUC	709	CCTTTGCA	1646	CCTTTGCA	2583	CTTTGCA	3520
hsa-miR-532-3p	CCUCCACACCCAAGGCUUGCA	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*	AAAGGAUUCUGCUGCGGUCCACU	714	AGAATCCTT	1651	GAATCCTT	2588	AATCCTT	3525
hsa-miR-542-3p	UGUGACAGAAUGGAUACUGAAA	715	ATCTGTAC	1652	TCTGTAC	2589	CTGTAC	3526
hsa-miR-542-5p	UCGGGAUCAUCAUGUCACGAGA	716	TGATCCCG	1653	GATCCCG	2590	ATCCCG	3527
hsa-miR-543	AAACAUUCGCGUGCACUUUCU	717	GCGAATGTT	1654	CGAATGTT	2591	GAATGTT	3528
hsa-miR-544	AUUCUGCAUUUUUAGCAAGUUC	718	AATGCAGAA	1655	ATGCAGAA	2592	TGCAGAA	3529
hsa-miR-545	UCAGCAAACUUUUUUGUGUC	719	TGTTTGCTG	1656	GTTTGCTG	2593	TTTGCTG	3530
hsa-miR-545*	UCAGUAAAUGUUUUUAGAUGA	720	CATTTACTG	1657	ATTTACTG	2594	TTTACTG	3531
hsa-miR-548a-3p	CAAACUGGCAAUUACUUUUGC	721	GCCAGTTT	1658	CCAGTTT	2595	CAGTTT	3532
hsa-miR-548a-5p	AAAAGUAAUUGCGAGUUUACC	722	AATFACTTT	1659	ATTACTTT	2596	TTACTTT	3533
hsa-miR-548b-3p	CAAGAACCUCAGUUGCUUUUGU	723	GAGTTCTT	1660	AGTTCTT	2597	GTTCTT	3534
hsa-miR-548b-5p	AAAAGUAAUUGGUGUUUUGCC	724	AATFACTTT	1661	ATTACTTT	2598	TTACTTT	3535
hsa-miR-548c-3p	CAAAAUCUCAUUUACUUUUGC	725	GAGATTTT	1662	AGATTTT	2599	GATTTT	3536
hsa-miR-548c-5p	AAAAGUAAUUGCGGUUUUUGCC	726	AATFACTTT	1663	ATTACTTT	2600	TTACTTT	3537
hsa-miR-548d-3p	CAAAACACAGUUUUUUGC	727	GTGGTTTT	1664	TGGTTTT	2601	GGTTTT	3538
hsa-miR-548d-5p	AAAAGUAAUUGGUGUUUUGCC	728	AATFACTTT	1665	ATTACTTT	2602	TTACTTT	3539
hsa-miR-548e	AAAACUGAGACUACUUUUGCA	729	CTCAGTTT	1666	TCAGTTT	2603	CAGTTT	3540
hsa-miR-548f	AAAACUGAAUUACUUUU	730	TACAGTTT	1667	ACAGTTT	2604	CAGTTT	3541
hsa-miR-548g	AAAACUGAAUUACUUUUGUAC	731	TTACAGTTT	1668	TACAGTTT	2605	ACAGTTT	3542
hsa-miR-548h	AAAAGUAAUCGCGGUUUUUGUC	732	GATFACTTT	1669	ATTACTTT	2606	TTACTTT	3543
hsa-miR-548i	AAAAGUAAUUGCGGAUUUUGCC	733	AATFACTTT	1670	ATTACTTT	2607	TTACTTT	3544
hsa-miR-548j	AAAAGUAAUUGCGGUCUUUGGU	734	AATFACTTT	1671	ATTACTTT	2608	TTACTTT	3545
hsa-miR-548k	AAAAGUACUUGCGGAUUUUGCU	735	AAGFACTTT	1672	AGTACTTT	2609	GTACTTT	3546
hsa-miR-548l	AAAAGUAAUUGCGGUUUUUGUC	736	AAATFACTTT	1673	AATACTTT	2610	ATACTTT	3547
hsa-miR-548m	CAAAGUAAUUGGUGUUUUG	737	AATACCTTT	1674	ATACCTTT	2611	TACCTTT	3548
hsa-miR-548n	CAAAGUAAUUGGGAUUUUGU	738	ATTACTTTT	1675	TTACTTTT	2612	TACTTTT	3549
hsa-miR-548o	CCAAAACUGCAGUUACUUUUGC	739	GCAGTTTIG	1676	CAGTTTIG	2613	AGTTTIG	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	AGUGCCUGAGGGAUGAAGGCC	742	CTCAGGCAC	1679	TCAGGCAC	2616	CAGGCAC	3553
hsa-miR-550*	UGUCUUACUCCUCAGGCACAU	743	GAGTAAGAC	1680	AGTAAGAC	2617	GTAAGAC	3554
hsa-miR-551a	GCGACCCACUCUUGGUUCCA	744	AGTGGGTCG	1681	TGGGTCG	2618	TGGGTCG	3555
hsa-miR-551b	GCGACCCAUACUUGGUUUCAG	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	AAAACGGUGAGAUUUUUGUUU	748	TCACCGTTT	1685	CACCGTTT	2622	ACCGTTT	3559

hsa-miR-554	GCUAGUCCUGACUCAGCCAGU	749	CAGGACTAG	1686	AGGACTAG	2623	GGACTAG	3560
hsa-miR-555	AGGGUAAAGCUGAACCCUCUGAU	750	AGCTTACCC	1687	GCTTACCC	2624	CTTACCC	3561
hsa-miR-556-3p	AUAUUACCAUUAGCUCUUCUUU	751	ATGGTAATA	1688	TGGTAATA	2625	GGTAATA	3562
hsa-miR-556-5p	GAUGAGCUCUUAUUUAUUGAG	752	TGAGCTCAT	1689	GAGCTCAT	2626	AGCTCAT	3563
hsa-miR-557	GUUUGCACGGGUGGGCCUUGUCU	753	CCGTGCAA	1690	CGTGCAA	2627	GTGCAA	3564
hsa-miR-558	UGAGCUGCUGUACCAAAU	754	CAGCAGCTC	1691	AGCAGCTC	2628	GCAGCTC	3565
hsa-miR-559	UAAAGUAAAUAUGCACCAAAA	755	ATTTACTTT	1692	TTTACTTT	2629	TTACTTT	3566
hsa-miR-561	CAAAGUUUAGAUCUUGAAGU	756	TAAACTTT	1693	TAAACTTT	2630	AAACTTT	3567
hsa-miR-562	AAAGUAGCUGUACCAUUUGC	757	CAGCTACTT	1694	AGCTACTT	2631	GCTACTT	3568
hsa-miR-563	AGGUUGACAUACGUUUCCC	758	ATGTCAACC	1695	TGTCAACC	2632	GTCAACC	3569
hsa-miR-564	AGGCACGGUGUCAGCAGGC	759	CACCGTGCC	1696	ACCGTGCC	2633	CCGTGCC	3570
hsa-miR-566	GGCGCCUGUGAUCCCAAC	760	ACAGCGCC	1697	CAGCGCC	2634	AGCGCC	3571
hsa-miR-567	AGUAUGUUCUCCAGGACAGAAC	761	AGACATAC	1698	GAACATAC	2635	AACATAC	3572
hsa-miR-568	AUGUAUAAAUGUAUACACAC	762	ATTTATACA	1699	TTTATACA	2636	TTATACA	3573
hsa-miR-569	AGUUAUUGAAUCCUGAAAGU	763	TTCATTAAC	1700	TCATTAAC	2637	CATTAAC	3574
hsa-miR-570	CGAAAACAGCAAUUAUCCUUUGC	764	GCTGTTTTC	1701	CTGTTTTC	2638	TGTTTTC	3575
hsa-miR-571	UGAGUUGCCAUCUGAGUGAG	765	GGCCAATC	1702	GCCAATC	2639	CCAATC	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	CACGCUCAUGCACACCCACA	768	CATGAGCGT	1705	ATGAGCGT	2642	TGAGCGT	3579
hsa-miR-574-5p	UGAGUGUGUGUGUGAGUGUGU	769	CACCACTC	1706	ACCACTC	2643	CACACTC	3580
hsa-miR-575	GAGCCAGUUGGACAGGAGC	770	CAACTGGCT	1707	AACTGGCT	2644	ACTGGCT	3581
hsa-miR-576-3p	AAGAUGUGGAAAAUUUGAAUC	771	TCCACATCT	1708	CCACATCT	2645	CACATCT	3582
hsa-miR-576-5p	AUUCUAAUUUCUCCACGUCUUU	772	AAATTAGAA	1709	AATTAGAA	2646	ATTAGAA	3583
hsa-miR-577	UAGAUAAAUAUUGUACCUG	773	ATTTTATCT	1710	TTTTATCT	2647	TTTATCT	3584
hsa-miR-578	CUUCUUGUCUCUAGGAUUUGU	774	GCACAAGAA	1711	CACAAGAA	2648	ACAAGAA	3585
hsa-miR-579	UUCAUUUGGUUAAAACCGGAUU	775	ACCAATGA	1712	CCAATGA	2649	CAAATGA	3586
hsa-miR-580	UUGAGAUAUGAUAUCAUAGG	776	TCATTCTCA	1713	CATTCTCA	2650	ATTCTCA	3587
hsa-miR-581	UCUUGUGUUCUCUAGAUACAGU	777	GAACAACAG	1714	AACAACAG	2651	ACAACAG	3588
hsa-miR-582-3p	UAACUGGUUGAACAACUGAACC	778	CAACCAGTT	1715	AACCAGTT	2652	ACCAGTT	3589
hsa-miR-582-5p	UUACAGUUGUUAACAGGUUACU	779	ACAACGTGA	1716	CAACGTGA	2653	AACTGTA	3590
hsa-miR-583	CAAAGAGGAAGGUCCAUUAC	780	TTCCTCTTT	1717	TCCTCTTT	2654	CCTCTTT	3591
hsa-miR-584	UUUUGGUUUGCCUGGGACUGAG	781	CAAACCATA	1718	AAACCATA	2655	AACCATA	3592
hsa-miR-585	UGGGCGUAUCUGUAUGCUA	782	GATACGCC	1719	ATACGCC	2656	TACGCC	3593
hsa-miR-586	UUGCAUUGUAUUUUAGGUCC	783	ACAATGCAT	1720	CAATGCAT	2657	AATGCAT	3594
hsa-miR-587	UUUCAUAGGUAGUAGUCAC	784	CCTATGGAA	1721	CTATGGAA	2658	TATGGAA	3595
hsa-miR-588	UUGGCCACAUUGGUUAGAAC	785	TGTGGCCA	1722	TGTGGCCA	2659	GTGGCCA	3596
hsa-miR-589	UGAGAACCACGUCUGUCUGAG	786	GTGGTTCTC	1723	TGGTTCTC	2660	GTTCTC	3597
hsa-miR-589*	UCAGAACAAAUGCCGUUCCAGA	787	TTTGTCTG	1724	TGTCTG	2661	TGTCTG	3598
hsa-miR-590-3p	UAAUUUUAUGUAUAAGCUAGU	788	CATAAAATT	1725	ATAAAATT	2662	TAAAAATT	3599
hsa-miR-590-5p	GAGCUUAUUCUAAAAGUCAG	789	GAATAAGCT	1726	AATAAGCT	2663	ATAAGCT	3600
hsa-miR-591	AGACCAUGGUUCUCAUUGU	790	CCCATGGTC	1727	CCATGGTC	2664	CATGGTC	3601
hsa-miR-592	UUGUGUCAUAUUGCGAUGAUGU	791	ATTGACACA	1728	TGACACA	2665	TGACACA	3602
hsa-miR-593	UGUCUCUGCUGGGUUUCU	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	AAGCCUGCCCGGUCCUGGG	795	GGCAGGCT	1732	GCAGGCT	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	ACUUACAGACAAGAGCCUUGCUC	799	GTCTGTAAG	1736	TCTGTAAG	2673	CTGTAAG	3610
hsa-miR-601	UGGUCUAGGAUUGUUGGAGGAG	800	TCCTAGACC	1737	CCTAGACC	2674	CTAGACC	3611
hsa-miR-602	GACACGGCGACAGCUGCGGCC	801	CGCCGTGT	1738	GCCGTGT	2675	CCCGTGT	3612
hsa-miR-603	CACACACUGCAAUUACUUUUGC	802	GCAGTGTGT	1739	CAGTGTGT	2676	AGTGTGT	3613
hsa-miR-604	AGGCUGCGGAUUCAGGAC	803	TCCGAGCC	1740	CCGAGCC	2677	CGAGCC	3614

hsa-miR-605	UAAAUCCCAUGGUGCCUUCUCCU	804	ATGGGATTT	1741	TGGGATTT	2678	GGGATTT	3615
hsa-miR-606	AAACUACUGAAAUCAAAGAU	805	TCAGTAGTT	1742	CAGTAGTT	2679	AGTAGTT	3616
hsa-miR-607	GUUCAAAUCCAGAUUAUAAAC	806	GGATTTGAA	1743	GATTTGAA	2680	ATTTGAA	3617
hsa-miR-608	AGGGUGGUGUUGGGACAGCUCCGU	807	CACCACCCC	1744	ACCACCCC	2681	CCACCCC	3618
hsa-miR-609	AGGGUGUUCUCUCACUCUCU	808	GAAACACCC	1745	AAACACCC	2682	AACACCC	3619
hsa-miR-610	UGAGCUAAAUGUGUGCUGGGA	809	ATTTAGCTC	1746	TTTAGCTC	2683	TTAGCTC	3620
hsa-miR-611	GCAGGACCCUCGCGGUCUGAC	810	GGTCCTCG	1747	GGTCCTCG	2684	GCCTCG	3621
hsa-miR-612	GCUGGGCAGGCUUCUGAGCUCCU	811	CCTGCCAG	1748	CTGCCAG	2685	TGCCAG	3622
hsa-miR-613	AGGAAUGUCCUUCUUGCC	812	GAACATTCC	1749	AACATTCC	2686	ACATTCC	3623
hsa-miR-614	GAACGCCUGUUCUUGCCAGGUGG	813	ACAGCGTT	1750	CAGCGTT	2687	AGCGTT	3624
hsa-miR-615-3p	UCCGAGCCUGGUCUCCUCUU	814	CAGGCTCGG	1751	AGGCTCGG	2688	GGCTCGG	3625
hsa-miR-615-5p	GGGGUCCCCGGUGUCGGAUC	815	GGGACCCC	1752	GGGACCCC	2689	GGACCCC	3626
hsa-miR-616	AGUCAUUGGAGGGUUGAGCAG	816	TCCAATGAC	1753	CCAATGAC	2690	CAATGAC	3627
hsa-miR-616*	ACUCAAAACCCUUCAGUGACUU	817	GGTTTGAG	1754	GTTTGAG	2691	TTTGAG	3628
hsa-miR-617	AGACUCCCAUUGAAGGUGGC	818	TGGGAAGTC	1755	GGGAAGTC	2692	GGAAGTC	3629
hsa-miR-618	AAACUCUACUUGUCCUUCUGAGU	819	AGTAGAGTT	1756	GTAGAGTT	2693	TAGAGTT	3630
hsa-miR-619	GACCUGGACAUUUUGUGCCAGU	820	TGTCAGGT	1757	GTCCAGGT	2694	TCCAGGT	3631
hsa-miR-620	AUGGAGAUAGAUUAGAAA	821	CTATCTCCA	1758	TATCTCCA	2695	ATCTCCA	3632
hsa-miR-621	GGCUAGCAACAGCCUUAACU	822	GTTGCTAGC	1759	TTGCTAGC	2696	TGCTAGC	3633
hsa-miR-622	ACAGUCUGCUGAGGUUGGAGC	823	AGCAGCTG	1760	GCAGACTG	2697	CAGACTG	3634
hsa-miR-623	AUCCUUGCAGGGCUGUUGGGU	824	TGCAAGGGA	1761	GCAAGGGA	2698	CAAGGGA	3635
hsa-miR-624	CACAAGGAUUGGUUAUACCU	825	ATACCTTGT	1762	TACCTTGT	2699	ACCTTGT	3636
hsa-miR-624*	UAGUACCAGUACCUUGUUA	826	ACTGGTACT	1763	CTGGTACT	2700	TGGTACT	3637
hsa-miR-625	AGGGGAAAGUUCUAUAGUCC	827	CTTCCCCC	1764	TTCCCCC	2701	TTCCCCC	3638
hsa-miR-625*	GACUAUAGAACUUCUCCCUCA	828	TTCTATAGT	1765	TCTATAGT	2702	CTATAGT	3639
hsa-miR-626	AGCUGUCUGAAAUGUCUU	829	TCAGACAGC	1766	CAGACAGC	2703	AGACAGC	3640
hsa-miR-627	GUGAGUCUCUAAGAAAGAGGA	830	AGAGACTCA	1767	GAGACTCA	2704	AGACTCA	3641
hsa-miR-628-3p	UCUAGUAAGAGUGGCAGUCGA	831	TCTTACTAG	1768	CTTACTAG	2705	TTACTAG	3642
hsa-miR-628-5p	AUGCUGACAUUUUACUAGAGG	832	ATGTCAGCA	1769	TGTCAGCA	2706	GTCAGCA	3643
hsa-miR-629	UGGGUUUACGUUGGGAGAACU	833	CGTAAACCC	1770	GTAACCC	2707	TAAACCC	3644
hsa-miR-629*	GUUCUCCCAACGUAAGCCAGC	834	TTGGGAGAA	1771	TGGGAGAA	2708	GGGAGAA	3645
hsa-miR-630	AGUAUUCUGUACCAGGGAAGGU	835	ACAGAATAC	1772	CAGAATAC	2709	AGAATAC	3646
hsa-miR-631	AGACCUGGCCAGACCUCAGC	836	GGCCAGGTC	1773	GCCAGGTC	2710	CCAGGTC	3647
hsa-miR-632	GUGUCUGCUUCUGUGGGA	837	AAGCAGACA	1774	AGCAGACA	2711	GCAGACA	3648
hsa-miR-633	CUAUAGUAUCUACCAUAAA	838	ATACTATTA	1775	TACTATTA	2712	ACTATTA	3649
hsa-miR-634	AACCAGCACCCCAACUUGGAC	839	GGTCTGGT	1776	GTGCTGGT	2713	TGCTGGT	3650
hsa-miR-635	ACUUGGGCACUGAAACAAUGUCC	840	GTGCCAAG	1777	TGCCAAG	2714	GCCAAG	3651
hsa-miR-636	UGUGCUUGCUCGUCCGCCCGCA	841	AGCAAAGCAC	1778	GCAAAGCAC	2715	CAAAGCAC	3652
hsa-miR-637	ACUGGGGCUUUCGGGCUUGCGU	842	AGCCCCCAG	1779	GCCCCCAG	2716	CCCCCAG	3653
hsa-miR-638	AGGGAUCGCGGGCGGUGGCGCCU	843	CGCATCCC	1780	GCGATCCC	2717	CGATCCC	3654
hsa-miR-639	AUCGUCGGUUGCGAGCGUGU	844	CCGCAGCGA	1781	CGCAGCGA	2718	GCAGCGA	3655
hsa-miR-640	AUGAUCCAGGAACCGCCUCU	845	CCTGGATCA	1782	CTGGATCA	2719	TGGATCA	3656
hsa-miR-641	AAAGACAUAGGAUAGAGUACCUC	846	CTATGTCTT	1783	TATGTCTT	2720	ATGTCTT	3657
hsa-miR-642	GUCCUCUCCAAUGUGUCUUG	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	UCUAGGCUGGUACUGUGA	850	CCAGCCTAG	1787	CAGCCTAG	2724	AGCCTAG	3661
hsa-miR-646	AAGCAGCUGCCUCUGAGGC	851	GCAGCTGCT	1788	CAGCTGCT	2725	AGCTGCT	3662
hsa-miR-647	GUGGUCGACUCACUCCUUC	852	GTGCAGCCA	1789	TGCAGCCA	2726	GCAGCCA	3663
hsa-miR-648	AUGUGCAGGGCACUGGU	853	CTGCACACT	1790	TGCACACT	2727	GCACACT	3664
hsa-miR-649	AAACCUUGUUGUUAAGAGUC	854	ACACAGGTT	1791	CACAGGTT	2728	ACAGGTT	3665
hsa-miR-650	AGGAGGACGCGUCUCAGGAC	855	GCTGCCTCC	1792	CTGCCTCC	2729	TGCCTCC	3666
hsa-miR-651	UUUAGGAUAAGCUUGACUUUG	856	TTATCCTAA	1793	TATCCTAA	2730	ATCCTAA	3667
hsa-miR-652	AAUGGCCACUAGGGUUGUG	857	TGGGCCAT	1794	GCGCCAT	2731	GCGCCAT	3668
hsa-miR-653	GUGUUGAAACAUCUCUACUG	858	GTTTCAACA	1795	TTTCAACA	2732	TCAACA	3669

hsa-miR-654-3p	UAUGUCUGCUGACCAUCACCUU	859	AGCAGACAT	1796	GCAGACAT	2733	CAGACAT	3670
hsa-miR-654-5p	UGGUGGGCCGCAGAACAUGUGC	860	CGGCCACC	1797	GGCCCACC	2734	GCCCACC	3671
hsa-miR-655	AUAUAACAUGGUUAACUCUUU	861	CATGTATTA	1798	ATGTATTA	2735	TGTATTA	3672
hsa-miR-656	AAUAUUUACAGUCAACCUCU	862	GTATAATAT	1799	TATAATAT	2736	ATAATAT	3673
hsa-miR-657	GGCAGGUUCACCCUCUCUAGG	863	AGAACCTGC	1800	GAACCTGC	2737	AACCTGC	3674
hsa-miR-658	GGCGAGGGAAGUAGGUCCUUGGU	864	TCCCTCCGC	1801	CCCTCCGC	2738	CCTCCGC	3675
hsa-miR-659	CUUGGUUCAGGGAGGUCCCA	865	CTGAACCAA	1802	TGAACCAA	2739	GAACCAA	3676
hsa-miR-660	UACCAUUGCAUAUCGGAGUUG	866	GCAATGGGT	1803	CAATGGGT	2740	AATGGGT	3677
hsa-miR-661	UGCCUGGGUCUCUGGCCUGCGGU	867	GACCCAGGC	1804	ACCCAGGC	2741	CCCAGGC	3678
hsa-miR-662	UCCCACGUUGUGGCCAGCAG	868	CAACGTGGG	1805	AACGTGGG	2742	ACGTGGG	3679
hsa-miR-663	AGGCGGGGCGCCGCGGACCGC	869	CGCCCCGCC	1806	GCCCCGCC	2743	CCCCGCC	3680
hsa-miR-663b	GGUGGCCCGCCUGCCUAGG	870	CCGGCCAC	1807	CGGGCCAC	2744	GGGCCAC	3681
hsa-miR-664	UAUUCAUUUUACCCAGCCUACA	871	TAAATGAAT	1808	AAATGAAT	2745	AATGAAT	3682
hsa-miR-664*	ACUGGCUAGGGAAAUGAUUGGAU	872	CCTAGCCAG	1809	CTAGCCAG	2746	TAGCCAG	3683
hsa-miR-665	ACCAGGAGGCUGAGGCCCU	873	GCCTCTGG	1810	CCTCTGG	2747	CTCTGG	3684
hsa-miR-668	UGUCACUCGGCUCGGCCACUAC	874	CGAGTGAC	1811	CGAGTGAC	2748	GAGTGAC	3685
hsa-miR-671-3p	UCCGGUUCUCAGGGCUCACC	875	GAGAACCGG	1812	AGAACCGG	2749	GAACCGG	3686
hsa-miR-671-5p	AGGAAGCCUUGAGGGGUCGAG	876	AGGGCTTCC	1813	GGGCTTCC	2750	GGCTTCC	3687
hsa-miR-675	UGGUGCGGAGAGGCCACAGUG	877	CTCCGCACC	1814	TCCGCACC	2751	CCGCACC	3688
hsa-miR-675b	CUGUAUGCCUCACCCGCUCA	878	GGGCATACA	1815	GGCATACA	2752	GCATACA	3689
hsa-miR-7	UGGAAGACUAGUAUUUGUUGU	879	TAGTCTTCC	1816	AGTCTTCC	2753	GTCTTCC	3690
hsa-miR-7-1*	CAACAAUACAGUCUGCCUA	880	TGATTGTGTT	1817	GATTGTGTT	2754	ATTGTGTT	3691
hsa-miR-7-2*	CAACAAUCCAGUCUACCUAA	881	GGATTGTGTT	1818	GATTGTGTT	2755	ATTGTGTT	3692
hsa-miR-708	AAGGAGCUUACAAUCUAGCUGGG	882	TAAGCTCCT	1819	AAGCTCCT	2756	AGCTCCT	3693
hsa-miR-708*	CAACUAGACUGUGAGCUUCUAG	883	AGTCTAGTT	1820	GTCTAGTT	2757	TCTAGTT	3694
hsa-miR-720	UCUCGUGGGGCCUCCA	884	CCCAGCGAG	1821	CCAGCGAG	2758	CAGCGAG	3695
hsa-miR-744	UCGGGGCUAGGGCUAACAGCA	885	TAGCCCCGC	1822	AGCCCCGC	2759	GCCCCGC	3696
hsa-miR-744*	CUGUAGCCACUAACCUCAACCU	886	TGGCAACA	1823	TGGCAACA	2760	GGCAACA	3697
hsa-miR-758	UUUGUGACCUGGUCCAUAAACC	887	AGGTCAACA	1824	GGTCAACA	2761	GTCAACA	3698
hsa-miR-760	CGGCUCUGGGUCUGUGGGGA	888	CCCAGAGCC	1825	CCAGAGCC	2762	CAGAGCC	3699
hsa-miR-765	UGGAGGAGAAGGAAGGUGAUG	889	TTCTCTTCC	1826	TCTCTTCC	2763	CTCTTCC	3700
hsa-miR-766	ACUCCAGCCCACAGCCUCAGC	890	GGGCTGGAG	1827	GGCTGGAG	2764	GCTGGAG	3701
hsa-miR-767-3p	UCUGCUCUACCCAUUGGUUUUCU	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	GACTACTGG	3706
hsa-miR-802	CAGUAACAAGAUUCAUCCUUGU	896	TTTGTACT	1833	TTGTACT	2770	TGTACT	3707
hsa-miR-873	GCAAGAACUUGUGAGUCUCCU	897	AAGTTCCTG	1834	AGTTCCTG	2771	GTTTCCTG	3708
hsa-miR-874	CUGCCUGGCCCGAGGACCGA	898	GCCAGGGCA	1835	CCAGGGCA	2772	CAGGGCA	3709
hsa-miR-875-3p	CCUGGAAACUCAGGUUGUG	899	TGTTCCAG	1836	GTTCCAG	2773	TTCCAG	3710
hsa-miR-875-5p	UAUACCUCAGUUUAUCAGGUG	900	CTGAGGTAT	1837	TGAGGTAT	2774	GAGGTAT	3711
hsa-miR-876-3p	UGGUGUUUACAAGUAAUUCA	901	TAAACCACC	1838	AAACCACC	2775	AACCACC	3712
hsa-miR-876-5p	UGGAUUUCUUUGGAAUCACCA	902	AAGAAATCC	1839	AGAAATCC	2776	GAAATCC	3713
hsa-miR-877	GUAGAGGAGAUGGCGCAGGG	903	TCTCTCTA	1840	CTCTCTA	2777	TCTCTA	3714
hsa-miR-877*	UCCUCUUCUCCUCCUCCAG	904	GAGAAGAGG	1841	AGAAGAGG	2778	GAAGAGG	3715
hsa-miR-885-3p	AGGCAGCGGGUGUAGUGGAUA	905	CCCCTGCC	1842	CCCTGCC	2779	CGCTGCC	3716
hsa-miR-885-5p	UCCAUAACACUACCCUGCCUCU	906	GTGTAATGG	1843	TGTAATGG	2780	GTAATGG	3717
hsa-miR-886-3p	CGCGGUGCUUACUGACCCUU	907	AGCACCCGC	1844	GCACCCGC	2781	CACCCGC	3718
hsa-miR-886-5p	CGGGUCGGAGUUAGCUAGCGG	908	CTCCGACC	1845	TCCGACC	2782	CCGACC	3719
hsa-miR-887	UGGAACGGGCGCCAUCCGAGG	909	CGCCGTTC	1846	CCC GTTC	2783	CCGTTC	3720
hsa-miR-888	UACUCAAAAAGCUGUCAGUCA	910	TTTTGAGT	1847	TTTGTAGT	2784	TTGTAGT	3721
hsa-miR-888*	GACUGACACCUCUUGGGUGAA	911	GGTGTGAGT	1848	GTGTGAGT	2785	TGTGAGT	3722
hsa-miR-889	UUAAUAUCGGACAACCAUUGU	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	UGCAACUUACCUGAGUCAUUGA	915	GTAAGTTGC	1852	TAAGTTGC	2789	AAGTTGC	3726
hsa-miR-892a	CACUGUGUCCUUUCUGCGUAG	916	GGACACAGT	1853	GACACAGT	2790	ACACAGT	3727
hsa-miR-892b	CACUGGUCUUUCUGGGUAGA	917	GGAGCCAGT	1854	GAGCCAGT	2791	AGCCAGT	3728
hsa-miR-9	UCUUUGGUUAUCUAGCGUAUGA	918	TAACCAAAG	1855	AACCAAAG	2792	ACCAAAG	3729
hsa-miR-9*	AUAAAGCUAGAUAAACGAAAGU	919	CTAGCTTTA	1856	TAGCTTTA	2793	AGCTTTA	3730
hsa-miR-920	GGGGAGCUGUGGAAGCAGUA	920	ACAGCTCCC	1857	CAGCTCCC	2794	AGCTCCC	3731
hsa-miR-921	CUAGUGAGGGACAGAACAGGAUUC	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
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*	AGGUUGGAUCGGUUGCAAUGCU	926	ATCCCAACC	1863	TCCCAACC	2800	CCCACC	3737
hsa-miR-92a-2*	GGGUGGGAUUUGUUGCAUUAAC	927	ATCCCAACC	1864	TCCCAACC	2801	CCCACC	3738
hsa-miR-92b	UAUUGCACUCUGUCCCGGCCUCC	928	GAGTGCAAT	1865	AGTGCAAT	2802	GTGCAAT	3739
hsa-miR-92b*	AGGGACGGGACGCGGUGCAGUG	929	TCCGTCCC	1866	CCGTCCC	2803	CCGTCCC	3740
hsa-miR-93	CAAAGUCUGUUCGUGCAGGUAG	930	CAGCACTTT	1867	AGCACTTT	2804	GCACTTT	3741
hsa-miR-93*	ACUCGUGAGCUAGCACUUCCTCG	931	GCTCAGCAG	1868	CTCAGCAG	2805	TCAGCAG	3742
hsa-miR-933	UGUGCGCAGGGAGACCUCUCCC	932	CTTGCGCAC	1869	CTGCGCAC	2806	TGCGCAC	3743
hsa-miR-934	UGUCUACUACUGGAGACACUGG	933	GTAGTAGAC	1870	TAGTAGAC	2807	AGTAGAC	3744
hsa-miR-935	CCAGUUAACCGCUUCCGUAACCGC	934	CGGTAACGT	1871	GGTAACGT	2808	GTAACGT	3745
hsa-miR-936	ACAGUAGAGGGAGGAUUCGACG	935	CCTTACTG	1872	CTTACTG	2809	TCTACTG	3746
hsa-miR-937	AUCCGCGCUCUGACUCUCUGCC	936	GAGCGCGGA	1873	AGCGCGGA	2810	GCGCGGA	3747
hsa-miR-938	UGCCCUUAAAAGGUGAACCCAGU	937	TTTAAGGGC	1874	TTAAGGGC	2811	TAAGGGC	3748
hsa-miR-939	UGGGAGCUGAGGCUCUGGGGUG	938	CAGCTCCCC	1875	AGCTCCCC	2812	GCTCCCC	3749
hsa-miR-940	AAGGCAGGGCCCCGCUCCCC	939	GCCCTGCCT	1876	CCCTGCCT	2813	CCTGCCT	3750
hsa-miR-941	CACCCGGCUGUGGACACAUGUGC	940	CAGCCGGGT	1877	AGCCGGGT	2814	GCCGGGT	3751
hsa-miR-942	UCUUCUCUGUUUUGGCAUGUG	941	ACAGAGAAG	1878	CAGAGAAG	2815	AGAGAAG	3752
hsa-miR-943	CUGACUGUUGCCGUCUCCAG	942	CAACAGTCA	1879	AACAGTCA	2816	ACAGTCA	3753
hsa-miR-944	AAUUUAUUGUACAUCGGAUGAG	943	ACAATAATT	1880	CAATAATT	2817	AATAATT	3754
hsa-miR-95	UUCAACGGGUUUUUUUGAGCA	944	ACCCGTTGA	1881	CCCCTTGA	2818	CCGTTGA	3755
hsa-miR-96	UUUGGCACUAGCACAUUUUUGCU	945	TAGTGCCAA	1882	AGTGCCAA	2819	GTGCCAA	3756
hsa-miR-96*	AAUCAUGUGCAGUGCCAAUUAUG	946	GCACATGAT	1883	CACATGAT	2820	ACATGAT	3757
hsa-miR-98	UAGAGUAGUAAGUUGUAUUGUU	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	CACCCGUAGAACCAGCCUUGCG	950	TCTACGGGT	1887	CTACGGGT	2824	TACGGGT	3761
hsa-miR-99b*	CAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCG	951	CACGAGCTT	1888	ACGAGCTT	2825	CGAGCTT	3762
hsv1-miR-H1	UGGAAGGACGGGAAGUGGAAG	952	CGTCTTCC	1889	GTCTTCC	2826	TCTTCC	3763
hsv1-miR-H2-3p	CCUGAGCCAGGGACGAGUGCGACU	953	CTGGCTCAG	1890	TGGCTCAG	2827	GGCTCAG	3764
hsv1-miR-H2-5p	UCGCACGCGCCCGGCACAGACU	954	GCGGTGCG	1891	GCGGTGCG	2828	GCGGTGCG	3765
hsv1-miR-H3	CUGGACUGUGCGGUUGGGA	955	ACAGTCCCA	1892	CAGTCCCA	2829	AGTCCCA	3766
hsv1-miR-H4-3p	CUUGCCUGUCUAAUCUCGUAGU	956	GACAGGCAA	1893	ACAGGCAA	2830	CAGGCAA	3767
hsv1-miR-H4-5p	GGUAGAGUUUGACAGGCAAGCA	957	AAACTCTAC	1894	AACTCTAC	2831	ACTCTAC	3768
hsv1-miR-H5	GUCAGAGAUCCAACCUCUCCGG	958	GATCTCTGA	1895	ATCTCTGA	2832	TCTCTGA	3769
hsv1-miR-H6	CACUUCUCCGUCCUCCAUCCC	959	ACGGGAAGT	1896	CGGGAAGT	2833	GGGAAGT	3770
kshv-miR-K12-1	AUUACAGAAACUGGGUGUAAGC	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	UUAAUGCUUAGCCUGUGUCCGA	963	TAAGCATT	1900	AAGCATT	2837	AGCATT	3774
kshv-miR-K12-12	ACCAGGCCACCAUCCUCUCCG	964	GTGGCTGG	1901	TGGCTGG	2838	GGCTGG	3775
kshv-miR-K12-2	AACUGUAGUCCGGGUCGAUCUG	965	GACTACAGT	1902	ACTACAGT	2839	CTACAGT	3776
kshv-miR-K12-3	UCACAUCUGAGGACGGCAGCGA	966	CAGAAATGTG	1903	AGAAATGTG	2840	GAATGTG	3777
kshv-miR-K12-3*	UCGCGGUCACAGAAUGGACACA	967	GTGACCGCG	1904	TGACCGCG	2841	GACCGCG	3778
kshv-miR-K12-4-3p	UAGAAUACUGAGGCCUAGCUGA	968	CAGTATTCT	1905	AGTATTCT	2842	GTATTCT	3779

ES 2 689 508 T3

kshv-miR-K12-4-5p	AGCUAAACCGCAGUACUCUAGG	969	CGGTTAGC	1906	GGTTTAGC	2843	GTTTAGC	3780
kshv-miR-K12-5	UAGGAUGCCUGGAACUUGCCGG	970	AGGCATCCT	1907	GGCATCCT	2844	GCATCCT	3781
kshv-miR-K12-6-3p	UGAUGGUUUUCGGGCUUGAG	971	AAAACCATC	1908	AAACCATC	2845	AACCATC	3782
kshv-miR-K12-6-5p	CCAGCAGCACCUAUCCAUCGG	972	GTGCTGCTG	1909	TGCTGCTG	2846	GCTGCTG	3783
kshv-miR-K12-7	UGAUCCCAUGUUGCUGGCGCU	973	CATGGGATC	1910	ATGGGATC	2847	TGGGATC	3784
kshv-miR-K12-8	UAGGCGGACUGAGAGAGCAG	974	GTCGCGCCT	1911	TCGCGCCT	2848	CGCGCCT	3785
kshv-miR-K12-9	CUGGGUUAACGCAGCUGCGUAA	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	
5	<120>	Micromir	
	<130>	1051WO	
10	<150>	US 60/977497	
	<151>	04/10/2007	
	<150>	US 60/979217	
	<151>	11/10/2007	
15	<150>	US 61/028062	
	<151>	12/02/2008	
	<150>	EP08104780.5	
20	<151>	17/07/2008	
	<160>	980	
	<170>	PatentIn versión 3.5	
25	<210>	1	
	<211>	15	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
30	<220>		
	<223>	Secuencia semilla, opcionalmente completamente fosforotioato de LNA	
	<220>		
35	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(15)	
	<223>	Enlaces de fosforotioato, LNA en las posiciones 1, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 14 y 15, de lo contrario, ADNnts.	
	<400>	1	
40		tcagtctgat aagct	15
	<210>	2	
	<211>	8	
	<212>	ADN	
45	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
50	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(8)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
	<400>	2	
55		gataagct	8
	<210>	3	
	<211>	15	
	<212>	ADN	
60	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
65	<220>		

ES 2 689 508 T3

	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(15)	
	<223>	Enlaces de fosforotioato, LNA en las posiciones 1, 3, 5, 6, 7, 10, 12, 14 y 15, de lo contrario, ADNnts.	
5	<400>	3	
		tcacaattag catta	15
	<210>	4	
	<211>	8	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
15	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(8)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
20	<400>	4	
		tagcatta	8
	<210>	5	
25	<211>	15	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(15)	
35	<223>	Enlaces de fosforotioato, LNA en las posiciones 1, 3, 6, 7, 8, 10, 12, 14 y 15, de lo contrario, ADNnts.	
	<400>	5	
		ccattgtcac actcc	15
40	<210>	6	
	<211>	8	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
50	<222>	(1)..(8)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
	<400>	6	
		cacactcc	
55	<210>	7	
	<211>	6	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		

	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(6)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
5	<400>	7	
		taagct	6
	<210>	8	
	<211>	7	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
15	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(7)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
20	<400>	8	
		ataagct	7
	<210>	9	
25	<211>	9	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(9)	
35	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
	<400>	9	
		tgataagct	9
40	<210>	10	
	<211>	10	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
50	<222>	(1)..(10)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
	<400>	10	
		ctgataagct	10
55	<210>	11	
	<211>	12	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		

	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(12)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
5	<400>	11	
		gtctgataag ct	12
	<210>	12	
	<211>	14	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
15	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(14)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
20	<400>	12	
		cagtctgata agct	14
	<210>	13	
25	<211>	8	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(8)	
35	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
	<400>	13	
		tctgataa	8
40	<210>	14	
	<211>	8	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
45	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
50	<222>	(1)..(8)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
	<400>	14	
		atcagtct	8
55	<210>	15	
	<211>	8	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
65	<221>	misc_feature	

ES 2 689 508 T3

	<222>	(1)..(8)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
	<400>	15	
5		tcaacatc	8
	<210>	16	
	<211>	8	
	<212>	ADN	
10	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
15	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(8)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
20	<400>	16	
		ggtaaact	8
	<210>	17	
	<211>	8	
25	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
30	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(8)	
	<223>	Enlaces completamente de LNA y fosforotioato	
35	<400>	17	
		cgtaatga	8
	<210>	18	
40	<211>	16	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
45	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(16)	
50	<223>	Gapmero de LNA 3LNA-9DNA-3LNA-1DNA, marcador 5 'FAM, enlaces de fosforotioato.	
	<400>	18	
		tcagtctgat aagcta	16
55	<210>	19	
	<211>	8	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
60	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		

	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(8)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos	
5	<400>	19	
		accacttt	
	<210>	20	
	<211>	8	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
15	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(8)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos	
20	<400>	20	
		atttgcac	8
	<210>	21	
25	<211>	15	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligómero de LNA	
	<400>	21	
		agcagacaat gtagc	15
35	<210>	22	
	<211>	15	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<400>	22	
		gtagccagat gtagc	15
45	<210>	23	
	<211>	7	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
55	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(7)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos	
	<400>	23	
60		atotaac	
	<210>	24	
	<211>	15	
	<212>	ADN	
65	<213>	Secuencia artificial	

	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
5	<400>	24	
		acaacctact acctc	15
	<210>	25	
	<211>	8	
10	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
15	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(8)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos	
20	<400>	25	
		actacctc	8
	<210>	26	
25	<211>	15	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
30	<223>	Oligómero de LNA	
	<400>	26	
		cactgtcagc acttt	15
35	<210>	27	
	<211>	15	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<400>	27	
		tgcatagatt tgcac	15
45	<210>	28	
	<211>	7	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
55	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(7)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos	
	<400>	28	
60		gtagact	7
	<210>	29	
	<211>	6	
	<212>	ADN	

ES 2 689 508 T3

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(6)	
10	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos	
	<400>	29	
	tacctc		6
	<210>	30	
15	<211>	7	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
20	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(7)	
25	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos	
	<400>	30	
	ctacctc		7
30	<210>	31	
	<211>	9	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
40	<222>	(1)..(9)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos, N = Base universal	
	<400>	31	
	tntacctc		9
45	<210>	32	
	<211>	9	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
50	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
55	<222>	(1)..(9)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos, N = Base universal	
	<400>	32	
60	tntacctc		9
	<210>	33	
	<211>	15	
	<212>	ADN	

	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
5	<400>	33	
		gcaacctact acctc	15
	<210>	34	
10	<211>	15	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
15	<223>	Oligómero de LNA	
	<400>	34	
		acaacctcct acctc	15
20	<210>	35	
	<211>	15	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
25	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<400>	35	
		acaacctcct acctc	15
30	<210>	36	
	<211>	7	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
35	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
40	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(7)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos,	
	<400>	36	
45		ctacctc	7
	<210>	37	
	<211>	7	
	<212>	ADN	
50	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
55	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(7)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos,	
60	<400>	37	
		ctaactc	7
	<210>	38	
	<211>	9	

	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
	<220>		
5	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(9)	
10	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos,	
	<400>	38	
		ttagcatta	9
15	<210>	39	
	<211>	9	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
25	<222>	(1)..(9)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos,	
	<400>	39	
		ttagcatta	9
30	<210>	40	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Virus de Epstein Barr	
35	<210>	40	
		uagcaccgcu auccacuaug uc	22
40	<210>	41	
	<211>	24	
	<212>	ARN	
	<213>	Virus de Epstein Barr	
	<400>	41	
45		ucuuagugga agugacgugc ugug	24
	<210>	42	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
50	<213>	Virus de Epstein Barr	
	<400>	42	
		uacauaacca uggaguuggc ugu	23
55	<210>	43	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Virus de Epstein Barr	
60	<400>	43	
		gccaccucuu ugguucugua ca	22
	<210>	44	
	<211>	21	

	<211>	24		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
5	<400>	52	uuagauagag uggugugugucu	24
	<210>	53		
	<211>	23		
10	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	53	uguaugccug gugucccuu agu	23
15	<210>	54		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
20	<400>	54	uaagaggacg caggcauaca ag	22
	<210>	55		
25	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	55	uaucggaagu uuggguucg uc	22
30	<210>	56		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
35	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	56	ucaaguucgc acuuccuaua ca	22
40	<210>	57		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
45	<400>	57	uuuuguuugc uugggaugc u	21
	<210>	58		
	<211>	23		
50	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	58	acauuccccg caaacaugac aug	23
55	<210>	59		
	<211>	24		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
60	<400>	59	aaggagcgau uuggagaaaa uaaa	24

	<210>	60		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
5	<400>	60		
		uaauuucugc auucgccuu gc		22
10	<210>	61		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	61		
15		caugaaggca cagccuguua cc		22
20	<210>	62		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	62		
		uagcaggcau gucucauuc c		21
25	<210>	63		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
30	<400>	63		
		cgcaccacua gucaccaggu gu		22
35	<210>	64		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	64		
40		accuaguguu aguguugugc u		21
45	<210>	65		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	65		
		gaccugaugc ugcuggugug cu		22
50	<210>	66		
	<211>	24		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	66		
55		caaggugaau auagcugccc aucg		24
60	<210>	67		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	67		
		cggggaucgg acuagccuaa ga		22

	<210>	68		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
5	<400>	68		
		uaagguuggu ccaauccaua gg		22
10	<210>	69		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
15	<400>	69		
		caucauaguc caguguccag gg		22
20	<210>	70		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
25	<400>	70		
		ccuggaccuu gacuaugaaa ca		22
30	<210>	71		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
35	<400>	71		
		uacgguuucc uagauuguac ag		22
40	<210>	72		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
45	<400>	72		
		gucacaaucu auggggucgu aga		23
50	<210>	73		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
55	<400>	73		
		uaacacuuca ugggucccggu agu		23
60	<210>	74		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
65	<400>	74		
		uacuggaccc ugaauuggaa ac		22
70	<210>	75		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
75	<400>	75		
		uaaccugauc agccccggag uu		22

ES 2 689 508 T3

	<210>	76		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	76		
		uaucuuuugc ggcagaaau ga		22
10	<210>	77		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
15	<400>	77		
		aaauucuguu gcagcagaua gc		22
	<210>	78		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Virus de Epstein Barr		
	<400>	78		
		uaacgggaag uguguaagca ca		22
25	<210>	79		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Citomegalovirus humano		
30	<400>	79		
		aagugacggu gagauccagg cu		22
	<210>	80		
35	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Citomegalovirus humano		
	<400>	80		
40		ucguccuccc cuucuucacc g		21
	<210>	81		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
45	<213>	Citomegalovirus humano		
	<400>	81		
		uaacuagccu ucccgugaga		20
50	<210>	82		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Citomegalovirus humano		
55	<400>	82		
		ucaccagaau gcuaguugu ag		22
	<210>	83		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Citomegalovirus humano		
	<400>	83		
		ucguugaaga caccuggaaa ga		22

	<210>	84	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
5	<213>	Citomegalovirus humano	
	<400>	84	
		uuuccaggug uuuucaacgu gc	22
10	<210>	85	
	<211>	20	
	<212>	ARN	
	<213>	Citomegalovirus humano	
15	<400>	85	
		ggggaugggc uggcgcgcgg	20
	<210>	86	
	<211>	21	
20	<212>	ARN	
	<213>	Citomegalovirus humano	
	<400>	86	
		ugcgucucgg ccucguccag a	21
25	<210>	87	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Citomegalovirus humano	
30	<400>	87	
		aaccgcucag uggcucggac c	21
	<210>	88	
35	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Citomegalovirus humano	
	<400>	88	
40		uccgaacgcu aggucgguuc uc	22
	<210>	89	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
45	<213>	Citomegalovirus humano	
	<400>	89	
		auccacuugg agagcucccg cgg	23
50	<210>	90	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Citomegalovirus humano	
55	<400>	90	
		agcggucugu ucagguggau ga	22
	<210>	91	
	<211>	20	
60	<212>	ARN	
	<213>	Citomegalovirus humano	
	<400>	91	

		ucacgguccg agcacaucca	20
		<210> 92	
		<211> 22	
5		<212> ARN	
		<213> Citomegalovirus humano	
		<400> 92	
		gauugugccc ggaccguggg cg	22
10		<210> 93	
		<211> 22	
		<212> ARN	
		<213> Citomegalovirus humano	
15		<400> 93	
		cgacauggac gugcaggggg au	22
		<210> 94	
20		<211> 21	
		<212> ARN	
		<213> Citomegalovirus humano	
		<400> 94	
25		ugacaagccu gacgagagcg u	21
		<210> 95	
		<211> 22	
		<212> ARN	
30		<213> Citomegalovirus humano	
		<400> 95	
		uuaugauagg ugugacgaug uc	22
35		<210> 96	
		<211> 22	
		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	
40		<400> 96	
		ugagguagua gguuguauag uu	22
		<210> 97	
		<211> 21	
45		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	
		<400> 97	
50		cuauacaauc uacugucuuu c	21
		<210> 98	
		<211> 22	
		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	
55		<400> 98	
		ugagguagua gguugugugg uu	22
		<210> 99	
60		<211> 22	
		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	

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

	<400>	107		
			cuauacaauC uauugccuuc cC	22
5	<210>	108		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	108		
			cuauacaauC uauugccuuc cC	22
	<210>	109		
	<211>	22		
15	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	109		
			ugagguagua guuuguacag uu	22
20	<210>	110		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	110		
			cuguacaggc cacugccuug c	21
	<210>	111		
30	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	111		
35			ugagguagua guuugugcug uu	22
	<210>	112		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
40	<213>	Homo sapiens		
	<400>	112		
			cugcgcaagc uacugccuug cu	22
45	<210>	113		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	113		
			uggaauguaa agaaguaugu au	22
	<210>	114		
	<211>	22		
55	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	114		
			aaccCGuaga uccgaacuug ug	22
60	<210>	115		
	<211>	22		
	<212>	ARN		

	<213>	Homo sapiens	
	<400>	115	
		caagcuugua ucuauaggua ug	22
5	<210>	116	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
10	<400>	116	
		uacaguacug ugauaacuga a	21
	<210>	117	
15	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	117	
20		caguuauacac agugcugaug cu	22
	<210>	118	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
25	<213>	Homo sapiens	
	<400>	118	
		agcagcauug uacagggcua uga	23
30	<210>	119	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
35	<400>	119	
		ucauagcccu guacaaugcu gcu	23
	<210>	120	
	<211>	23	
40	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	120	
45		ucaaauugcuc agacuccugu ggu	23
	<210>	121	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
50	<400>	121	
		acggauguuu gagcaugugc ua	22
	<210>	122	
55	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	122	
60		aaaagugcuu acagugcagg uag	23
	<210>	123	
	<211>	22	

	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	123		
5		cugcaaugua agcacuucuu ac		22
	<210>	124		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
10	<213>	Homo sapiens		
	<400>	124		
		uaaagugcug acagugcaga u		21
15	<210>	125		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
20	<400>	125		
		ccgcacugug gguacuugcu gc		22
	<210>	126		
	<211>	23		
25	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	126		
30		agcagcauug uacagggcua uca		23
	<210>	127		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
35	<400>	127		
		uaccuugag aaccgaauuu gug		23
	<210>	128		
40	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	128		
45		caauucgua ucuaggggaa ua		22
	<210>	129		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
50	<213>	Homo sapiens		
	<400>	129		
		uaccuugag aaccgaauuu gug		23
55	<210>	130		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
60	<400>	130		
		acagauucga uucuagggga au		22
	<210>	131		
	<211>	21		

	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	131	
5		uugcucacug uucuuccua g	21
	<210>	132	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
10	<213>	Homo sapiens	
	<400>	132	
		aagcauucuu ucauugguug g	21
15	<210>	133	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
20	<400>	133	
		uuuccggcuc gcgugggugu gu	22
	<210>	134	
	<211>	21	
25	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	134	
		ccgucgccgc cacccgagcc g	21
30	<210>	135	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
35	<400>	135	
		gagggucuug ggaggggaugu gac	23
	<210>	136	
40	<211>	27	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	136	
45		cacuguaggu gauggugaga gugggca	27
	<210>	137	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
50	<213>	Homo sapiens	
	<400>	137	
		ccugcagcga cuugauggcu ucc	23
55	<210>	138	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
60	<400>	138	
		agaggauacc cuuuguaugu u	21
	<210>	139	
	<211>	21	

	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	139	
5		uaggacacau ggucuacuuc u	21
	<210>	140	
	<211>	22	
10	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	140	
		cuccugagcc auucugagcc uc	22
15	<210>	141	
	<211>	24	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
20	<400>	141	
		agccuugauuuu aacacauuuccu cuua	24
	<210>	142	
	<211>	21	
25	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	142	
		gugccagcug caguggggga g	21
30	<210>	143	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
35	<400>	143	
		cccggagcca ggaugcagcu c	21
40	<210>	144	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	144	
45		ucguggccug gucuccauua u	21
	<210>	145	
	<211>	20	
	<212>	ARN	
50	<213>	Homo sapiens	
	<400>	145	
		ucugcaggggu uugcuuugag	20
55	<210>	146	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
60	<400>	146	
		uguucaugua gauguuaag c	21
	<210>	147	

	<211> 18		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 147	ucagcuggcc cucauuuc	18
	<210> 148		
10	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 148	uggcagggag gcugggagg g	21
15	<210> 149		
	<211> 20		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
20	<400> 149	ucacuuuca cacacccca	
	<210> 150		
25	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 150	uggaguguga caaugguguu ug	22
30	<210> 151		
	<211> 22		
	<212> ARN		
35	<213> Homo sapiens		
	<400> 151	aacgccauua ucacacuaaa ua	22
40	<210> 152		
	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 152	ccccaccucc ucucuccuca g	21
	<210> 153		
50	<211> 19		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 153	gugaggacuc gggaggugg	19
55	<210> 154		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
60	<400> 154	ugagccccug ugccgcccc ag	22

ES 2 689 508 T3

	<210>	155		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	155		
		guggguacgg cccagugggg gg		22
10	<210>	156		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	156		
		ucaccagccc uguguucccu ag		22
20	<210>	157		
	<211>	26		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	157		
		gugagggcau gcaggccugg augggg		26
25	<210>	158		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	158		
		cgugccaccc uuuucccag		20
35	<210>	159		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
40	<400>	159		
		ucacaccugc cugccccc		20
45	<210>	160		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	160		
		uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uu		21
55	<210>	161		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	161		
		cucucaccac ucccuccca caa		23
60	<210>	162		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	162		
		gugucugggc ggacagcugc		20

ES 2 689 508 T3

	<210>	163		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	163		
		ugagcccugu ccuccgcag		20
	<210>	164		
10	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	164		
15		ucggccugac caccacccc ac		22
	<210>	165		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
20	<213>	Homo sapiens		
	<400>	165		
		ccucuucccc uuucucucc ag		22
25	<210>	166		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	166		
		uccuucugcu ccgucccca g		21
	<210>	167		
	<211>	20		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	167		
40		cuuccucguc ugucugcccc		20
	<210>	168		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	168		
		uaaggcacgc ggugaugcc		20
	<210>	169		
50	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	169		
55		cguguucaca gcggaccuug au		22
	<210>	170		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
60	<213>	Homo sapiens		
	<400>	170		
		aacuggauca auuauaggag ug		22

ES 2 689 508 T3

	<210>	171	
	<211>	26	
	<212>	ARN	
5	<213>	Homo sapiens	
	<400>	171	
		aaguaguugg uuuguugag augguu	26
10	<210>	172	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	172	
		aagugaucua aaggccuaca u	21
	<210>	173	
	<211>	19	
20	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	173	
		aauggauuuu uggagcagg	19
25	<210>	174	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	174	
		acccgucccg uucgucccg ga	22
	<210>	175	
35	<211>	27	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	175	
40		accuucuugu auaagcacug ugcuaaa	27
	<210>	176	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
45	<213>	Homo sapiens	
	<400>	176	
		acgcccucc ccccuucuu ca	22
50	<210>	177	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	177	
		acggugcugg auguggccuu u	21
	<210>	178	
	<211>	21	
60	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	178	
		acucuagcug ccaaaggcg u	21

	aguuaggauu aggucgugga a	21
	<210> 187	
	<211> 21	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 187	
	auauaugaug acuuagcuuu u	21
10	<210> 188	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 188	
	acaggugagg uucuugggag cc	22
	<210> 189	
20	<211> 24	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 189	
25	ucccugagac ccuuuaaccu guga	24
	<210> 190	
	<211> 22	
	<212> ARN	
30	<213> Homo sapiens	
	<400> 190	
	ucccugagac ccuaacuugu ga	22
35	<210> 191	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 191	
	acggguuagg cucuugggag cu	22
	<210> 192	
45	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 192	
50	ucacaaguca ggcucuuggg ac	22
	<210> 193	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 193	
	ucguaccgug aguaauaug cg	22
60	<210> 194	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	

	<400>	194		
		cauuauuacu uuugguacgc g		21
5	<210>	195		
	<211>	18		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	195		
		aucccaccuc ugccacca		18
	<210>	196		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
15	<213>	Homo sapiens		
	<400>	196		
		auggauaagg cuuuggcuu		19
20	<210>	197		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	197		
		augggugaau uuguagaagg au		22
	<210>	198		
	<211>	22		
30	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	198		
		augguacccu ggcauacuga gu		22
35	<210>	199		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
40	<400>	199		
		caatucuuau uuatcaccu tuu		23
45	<210>	200		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	200		
		caatucuuau uuatcaccu tuu		23
	<210>	201		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
55	<213>	Homo sapiens		
	<400>	201		
		ccucagggcu guagaacagg gcu		23
60	<210>	202		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		

	<400>	202		
			ccucuuuuaaa uuaaaucuccc a	21
5	<210>	203		
	<211>	18		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	203		
			cgggcguggu gguggggg	18
	<210>	204		
	<211>	22		
15	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	204		
			cuggacugag ccgugcuacu gg	22
20	<210>	205		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	205		
			ucggauccgu cugagcuugg cu	22
	<210>	206		
30	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	206		
35			cugaagcuca gagggcucug au	22
	<210>	207		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
40	<213>	Homo sapiens		
	<400>	207		
			cuggagauau ggaagagcug ugu	23
45	<210>	208		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	208		
			cuuggcaccu agcaagcacu ca	22
	<210>	209		
	<211>	26		
55	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	209		
			gaugaugaug gcagcaaaau cugaaa	26
60	<210>	400		
	<211>	25		
	<212>	ARN		

	<210>	226		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	226		
		ugcuggauca gugguucgag uc		22
10	<210>	227		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	227		
15		uggacugccc ugaucuggag a		21
	<210>	228		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
20	<213>	Homo sapiens		
	<400>	228		
		uggaguccag gaucugcau uuu		23
25	<210>	229		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	229		
		aagcccuuac cccaaaaagu au		22
	<210>	230		
	<211>	22		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	230		
40		aagcccuuac cccaaaaagc au		22
	<210>	231		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	231		
		cuuuuugcgg ucugggcuug c		21
50	<210>	232		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	232		
55		uggauuuug gaucagga		19
	<210>	233		
	<211>	24		
	<212>	ARN		
60	<213>	Homo sapiens		
	<400>	233		
		uggcccuagc ugaagaccag cagu		24

ES 2 689 508 T3

	<210>	234		
	<211>	25		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	234		
		ugggaacggg uuccggcaga cgcug		25
10	<210>	235		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	235		
		uggguggucu ggagauuugu gc		22
	<210>	236		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	236		
		ugugagguug gcauuguugu cu		22
25	<210>	237		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	237		
		uuaggccgca gaucugggug a		21
	<210>	238		
35	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	238		
40		uuagggcccu ggcuccaucu cc		22
	<210>	239		
	<211>	17		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	239		
		uucaaguaau ucaggug		17
50	<210>	240		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	240		
		uucauucggc uguccaug ua		22
	<210>	241		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	241		

		uucuggaauu cugugugagg ga	22
5	<210>	242	
	<211>	18	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	242	
10		uugagaagga ggcugcug	18
	<210>	243	
	<211>	24	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	243	
		uugcagcugc cugggaguga cuuc	24
20	<210>	244	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
25	<400>	244	
		uugggacaua cuuaugcuaa a	21
30	<210>	245	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	245	
35		uuuagagaca aaucuuacu cu	22
	<210>	246	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
40	<400>	246	
		uuugaggcua cagugaug ug	22
45	<210>	247	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	247	
50		uuuucaacuc uaaugggaga ga	22
	<210>	248	
	<211>	18	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	248	
		acguuggcuc ugguggug	18
60	<210>	249	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	

	<400>	249		
		acucggcgug gcgucggucg ug		22
5	<210>	250		
	<211>	18		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	250		
		gcauggggugg uucagugg		18
	<210>	251		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
15	<213>	Homo sapiens		
	<400>	251		
		cagugcaaug uaaaaagggc au		22
20	<210>	252		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	252		
		uucacauugu gcuacugucu gc		22
	<210>	253		
	<211>	22		
30	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	253		
		cagugcaaug augaaagggc au		22
35	<210>	254		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
40	<400>	254		
		acucuuccc uguugcacua c		21
	<210>	255		
45	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	255		
50		uaacagucua cagccauggu cg		22
	<210>	256		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
55	<213>	Homo sapiens		
	<400>	256		
		accguggcuu ucgauuguua cu		22
60	<210>	257		
	<211>	18		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		

	<400>	257	cagggaggug aaugugau	18
5	<210>	258		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	258	gaugaugcug cugaugcug	19
	<210>	259		
	<211>	22		
15	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	259	ucaaaacuga ggggcuuuu cu	22
20	<210>	260		
	<211>	24		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	260	ccagacagaa uucuaugcac uuuc	24
	<210>	261		
30	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	261	uuuggucccc uucaaccagc ug	22
35	<210>	262		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
40	<213>	Homo sapiens		
	<400>	262	uuuggucccc uucaaccagc ua	22
45	<210>	263		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	263	ugugacuggu ugaccagagg gg	22
	<210>	264		
	<211>	23		
55	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	264	uauccuuuu uauccuauq uqa	23
60	<210>	265		
	<211>	22		
	<212>	ARN		

ES 2 689 508 T3

	<213>	Homo sapiens	
	<400>	265	
		uauagggauu ggagccgugg cg	22
5	<210>	266	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
10	<400>	266	
		uauggcuuuu cauuccuaug uga	23
	<210>	267	
15	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	267	
20		auuuuuuuuu aaaaauuuuu uu	22
	<210>	268	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
25	<213>	Homo sapiens	
	<400>	268	
		acuccauuug uuuugaugau gga	23
30	<210>	269	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
35	<400>	269	
		caucaucguc ucaaauagagu cu	22
	<210>	270	
40	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	270	
		uuauugcuua agaaucgcg uag	23
45	<210>	271	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
50	<400>	271	
		agcugguguu gugaaucagg ccg	23
	<210>	272	
55	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	272	
60		uuuuuuuuuu aacaccuuuu uu	22
	<210>	273	
	<211>	22	

	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	273	
5		σCUAUUUCAC σACACCAσσσ UU	22
	<210>	274	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
10	<213>	Homo sapiens	
	<400>	274	
		ggagacgcgg cccuguugga gu	22
15	<210>	275	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
20	<400>	275	
		UCUACAGUGC acgugucucc ag	22
	<210>	276	
	<211>	21	
25	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	276	
		uaccacaggg uagaaccacg g	21
30	<210>	277	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
35	<400>	277	
		cagugguuuu acccuauggu ag	22
40	<210>	278	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	278	
45		uaacacuguc ugguaaagau gg	22
	<210>	279	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
50	<213>	Homo sapiens	
	<400>	279	
		caucuuccag uacaguguug ga	22
55	<210>	280	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
60	<400>	280	
		uguaguguuu ccuacuuuau gga	23

ES 2 689 508 T3

	<210>	281		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	281		
		cauaaaguag aaagcacuac u		21
10	<210>	282		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	282		
		ugagaugaag cacuguagcu c		21
20	<210>	283		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	283		
		ggugcagugc ugcaucucug gu		22
30	<210>	284		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
35	<400>	284		
		uacaguaauag augauguacu		20
40	<210>	285		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	285		
		cccccauuuuu ccccauuuuu ccc		22
50	<210>	286		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	286		
		uuucccauuuuu ccccauuuuu ccc		23
60	<210>	287		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
65	<400>	287		
		ggauuccugg aaauacuguu cu		22
70	<210>	288		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
75	<400>	288		
		cuccguuugc cuguuucgcu g		21

	<400>	304		
		ucucccaacc cuuguaccag ug		22
5	<210>	305		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	305		
		cugguacagg ccugggggac ag		22
	<210>	306		
	<211>	21		
15	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	306		
		cuagacugaa acuccuuga a		21
20	<210>	307		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	307		
		ucgaggagcu cacagucuag u		21
	<210>	308		
30	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	308		
35		ucagugcaug acagaacuug g		21
	<210>	309		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
40	<213>	Homo sapiens		
	<400>	309		
		uugcauaguc acaaaaguga uc		22
	<210>	310		
45	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	310		
50		aaaaccgucu aguuacaguu gu		22
	<210>	311		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
55	<213>	Homo sapiens		
	<400>	311		
		cggcccgggc ugcugcuguu ccu		23
60	<210>	312		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		

	<400>	312	uccugcgcgu cccagaugcc c	21
5	<210>	313		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	313	uagguuaucc guguugccuu cg	22
	<210>	314		
	<211>	22		
15	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	314	aaucuaacac gguugaccua uu	22
20	<210>	315		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	315	uuaaugcuaa ucgugauagg ggu	23
	<210>	316		
30	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	316	cuccuacaua uuagcauuaa ca	22
35	<210>	317		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
40	<213>	Homo sapiens		
	<400>	317	uagcagcaca uaaugguuug ug	22
45	<210>	318		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	318	caggccauau ugugcugccu ca	22
	<210>	319		
	<211>	22		
55	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	319	uagcagcaca ucaugguuua ca	22
60	<210>	320		
	<211>	22		
	<212>	ARN		

	<213>	Homo sapiens	
	<400>	320	
		cgaaucuuu uuugcugcuc ua	22
5	<210>	321	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
10	<400>	321	
		uagcagcacg uaaauuugg cg	22
15	<210>	322	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
20	<400>	322	
		ccaguauuaa cugucugcu ga	22
25	<210>	323	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	323	
		ccaauuuac ugucugcuu ua	22
35	<210>	324	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
40	<400>	324	
		caaagucuu acagucagg uag	23
45	<210>	325	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
50	<400>	325	
		acugcaguga aggcacuugu ag	22
55	<210>	326	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
60	<400>	326	
		aacauucaac gcugcggug agu	23
65	<210>	327	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
70	<400>	327	
		accaucgacc guugauugua cc	22
75	<210>	328	

	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	328	accacugacc guugacugua cc	22
	<210>	329		
	<211>	23		
10	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	329	aacauucauu gcugucggug ggu	23
15	<210>	330		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
20	<400>	330	aacauucaac cuqucquqa qu	22
	<210>	331		
25	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	331	aaccaucgac cguugagugg ac	22
	<210>	332		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
35	<213>	Homo sapiens		
	<400>	332	aacauucauu guugucggug ggu	23
40	<210>	333		
	<211>	24		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	333	uuuggcaaug guagaacuca cacu	24
	<210>	334		
	<211>	21		
50	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	334	ugguucuaga cuugccaacu a	21
55	<210>	335		
	<211>	18		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
60	<400>	335	uccagugccc uccucucc	18

	<210>	336	
	<211>	27	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	336	
		auugaucauc gacacuucga acgcaau	27
10	<210>	337	
	<211>	18	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	337	
15		uagaccacua cauucaau	18
	<210>	338	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
20	<213>	Homo sapiens	
	<400>	338	
		uagaccacua cauucaau	22
25	<210>	339	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	339	
		gugaauuacc gaagggccau aa	22
	<210>	340	
	<211>	22	
35	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	340	
		uggacggaga acugauaagg gu	22
40	<210>	341	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
45	<400>	341	
		uggagagaaa ggcaguuccu ga	22
	<210>	342	
50	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	342	
55		aggggcuggc uuuccucugg uc	22
	<210>	343	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
60	<213>	Homo sapiens	
	<400>	343	
		caaagaauc uccuuuggg cu	22

	<210>	344	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	344	
		caaagaauc uccuuuugg cu	22
	<210>	345	
10	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	345	
15		ucgugucuug uguugcagcc gg	22
	<210>	346	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
20	<213>	Homo sapiens	
	<400>	346	
		ggcuacaaca caggacccgg gc	22
25	<210>	347	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	347	
		cuccacaug cagguuugc a	21
	<210>	348	
	<211>	21	
35	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	348	
		caucccuugc augguggagg g	21
40	<210>	349	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
45	<400>	349	
		uaaggugcau cuagugcaga uag	23
	<210>	350	
50	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	350	
55		acugccuaa gugcuccuuc ugg	23
	<210>	351	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
60	<213>	Homo sapiens	
	<400>	351	
		uaaggugcau cuagugcagu uag	23

ES 2 689 508 T3

	<210>	352		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	352		
		ugcccuaaau gcc<u>ccuucug</u> gc		22
10	<210>	353		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	353		
		ug<u>auauguuu</u> gau<u>auuuag</u> gu		22
20	<210>	354		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	354		
		cggcggggac ggcgauuggu c		21
25	<210>	355		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	355		
		cgcaggggccc gggugcucac cg		22
35	<210>	356		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	356		
		ugagugccgg ugccugcc<u>cu</u> g		21
40	<210>	357		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	357		
		ug<u>auauguuu</u> gau<u>uuuggu</u> u		21
50	<210>	358		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	358		
		caacgg<u>aauc</u> c<u>aaaagcag</u> cug		23
60	<210>	359		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	359		
		gcugcg<u>cuug</u> gau<u>uucgucc</u> cc		22

	<210>	360	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	360	
		ccaguccugu gccugccgc u	21
10	<210>	361	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	361	
		ugaguaccgc caugucuguu ggg	23
20	<210>	362	
	<211>	20	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	362	
		caccaggcau uguggucucc	20
25	<210>	363	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	363	
		uaccagagc augcagugug aa	22
35	<210>	364	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	364	
		ucugccccc u ccgcugcugc ca	22
40	<210>	365	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
45	<400>	365	
		cccuuguccc ggcccacuuc ug	22
50	<210>	366	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	366	
		ggaggggucc cgcacugga gg	22
60	<210>	367	
	<211>	20	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	367	
		ccccagggcg acgcggcggg	20

ES 2 689 508 T3

	<210>	368	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	368	
		accuugccuu gcugcccggg cc	22
10	<210>	369	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	369	
		cugaccuaug aaugacagc c	21
20	<210>	370	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	370	
		cugccaauuc cauaggucac ag	22
25	<210>	371	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	371	
		aacuggccua caaaguccca gu	22
35	<210>	372	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	372	
		ugggucuuug cgggcgagau ga	22
40	<210>	373	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
45	<400>	373	
		aacuggcccu caaagucccg cu	22
50	<210>	374	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	374	
		cgggguuuug agggcgagau ga	22
60	<210>	375	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	375	
		uguaacagca acuccaugug ga	22

	<210>	376	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	376	
		ccaguggggc ugcuguauc ug	22
10	<210>	377	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	377	
15		uagcagcaca gaaauuugg c	21
20	<210>	378	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	378	
		ccaauuugg cugugcugcu cc	22
25	<210>	379	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	379	
30		uagguaguu cauguugug gg	22
35	<210>	380	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	380	
40		cggcaacaag aaacugccug ag	22
45	<210>	381	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	381	
		uagguaguu ccuguugug gg	22
50	<210>	382	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	382	
55		uucaccaccu ucuccaccca gc	22
60	<210>	383	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	383	
		gguccagagg ggagauaggu uc	22

ES 2 689 508 T3

	<210>	384		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	384		
		cccaguguuc agacuaccug uuc		23
10	<210>	385		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	385		
15		acaguagucu gcacauuggu ua		22
20	<210>	386		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	386		
		cccaguguuu agacuaucug uuc		23
25	<210>	387		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	387		
		ugugcaaauc uaugcaaaac uga		23
35	<210>	388		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	388		
40		aguuuugcau aguugcacua ca		22
45	<210>	389		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	389		
		ugugcaaauc caugcaaaac uga		23
50	<210>	390		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	390		
55		aguuuugcag guuugcaucc agc		23
60	<210>	391		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	391		
		aguuuugcag guuugcauuu ca		22

	<210>	392		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	392		
		uaacacuguc	ugguaacgau	gu
				22
10	<210>	393		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	393		
		caucuuaccg	gacagugcug	ga
				22
20	<210>	394		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	394		
		uaauacugcc	ugguaaugau	ga
				22
25	<210>	395		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	395		
		caucuuacug	ggcagcauug	ga
				22
35	<210>	396		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	396		
		uaauacugcc	ggguaaugau	gga
				23
40	<210>	397		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	397		
		cgucuuacc	agcaguguuu	gg
				22
50	<210>	398		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	398		
		agagguauag	ggcaugggaa	
				20
60	<210>	399		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	399		
		uuccuaugca	uauacuucu	ug
				22

	<210> 400		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 400		
	gugaaauguu uaggaccacu ag		22
	<210> 401		
10	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 401		
15	uucccuuugu cauccaugc cu		22
	<210> 402		
	<211> 22		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 402		
	uccuucuuuc caccggaguc ug		22
25	<210> 403		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 403		
30	uggaauguaa ggaagugugu gg		22
	<210> 404		
	<211> 22		
35	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 404		
40	auaagacgag caaaaagcuu gu		22
	<210> 405		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 405		
	auaagacgaa caaaagguuu gu		22
	<210> 406		
50	<211> 23		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 406		
55	uaaagugcuu auagugcagg uag		23
	<210> 407		
	<211> 22		
	<212> ARN		
60	<213> Homo sapiens		
	<400> 407		
	acugcauuau gagcacuuaa ag		22

	<210>	408	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
5	<213>	Homo sapiens	
	<400>	408	
		caaagugcuc auagugcagg uag	23
10	<210>	409	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	409	
		acuguaguau gggcacuucc ag	22
	<210>	410	
	<211>	22	
20	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	410	
		uagcuuauca gacugauguu ga	22
25	<210>	411	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	411	
		caacaccagu cgaugggcug u	21
	<210>	412	
35	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	412	
40		cugugcgugu gacagcggcu ga	22
	<210>	413	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
45	<213>	Homo sapiens	
	<400>	413	
		uucccuuugu cauccuucgc cu	22
50	<210>	414	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	414	
		uaacagucuc cagucacggc c	21
	<210>	415	
	<211>	22	
60	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	415	

	acagcaggca cagacaggca gu	22
	<210> 416	
	<211> 22	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 416	
	ugccugucua cacuugcugu gc	22
10	<210> 417	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 417	
	augaccuaug aaugacaga c	21
	<210> 418	
20	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 418	
25	uaaucucagc uggcaacugu ga	22
	<210> 419	
	<211> 22	
	<212> ARN	
30	<213> Homo sapiens	
	<400> 419	
	aaaucucugc aggcaaaugu ga	22
35	<210> 420	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 420	
	uacugcauca ggaacugauu gga	23
	<210> 421	
	<211> 21	
45	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 421	
	uugugcuuga ucuaaccaug u	21
50	<210> 422	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 422	
	augguuccgu caagcaccuu gg	22
	<210> 423	
60	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 423	

	caugguucug ucaagcacog cg	22
	<210> 424	
	<211> 22	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 424	
	agaguugagu cuggacgucc cg	22
10	<210> 425	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 425	
	agaaauugugg cuggacaucu gu	22
	<210> 426	
20	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 426	
25	ugauugucca aacgcaauuc u	21
	<210> 427	
	<211> 22	
	<212> ARN	
30	<213> Homo sapiens	
	<400> 427	
	aagcugccag uugaagaacu gu	22
35	<210> 428	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 428	
	aguucucag uggcaagcuu ua	22
	<210> 429	
	<211> 21	
45	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 429	
	ccacaccgua ucugacacu u	21
50	<210> 430	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 430	
	ccaccaccgu gucugacacu u	21
	<210> 431	
60	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 431	

		acacagggcu guugugaaga cu	22
	<210>	432	
	<211>	23	
5	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	432	
		agcuacauug ucugcugggu uuc	23
10	<210>	433	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	433	
		accuggcaua caauguagau uu	22
	<210>	434	
20	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	434	
25		agcuacaucu ggcuaucuggg u	21
	<210>	435	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
30	<213>	Homo sapiens	
	<400>	435	
		cucaguagcc aguguagauc cu	22
35	<210>	436	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
40	<400>	436	
		ugucaguuug ucaaauaccc ca	22
	<210>	437	
	<211>	22	
45	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	437	
		cguguaauug acaagcugag uu	22
50	<210>	438	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	438	
		caagucacua gugguuccgu u	21
	<210>	439	
60	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	439	

	aucacauugc cagggauuuc c	21
	<210> 440	
	<211> 22	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 440	
	gggguuccug gggauoggau uu	22
10	<210> 441	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 441	
	aucacauugc cagggauuac c	21
	<210> 442	
20	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 442	
25	uggguuccug gcaugcugau uu	22
	<210> 443	
	<211> 22	
	<212> ARN	
30	<213> Homo sapiens	
	<400> 443	
	uggcucaguu cagcaggaac ag	22
35	<210> 444	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<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	
55	<400> 446	
	cauugcacuu gucucggucu ga	22
	<210> 447	
60	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 447	

	aggcggagac ugggcaau g	21
	<210> 448	
	<211> 22	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 448	
	uucaaguaau ccaggauagg cu	22
10	<210> 449	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 449	
	ccuauucuug guacuugca cg	22
	<210> 450	
20	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 450	
25	ccuauucuug auacuuguu uc	22
	<210> 451	
	<211> 21	
	<212> ARN	
30	<213> Homo sapiens	
	<400> 451	
	uucaaguaau ucaggauagg u	21
35	<210> 452	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 452	
	ccuguucucc auacuuggc uc	22
	<210> 453	
	<211> 21	
45	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 453	
	uucacagugg cuaaguuccg c	21
50	<210> 454	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 454	
	agggcuuagc ugcuugugag ca	22
	<210> 455	
60	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 455	

		uucacagugg cuaaguucug c	21
		<210> 456	
		<211> 22	
5		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	
		<400> 456	
		agagcuuagc uguuugguga ac	22
10		<210> 457	
		<211> 22	
		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	
15		<400> 457	
		cacuagauug ugagcuccug ga	22
		<210> 458	
20		<211> 22	
		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	
		<400> 458	
25		aaggagcuca cagucuaug ag	22
		<210> 459	
		<211> 22	
		<212> ARN	
30		<213> Homo sapiens	
		<400> 459	
		gaggguuuggg uggaggcucu cc	22
35		<210> 460	
		<211> 21	
		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	
40		<400> 460	
		agggccccc cucaauccug u	21
		<210> 461	
		<211> 21	
45		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	
		<400> 461	
		auguaugugu gcaugugcau g	21
50		<210> 462	
		<211> 24	
		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	
55		<400> 462	
		agcagaagca gggagguucu ccca	24
		<210> 463	
60		<211> 22	
		<212> ARN	
		<213> Homo sapiens	

	<400>	463	uaugugggau gguaaacccgc uu	22
5	<210>	464		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	464	ugguuuaccg ucccacauac au	22
	<210>	465		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
15	<213>	Homo sapiens		
	<400>	465	uagcaccauc ugaaaucggu ua	22
20	<210>	466		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	466	acugauuucu uuugguguuc ag	22
	<210>	467		
	<211>	23		
30	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	467	uagcaccauu ugaaaucagu guu	23
35	<210>	468		
	<211>	24		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
40	<400>	468	gcugguuuc aauggugguu uaga	24
	<210>	469		
45	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	469	cugguuucac auggugguu ag	22
50	<210>	470		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
55	<213>	Homo sapiens		
	<400>	470	uagcaccauu ugaaaucggu ua	22
60	<210>	471		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		

	<400>	471		
		ugaccgauuu cuccuggugu uc		22
5	<210>	472		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	472		
		uauacaaggg cagacucucu cu		22
	<210>	473		
	<211>	23		
15	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	473		
		cagugcaaua guauugucaa agc		23
20	<210>	474		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	474		
		cagugcaaug auauugucaa agc		23
	<210>	475		
30	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	475		
35		uaagugcuuc cauguuuugg uga		23
	<210>	476		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
40	<213>	Homo sapiens		
	<400>	476		
		acuuuaacgu ggaugucuu gcu		23
45	<210>	477		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	477		
		uaagugcuuc cauguuuag uag		23
	<210>	478		
	<211>	22		
55	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	478		
		acuuuaacau ggaagucuu uc		22
60	<210>	479		
	<211>	23		
	<212>	ARN		

	<213>	Homo sapiens	
	<400>	479	
		uaagugcuuc cauguucag ugg	23
5	<210>	480	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
10	<400>	480	
		uuuaacaugg gguaccugc ug	22
	<210>	481	
15	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	481	
20		uaagugcuuc cauguugag ugu	23
	<210>	482	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
25	<213>	Homo sapiens	
	<400>	482	
		acuuuaacau ggagcacuu gc	22
30	<210>	483	
	<211>	17	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
35	<400>	483	
		uaagugcuuc caugcuu	17
	<210>	484	
40	<211>	17	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	484	
		uaauugcuuc caguuu	17
45	<210>	485	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
50	<400>	485	
		uguaaacauc cucgacugga ag	22
	<210>	486	
55	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	486	
60		cuuucagucg gauguugca gc	22
	<210>	487	
	<211>	22	

	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	487	
5		uguaaacauc cuacacucag cu	22
	<210>	488	
	<211>	22	
10	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	488	
		cugggaggug gauguuuacu uc	22
15	<210>	489	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
20	<400>	489	
		uguaaacauc cuacacucuc agc	23
	<210>	490	
	<211>	22	
25	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	490	
		cugggagagg guuguuuacu cc	22
30	<210>	491	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
35	<400>	491	
		cugggagaag gcuguuuacu cu	22
	<210>	492	
40	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	492	
45		uguaaacauc cccgacugga ag	22
	<210>	493	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
50	<213>	Homo sapiens	
	<400>	493	
		cuuucaguca gauguuugcu gc	22
55	<210>	494	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
60	<400>	494	
		uguaaacauc cuugacugga ag	22
	<210>	495	

	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	495	cuuucagucg gauguuuaca gc	22
	<210>	496		
	<211>	21		
10	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	496	aggcaagaug cuggcauagc u	21
15	<210>	497		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
20	<400>	497	ugcuaugcca acauauugcc au	22
	<210>	498		
25	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	498	uauugcacau uacuaaguug ca	22
30	<210>	499		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
35	<213>	Homo sapiens		
	<400>	499	caauuuagug ugugugauau uu	22
40	<210>	500		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	500	aaaagcuggg uugagagggc ga	22
	<210>	501		
	<211>	22		
50	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	501	aaaagcuggg uugagagggc aa	22
55	<210>	502		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
60	<400>	502	aaaagcuggg uugagagggg	20
	<210>	503		

	<211>	19	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	503	
		aaaagcuggg uugagagga	19
	<210>	504	
10	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	504	
15		cacauuacac ggucgaccuc u	21
	<210>	505	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
20	<400>	505	
		aggugguccg uggcgcguuc gc	22
	<210>	506	
25	<211>	20	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	506	
30		acugccccag gugcugcugg	20
	<210>	507	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
35	<213>	Homo sapiens	
	<400>	507	
		cgcauccccu agggcauugg ugu	23
40	<210>	508	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
45	<400>	508	
		ccuaguaggu guccaguaag ugu	23
	<210>	509	
50	<211>	20	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	509	
55		ccucugggcc cuuccuccag	20
	<210>	510	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
60	<400>	510	
		cuggcccucu cugcccuucc gu	22

	<210>	511		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	511		
		aaacacaccug guuaaccucu uu		22
	<210>	512		
10	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	512		
15		gcaaagcaca cggccugcag aga		23
	<210>	513		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
20	<213>	Homo sapiens		
	<400>	513		
		ucucuggggcc ugugucuuaag gc		22
25	<210>	514		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	514		
		gccccuggggc cuauccuaga a		21
	<210>	515		
	<211>	22		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	515		
		cuagguauagg ucccagggau cc		22
40	<210>	516		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	516		
		ucaagagcaa uaacgaaaaa ugu		23
	<210>	517		
50	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	517		
55		uuuuucauuu uugcuccuga cc		22
	<210>	518		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
60	<213>	Homo sapiens		
	<400>	518		
		cuccuauaug augccuuucu uc		22

ES 2 689 508 T3

	<210>	519		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	519		
		gaacggcuuc auacaggagu u		21
10	<210>	520		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	520		
		uccagcauca gugauuuugu ug		22
20	<210>	521		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	521		
		aacaauaucc uggugcugag ug		22
30	<210>	522		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
35	<400>	522		
		ugagcgccuc gacgacagag ccg		23
40	<210>	523		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	523		
		ucccuguccu ccaggagcuc acg		23
50	<210>	524		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	524		
		gugcauugua guugcauugc a		21
60	<210>	525		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
65	<400>	525		
		caauguuucc acagugcauc ac		22
70	<210>	526		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
75	<400>	526		
		gugcauugcu guugcauugc		20

	<210>	527		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	527		
		cagugccucg gcagugcagc cc		22
10	<210>	528		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	528		
		uuauaaagca augagacuga uu		22
	<210>	529		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	529		
		uccgucucag uuacuuuuaa gc		22
25	<210>	530		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	530		
		ucucacacag aaaucgcacc cgu		23
	<210>	531		
35	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	531		
40		aggggugcua ucugugauug a		21
	<210>	532		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	532		
		gcugacuccu aguccagggc uc		22
50	<210>	533		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	533		
		ugucugcccg caugccugcc ucu		23
	<210>	534		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	534		

	uggcaguguc uuagcugguu gu	22
	<210> 535	
	<211> 22	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 535	
	caaucagcaa guauacugcc cu	22
10	<210> 536	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 536	
	caaucacuaa cuccacugcc au	22
	<210> 537	
20	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 537	
25	uaggcagugu cauuagcuga uug	23
	<210> 538	
	<211> 22	
30	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 538	
	aaucacuaac cacacggcca gg	22
35	<210> 539	
	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 539	
	aggcagugua guuagcugau ugc	23
	<210> 540	
45	<211> 23	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 540	
	ucccccaggu gugauucuga uuu	23
50	<210> 541	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 541	
	uuaucagaau cuccaggggu ac	22
	<210> 542	
60	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	

	<400>	542	aacacaccua uucaaggauu ca	22
5	<210>	543		
	<211>	24		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	543	aauc<u>ccu</u>ugga accuaggugu gagu	24
	<210>	544		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
15	<213>	Homo sapiens		
	<400>	544	aa<u>ugc</u>acggg uauccaucug ua	22
20	<210>	545		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	545	cg<u>gg</u>uggauc acgaugcaau uu	22
	<210>	546		
	<211>	22		
30	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	546	ua<u>aug</u>cc<u>ccu</u> aaaaauccuu au	22
35	<210>	547		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
40	<400>	547	aa<u>ugc</u>acuu uagcaauggu ga	22
	<210>	548		
45	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	548	ac<u>ug</u>u<u>gc</u>ua au<u>aug</u>caacu cu	22
50	<210>	549		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
55	<213>	Homo sapiens		
	<400>	549	aa<u>uu</u>acau gguugaucuu u	21
60	<210>	550		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		

	<400>	550	agaucgaccg uguuauauuc gc	22
5	<210>	551		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	551	gccugcuggg guggaaccug gu	22
	<210>	552		
	<211>	23		
15	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	552	aagugccgcc aucuuuugag ugu	23
20	<210>	553		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	553	acucaaacug ugggggcacu	20
	<210>	554		
30	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	554	aaagugcugc gacauuugag cgu	23
35	<210>	555		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
40	<213>	Homo sapiens		
	<400>	555	gaagugcuuc gauuuugggg ugu	23
45	<210>	556		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	556	acucaaaauug ggggcgcuuu cc	22
	<210>	557		
	<211>	22		
55	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	557	uuauauaca accugauaag ug	22
60	<210>	558		
	<211>	22		
	<212>	ARN		

	<213>	Homo sapiens	
	<400>	558	
		cuuauCagau uguauuguaa uu	22
5	<210>	559	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
10	<400>	559	
		auauaaauaca accugcuaag ug	22
	<210>	560	
15	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	560	
20		cuuagcaggu uguauuuauca uu	22
	<210>	561	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
25	<213>	Homo sapiens	
	<400>	561	
		uuuguuocguu cggcucgcgu ga	22
30	<210>	562	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
35	<400>	562	
		aucauagagg aaaauccacg u	21
	<210>	563	
40	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	563	
		guagauucuc cuucuaugag ua	22
45	<210>	564	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
50	<400>	564	
		aucauagagg aaaauccaug uu	22
	<210>	565	
55	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	565	
60		aacauagagg aaaauccacg u	21
	<210>	566	
	<211>	22	

	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	566		
5		aucacacaaa ggcaacuuuu gu		22
	<210>	567		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
10	<213>	Homo sapiens		
	<400>	567		
		agagguugcc cuuggugaau uc		22
15	<210>	568		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
20	<400>	568		
		acuggacuug gagucagaag g		21
	<210>	569		
	<211>	22		
25	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	569		
		cuccugacuc cagguccugu gu		22
30	<210>	570		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
35	<400>	570		
		ugguagacua uggaaacguag g		21
	<210>	571		
40	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	571		
45		uauquaacau gguccacuaa cu		22
	<210>	572		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
50	<213>	Homo sapiens		
	<400>	572		
		uauquaauau gguccacauc uu		22
55	<210>	573		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
60	<400>	573		
		ugguugacca uagaacaugc gc		22
	<210>	574		

	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	574	uauacaaggg caagcucucu gu	22
	<210>	575		
	<211>	22		
10	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	575	gaaguuguuc gugguggauu cg	22
15	<210>	576		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
20	<400>	576	agaucagaag gugauugug cu	22
	<210>	577		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	577	auuccuagaa auuguucaua	20
30	<210>	578		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
35	<400>	578	gaauguugcu cggugaaccc cu	22
40	<210>	579		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	579	agguuaccgg agcaacuuug cau	23
	<210>	580		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	580	aaauaaacac agauggccug u	21
55	<210>	581		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
60	<400>	581	uaguagaccg uauagcguac g	21

ES 2 689 508 T3

	<210>	582		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	582		
		uauguaacac gguccacuaa cc		22
	<210>	583		
10	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	583		
15		acuucaccug guccacuagc cgu		23
	<210>	584		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
20	<213>	Homo sapiens		
	<400>	584		
		aUCAACAGAC auuaauuggg cgc		23
25	<210>	585		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	585		
		acuggacuua gggucagaag gc		22
	<210>	586		
	<211>	23		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	586		
40		agcucggucu gaggccccuc agu		23
	<210>	587		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	587		
		ugaggggcag agagcgagac uuu		23
	<210>	588		
50	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	588		
55		cagcagcaau ucauguuuug aa		22
	<210>	589		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
60	<213>	Homo sapiens		
	<400>	589		

	caaaacguga ggcgcugcua u	21
	<210> 590	
	<211> 23	
5	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 590	
	aaugacacga ucacucccgu uga	23
10	<210> 591	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
15	<400> 591	
	aucgggaug ucguguccgc cc	22
	<210> 592	
20	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 592	
25	uaauacuguc ugguaaaacc gu	22
	<210> 593	
	<211> 21	
	<212> ARN	
30	<213> Homo sapiens	
	<400> 593	
	ugucuugcag gccgucaugc a	21
35	<210> 594	
	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
40	<400> 594	
	caggucgucu ugcagggcuu cu	22
	<210> 595	
	<211> 23	
45	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
	<400> 595	
	ucuuggagua ggucuuuggg ugg	23
50	<210> 596	
	<211> 21	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	
55	<400> 596	
	cuggauggcu ccuccauguc u	21
	<210> 597	
60	<211> 22	
	<212> ARN	
	<213> Homo sapiens	

	<400>	597	aucaugaugg gcuccucggu gu	22
5	<210>	598		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	598	uugcauaugu aggauguccc au	22
	<210>	599		
	<211>	22		
15	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	599	uggcagugua uuguuagcug gu	22
20	<210>	600		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	600	aggcagugua uuguuagcug gc	22
	<210>	601		
30	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	601	uuuugcgaug uguuccuaau au	22
35	<210>	602		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
40	<213>	Homo sapiens		
	<400>	602	uugggaucan uuugcaucca ua	22
45	<210>	603		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	603	uuuugcaana uguuccugaa ua	22
	<210>	604		
	<211>	22		
55	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	604	aaaccguuac cauuacugag uu	22
60	<210>	605		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		

	<400>	605	aacuguuugc agaggaaacu ga	22
5	<210>	606		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
10	<400>	606	cucaucugca aagaaguaag ug	22
	<210>	607		
	<211>	23		
15	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	607	agguuguccg uggugaguuc gca	23
20	<210>	608		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
25	<400>	608	uagugcaaua uugcuauag ggu	23
	<210>	609		
30	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	609	accuaucaa uauugucucu gc	22
35	<210>	610		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
40	<213>	Homo sapiens		
	<400>	610	gcaguccaug ggcatauaca c	21
45	<210>	611		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
50	<400>	611	uauuguccuu uggacuacau cg	22
	<210>	612		
	<211>	21		
55	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	612	ucacuccucu ccucccgucu u	21
60	<210>	613		
	<211>	22		

	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	613		
5		aagacgggag gaaagaagg ag		22
	<210>	614		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
10	<213>	Homo sapiens		
	<400>	614		
		ucaggcucag uccccuccg au		22
15	<210>	615		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
20	<400>	615		
		gucauacag gcucuccu cu		22
	<210>	616		
	<211>	22		
25	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	616		
		agagggcuggc cgugaugaau uc		22
30	<210>	617		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
35	<400>	617		
		cggggcagcu caguacagga u		21
	<210>	618		
40	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	618		
45		uccuguacug agcugccccg ag		22
	<210>	619		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
50	<213>	Homo sapiens		
	<400>	619		
		aaucauacag ggacauccag uu		22
55	<210>	620		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
60	<400>	620		
		aaucguacag ggaucauccac uu		22
	<210>	621		

	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 621	uugaaaggcu auuucuuggu c	21
	<210> 622		
	<211> 21		
10	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 622	cccagauaau ggcacucuca a	21
15	<210> 623		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
20	<400> 623	gugacaucac auauacggca gc	22
	<210> 624		
	<211> 22		
25	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 624	caaccuggag gacuccaugc ug	22
30	<210> 625		
	<211> 20		
	<212> ARN		
35	<213> Homo sapiens		
	<400> 625	ccauggaucu ccaggugggu	20
40	<210> 626		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 626	cuuaugcaag auucccuucu ac	22
	<210> 627		
	<211> 22		
50	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 627	aguggggaac ccuuccauga gg	22
55	<210> 628		
	<211> 23		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
60	<400> 628	aggaccugcg ggacaagauu cuu	23

ES 2 689 508 T3

	<210>	629		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	629		
		ugaaggucua cugugugcca gg		22
	<210>	630		
10	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	630		
15		uuguacaugg uaggcuuuc uu		22
	<210>	631		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
20	<213>	Homo sapiens		
	<400>	631		
		ugaaacauac acgggaacc uc		22
25	<210>	632		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	632		
		aaacaaacau ggugcacuuc uu		22
	<210>	633		
	<211>	22		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	633		
40		ugaguauuac auggccauc uc		22
	<210>	634		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	634		
		cagcagcaca cugugguuug u		21
	<210>	635		
50	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	635		
55		caaaccacac uguguguuu ga		22
	<210>	636		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
60	<213>	Homo sapiens		
	<400>	636		
		uuucaagcca gggggcguu uuc		23

	<210>	637		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	637		
		aacaucacag caagucugug cu		22
10	<210>	638		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	638		
		uuaagacuug cagugaugu u		21
	<210>	639		
	<211>	23		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	639		
		uaauccuugc uaccugggug aga		23
25	<210>	640		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	640		
		augcaccugg gcaaggauuc ug		22
	<210>	641		
35	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	641		
40		aaugcacccg ggcaaggauu cu		22
	<210>	642		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	642		
		aaucuuugu cccuggguga ga		22
50	<210>	643		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	643		
		aaugcaccug ggcaaggauu ca		22
	<210>	644		
	<211>	21		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	644		
		aucuuugcua ucugggugcu a		21

ES 2 689 508 T3

	<210>	645		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	645		
		uagcagcggg aacaguucug cag		23
10	<210>	646		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	646		
		agaccuggu cugcacucua uc		22
	<210>	647		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	647		
		cgucaacacu ugcugguuuc cu		22
25	<210>	648		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	648		
		gggagccagg aaguauugau gu		22
	<210>	649		
35	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	649		
40		uaaggcacc uucugaguag a		21
	<210>	650		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	650		
		uuuugcaccu uuuggaguga a		21
50	<210>	651		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	651		
		ugauuguagc cuuuuggagu aga		23
	<210>	652		
	<211>	23		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	652		
		uacuccagag ggcgucacuc aug		23

ES 2 689 508 T3

	<210>	653		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	653		
		uacugcagac guggcaauca ug		22
10	<210>	654		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	654		
		ugauugguac gucuguggu ag		22
	<210>	655		
	<211>	21		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	655		
		uacugcagac aguggcaauc a		21
25	<210>	656		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	656		
		uacucaggag aguggcaauc ac		22
	<210>	657		
	<211>	21		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	657		
40		gugucuuuug cucugcaguc a		21
	<210>	658		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	658		
		aagugcuguc auagcugagg uc		22
50	<210>	659		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	659		
		cacucagccu ugagggcacu uuc		23
	<210>	660		
	<211>	23		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	660		
		uaaaauucac cuuucugaga agg		23

ES 2 689 508 T3

	<210>	661		
	<211>	18		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	661		
		uucacagggga ggugucau		18
10	<210>	662		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	662		
		uucacaagga ggugucauuu au		22
	<210>	663		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	663		
		uucucaagga ggugucguuu au		22
25	<210>	664		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	664		
		auugacacuu cugugaguag a		21
	<210>	665		
35	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	665		
40		gagugccuuc uuuuggagcg uu		22
	<210>	666		
	<211>	24		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	666		
		uucuccaaaa gaaagcacuu ucug		24
50	<210>	667		
	<211>	18		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	667		
		ugcuuccuuu cagagggg		18
	<210>	668		
	<211>	23		
60	<212>	ARN		
	<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
10	<210>	670		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	670		
		ccucuagaug gaagcacugu cu		22
	<210>	671		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	671		
		aucgugcauc ccuuuagagu gu		22
25	<210>	672		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	672		
		ucgugcaucc cuuuagagug uu		22
	<210>	673		
35	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	673		
40		aucgugcauc cuuuuagagu gu		22
	<210>	674		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	674		
		gaaagcgcuu cccuuugcug ga		22
50	<210>	675		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	675		
		caaagcgcuu cccuuuagag gu		22
	<210>	676		
	<211>	23		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	676		
		caaagcgcuu cucuuuagag ugu		23

ES 2 689 508 T3

	<210>	677		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	677		
		ucucuggagg gaagcacuuu cug		23
10	<210>	678		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	678		
		caaagcgcuu cccuuuggag c		21
	<210>	679		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	679		
		cucuagaggg aagcacuuuc ug		22
25	<210>	680		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	680		
		aaagcgcuuc ccuucagagu g		21
	<210>	681		
35	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	681		
40		gaaagcgcuu cucuuuagag g		21
	<210>	682		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	682		
		cucuagaggg aagcacuuuc uc		22
50	<210>	683		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	683		
		aaagugcauc cuuuuagagu gu		22
	<210>	684		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	684		
		cucuagaggg aagcgcuuuc ug		22

	<210>	685		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	685		
		aaagugcauc cuuuuagagg uu		22
10	<210>	686		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	686		
		aaagugcauc uuuuuagagg au		22
	<210>	687		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	687		
		caaagugccu cccuuuagag ug		22
25	<210>	688		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	688		
		aagugccucc uuuuagagug uu		22
	<210>	689		
35	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	689		
40		uucuccaaaa gggagcacuu uc		22
	<210>	690		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	690		
		aaagugcuuc ccuuuggacu gu		22
50	<210>	691		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	691		
		cuccagaggg aaguacuuuc u		21
	<210>	692		
	<211>	21		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	692		
		aaagugcuuc cuuuuagagg g		21

ES 2 689 508 T3

	<210>	693		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	693		
		aaagugcuuc cuuuuagagg gu		22
10	<210>	694		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	694		
		aaagugcuuc ucuuuggugg gu		22
	<210>	695		
	<211>	20		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	695		
		cuacaaaggg aagcccuuc		20
25	<210>	696		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	696		
		aaagugcuuc cuuuuagagg g		21
	<210>	697		
	<211>	22		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	697		
40		aagugcuucc uuuuagaggg uu		22
	<210>	698		
	<211>	24		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	698		
		acaaagugcu ucccuuaga gugu		24
50	<210>	699		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	699		
		acaaagugcu ucccuuaga gu		22
	<210>	700		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	700		
		aacgcacuuc ccuuuagagu gu		22

ES 2 689 508 T3

	<210>	701		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	701		
		aaaaugguuc ccuuuagagu gu		22
10	<210>	702		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	702		
		gaacgcgcuu ccuuuagag ggu		23
	<210>	703		
	<211>	21		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	703		
		gaaggcgcuu ccuuuggag u		21
25	<210>	704		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	704		
		cuacaaaggg aagcacuuuc uc		22
	<210>	705		
35	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	705		
40		gaaggcgcuu ccuuuagag cg		22
	<210>	706		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	706		
		cuccagaggg augcacuuuc u		21
50	<210>	707		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	707		
		cucuugaggg aagcacuuuc ugu		23
	<210>	708		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	708		
		gaaagugcuu ccuuuuagag gc		22

ES 2 689 508 T3

	<210>	709	
	<211>	20	
	<212>	ARN	
5	<213>	Homo sapiens	
	<400>	709	
		cugcaaaggg aagcccuuc	20
10	<210>	710	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	710	
		ccucccacac ccaaggcuug ca	22
	<210>	711	
	<211>	22	
20	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	711	
		caugccuuga guguaggacc gu	22
25	<210>	712	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	712	
		ggagaaauua uccuuggugu gu	22
	<210>	713	
35	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	713	
40		uggugggcac agaaucugga cu	22
	<210>	714	
	<211>	25	
	<212>	ARN	
45	<213>	Homo sapiens	
	<400>	714	
		aaaggauucu gcugucgguc ccacu	25
50	<210>	715	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	715	
		ugugacagau ugauaacuga aa	22
	<210>	716	
	<211>	23	
60	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	716	
		ucggggauca ucaugucacg aga	23

	<210>	717		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	717		
		aaacauucgc ggugcacuuc uu		22
10	<210>	718		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	718		
		auucugcauu uuuagcaagu uc		22
	<210>	719		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	719		
		ucagcaaaca uuuauugugu gc		22
25	<210>	720		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	720		
		ucaguaaaug uuuauuagau ga		22
	<210>	721		
35	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	721		
40		caaacuggc aauuacuuuu gc		22
	<210>	722		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	722		
		aaaaguaauu gcgaguuuua cc		22
50	<210>	723		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	723		
		caagaaccuc aguugcuuuu gu		22
	<210>	724		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	724		
		aaaaguaauu gugguuuugg cc		22

	<210>	725		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	725		
		caaaaaucuc aauuacuuuu gc		22
10	<210>	726		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	726		
		aaaaguaau gcgguuuuug cc		22
	<210>	727		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	727		
		caaaaaccac aguuucuuuu gc		22
25	<210>	728		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	728		
		aaaaguaau gugguuuuug cc		22
	<210>	729		
35	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	729		
40		aaaaacugag acuacuuuug ca		22
	<210>	730		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	730		
		aaaaacugua auuacuuuu		19
50	<210>	731		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	731		
		aaaacuguaa uuacuuuuugu ac		22
	<210>	732		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	732		
		aaaaguauc gcgguuuuug uc		22

	<210>	733	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
5	<213>	Homo sapiens	
	<400>	733	
		aaaaguaauu gcggauuuug cc	22
10	<210>	734	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	734	
		aaaaguaauu gcggucuuug gu	22
	<210>	735	
	<211>	22	
20	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	735	
		aaaaguacuu gcggauuuug cu	22
25	<210>	736	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	736	
		aaaaguauuu gcggguuuug uc	22
	<210>	737	
35	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	737	
40		caaagguauu ugugguuuuu g	21
	<210>	738	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
45	<213>	Homo sapiens	
	<400>	738	
		caaaguaau ugugauuuu gu	22
50	<210>	739	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	739	
		ccaaaacugc aguuacuuuu gc	22
	<210>	740	
	<211>	22	
60	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	740	
		uagcaaaaac ugcaguua cu uu	22

ES 2 689 508 T3

	<210>	741		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	741		
		ugacaacuau ggauagagcuc u		21
10	<210>	742		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	742		
		agugccugag ggaguaagag ccc		23
	<210>	743		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	743		
		ugucuuacuc ccucaggcac au		22
25	<210>	744		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	744		
		gcgaccacu cuugguuucc a		21
	<210>	745		
35	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	745		
40		gcgacccaua cuugguuua g		21
	<210>	746		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	746		
		gaaaucaagc guggugaga cc		22
50	<210>	747		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	747		
		aacaggugac ugguuagaca a		21
	<210>	748		
	<211>	21		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	748		
		aaaacgguga gauuuuguuu u		21

	<210>	749		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	749		
		gcuaguccug acucagccag u		21
10	<210>	750		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	750		
		aggguaagcu gaaccucuga u		21
	<210>	751		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	751		
		auauuaccau uagcucaucu uu		22
25	<210>	752		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	752		
		gaugagcuca uuguauaug ag		22
	<210>	753		
35	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	753		
40		guuugcacgg gugggccuug ucu		23
	<210>	754		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	754		
		ugagcugcug uaccaaaau		19
50	<210>	755		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	755		
		uaaaguaaa augcaccaa a		21
	<210>	756		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	756		
		caaaguuaa gauccuugaa gu		22

ES 2 689 508 T3

	<210>	757		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	757		
		aaaguagcug uaccuuugc		20
10	<210>	758		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	758		
		agguugacau acguuuccc		19
	<210>	759		
	<211>	19		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	759		
		aggcacggug ucagcaggc		19
25	<210>	760		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	760		
		gggcgccugu gaucceaac		19
	<210>	761		
35	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	761		
40		aguauguucu uccaggacag aac		23
	<210>	762		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	762		
		auguauaaau guauacacac		20
50	<210>	763		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	763		
		aguuaaugaa uccuggaaag u		21
	<210>	764		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	764		
		cgaaaacagc aauuaccuuu gc		22

ES 2 689 508 T3

	<210>	765		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	765		
		ugaguuggcc aucugaguga g		21
10	<210>	766		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	766		
		guccgcucgg cgguggccca		20
	<210>	767		
	<211>	24		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	767		
		cugaagugau guguaacuga ucag		24
25	<210>	768		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	768		
		cacgcucaug cacacacca ca		22
	<210>	769		
35	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	769		
40		ugagugugug ugugugagug ugu		23
	<210>	770		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	770		
		gagccaguug gacaggagc		19
50	<210>	771		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	771		
		aagaugugga aaaauuggaa uc		22
	<210>	772		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	772		
		auucuaauuu cuccacgucu uu		22

ES 2 689 508 T3

	<210>	773		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	773		
		uagauaaaau auugguaccu g		21
10	<210>	774		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	774		
		cuucuugugc ucuaggauug u		21
	<210>	775		
	<211>	23		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	775		
		uucuuuuggu auaaacccgcg auu		23
25	<210>	776		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	776		
		uugagaauga ugaaucaua gg		22
	<210>	777		
35	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	777		
40		ucuuguguuc ucuagaucag u		21
	<210>	778		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	778		
		uaacugguug aacaacugaa cc		22
50	<210>	779		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	779		
		uuacaguugu ucaaccaguu acu		23
	<210>	780		
	<211>	21		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	780		
		caaagaggaa ggucccaua c		21

ES 2 689 508 T3

	<210>	781		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	781		
		uuauugguuug ccugggacug ag		22
10	<210>	782		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	782		
		ugggcguauc uguaugcua		19
	<210>	783		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	783		
		uaugcauugu auuuuuaggu cc		22
25	<210>	784		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	784		
		uuuccauagg ugaugaguca c		21
	<210>	785		
35	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	785		
40		uuggccacaa uggguuagaa c		21
	<210>	786		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	786		
		ugagaaccac gucugcucug ag		22
50	<210>	787		
	<211>	24		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	787		
		ucagaacaaa ugccgguucc caga		24
	<210>	788		
	<211>	21		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	788		
		uaauuuuauug uauaagcuag u		21

ES 2 689 508 T3

	<210>	789		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	789		
		gagcuuauuc auaaaagugc ag		22
10	<210>	790		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	790		
		agaccauggg uucucuauugu		20
	<210>	791		
	<211>	22		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	791		
		uugugucaau augcgaugau gu		22
25	<210>	792		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	792		
		ugucucugcu gggguuucu		19
	<210>	793		
35	<211>	25		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	793		
40		aggcaccagc caggcauugc ucagc		25
	<210>	794		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	794		
		gaagugugcc gugguguguc u		21
50	<210>	795		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	795		
		aagccugccc ggcuccucgg g		21
	<210>	796		
	<211>	22		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	796		
		ugugucacuc gaugaccacu gu		22

ES 2 689 508 T3

	<210>	797		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
5	<213>	Homo sapiens		
	<400>	797		
		uacgucaucg uugucaucgu ca		22
10	<210>	798		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
15	<400>	798		
		guugugucag uuuaucaaac		20
	<210>	799		
	<211>	23		
20	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	799		
		acuuacagac aagagccuug cuc		23
25	<210>	800		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	800		
		uggucuagga uuguuggagg ag		22
	<210>	801		
35	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	801		
40		gacacgggcg acagcugcgg ccc		23
	<210>	802		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
45	<213>	Homo sapiens		
	<400>	802		
		cacacacugc aauuacuuuu gc		22
50	<210>	803		
	<211>	19		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
55	<400>	803		
		aggcugcggga auucaggac		19
	<210>	804		
	<211>	23		
60	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	804		
65		uaaaucccaau ggugccuucu ccu		23

ES 2 689 508 T3

	<210>	805		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	805		
		aaacuacuga aaaucaaaga u		21
	<210>	806		
10	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	806		
15		guucaaaucc agaucuauaa c		21
	<210>	807		
	<211>	25		
	<212>	ARN		
20	<213>	Homo sapiens		
	<400>	807		
		agggguggug uugggacagc uccgu		25
25	<210>	808		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	808		
		aggguguuuc ucucaucucu		20
	<210>	809		
	<211>	21		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	809		
40		ugagcuaaau gugugcuggg a		21
	<210>	810		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	810		
		gcgaggaccc cucggggucu gac		23
	<210>	811		
50	<211>	25		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	811		
55		gcugggcagg gcuucugagc uccuu		25
	<210>	812		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
60	<213>	Homo sapiens		
	<400>	812		
		aggaaguuc cuucuugcc		20

	<210>	813	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	813	
		gaacgccugu ucuugccagg ugg	23
10	<210>	814	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	814	
		uccgagccug ggucuccuc uu	22
20	<210>	815	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	815	
		gggggucucc ggugcucgga uc	22
25	<210>	816	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	816	
		agucauugga ggguuugagc ag	22
35	<210>	817	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
40	<400>	817	
		acucaaaacc cuucagugac uu	22
45	<210>	818	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
50	<400>	818	
		agacuuccca uuugaaggug gc	22
55	<210>	819	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	819	
		aaacucuacu uguccuucug agu	23
60	<210>	820	
	<211>	24	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	820	
		gaccuggaca uguuugugcc cagu	24

	<210>	821		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	821		
		auggagauag auauagaaau		20
	<210>	822		
10	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	822		
15		ggcuagcaac agcgcuuacc u		21
	<210>	823		
	<211>	21		
	<212>	ARN		
20	<213>	Homo sapiens		
	<400>	823		
		acagucugcu gagguuggag c		21
25	<210>	824		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	824		
		aucccuugca ggggcuguug ggu		23
	<210>	825		
	<211>	21		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	825		
40		cacaagguau ugguaauacc u		21
	<210>	826		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	826		
		uaguaccagu accuuguguu ca		22
	<210>	827		
50	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	827		
55		agggggaaag uucuauaguc c		21
	<210>	828		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
60	<213>	Homo sapiens		
	<400>	828		
		gacuauagaa cuuucccccu ca		22

	<210> 829		
	<211> 19		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 829		
	agcugucuga aaaugucuu		19
	<210> 830		
10	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 830		
15	gugagucucu aagaaaagag ga		22
	<210> 831		
	<211> 21		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 831		
	ucuaguaaga guggcagucg a		21
25	<210> 832		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 832		
30	augcugacau auuuacuaga gg		22
	<210> 833		
	<211> 21		
35	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 833		
	uggguuuacg uugggagaac u		21
40	<210> 834		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 834		
	guucucccaa cguaagccca gc		22
	<210> 835		
50	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 835		
55	aguauucugu accaggaag gu		22
	<210> 836		
	<211> 21		
	<212> ARN		
60	<213> Homo sapiens		
	<400> 836		
	agaccuggcc cagaccucag c		21

	<210> 837		
	<211> 19		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 837		
	gugucugcuu ccuguggga		19
	<210> 838		
10	<211> 23		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 838		
15	cuaauaguau cuaccacaau aaa		23
	<210> 839		
	<211> 22		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 839		
	aaccagcacc ccaacuuugg ac		22
25	<210> 840		
	<211> 23		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 840		
30	acuugggcac ugaaacaau ucc		23
	<210> 841		
	<211> 23		
35	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 841		
40	ugugcuugcu cgucccgccc gca		23
	<210> 842		
	<211> 24		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 842		
	acugggggcu uucgggcucu gcgu		24
	<210> 843		
50	<211> 25		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 843		
55	agggaucgcg ggcggguggc ggccu		25
	<210> 844		
	<211> 23		
	<212> ARN		
60	<213> Homo sapiens		
	<400> 844		
	aucgcugcgg uugcgagcgc ugu		23

ES 2 689 508 T3

	<210> 845		
	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 845		
	augaucagg aaccugccuc u		21
	<210> 846		
10	<211> 24		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 846		
15	aaagacauag gauagaguca ccuc		24
	<210> 847		
	<211> 22		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 847		
	guccucucc aaaugugucu ug		22
25	<210> 848		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 848		
	acuugaugc uagcucaggu ag		22
	<210> 849		
	<211> 19		
35	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 849		
	aguguggcuu ucuuagagc		19
40	<210> 850		
	<211> 19		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 850		
	ucuaggcugg uacugcuga		19
	<210> 851		
50	<211> 19		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 851		
55	aagcagcugc cucugaggc		19
	<210> 852		
	<211> 21		
	<212> ARN		
60	<213> Homo sapiens		
	<400> 852		
	guggcugcac ucacuuccuu c		21

	<210>	853	
	<211>	19	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	853	
		aagugugcag ggcacuggu	19
10	<210>	854	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	854	
		aaaccugugu uguucaagag uc	22
20	<210>	855	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
25	<400>	855	
		aggaggcagc gcucucagga c	21
30	<210>	856	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
35	<400>	856	
		uuuaggauaa gcuugacuuu ug	22
40	<210>	857	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
45	<400>	857	
		aauggcgcca cuaggguuu g	21
50	<210>	858	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	858	
		guguugaaac aaucucuacu g	21
60	<210>	859	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
65	<400>	859	
		uaugucugcu gaccaucacc uu	22
70	<210>	860	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
75	<400>	860	
		uggugggccg cagaacaugu gc	22

	<210>	861	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	861	
		auauacaug guuaaccucu uu	22
	<210>	862	
10	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	862	
15		auuuuauac agucaaccuc u	21
	<210>	863	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
20	<213>	Homo sapiens	
	<400>	863	
		ggcagguucu caccucucu agg	23
25	<210>	864	
	<211>	25	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	864	
30		ggcggaggga aguagguccg uuggu	25
	<210>	865	
	<211>	22	
35	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	865	
40		cuugguucag ggaggguccc ca	22
	<210>	866	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
45	<400>	866	
		uacccauugc auaucggagu ug	22
	<210>	867	
50	<211>	24	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	867	
55		ugccuggguc ucuggccugc gcgu	24
	<210>	868	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
60	<213>	Homo sapiens	
	<400>	868	
		ucccacguug uggccagca g	21

	<210> 869		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 869		
	aggcggggcg ccgcgggacc gc		22
	<210> 870		
10	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 870		
15	gguggcccgg ccgugccuga gg		22
	<210> 871		
	<211> 23		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 871		
	uauucauuua uccccagccu aca		23
25	<210> 872		
	<211> 24		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 872		
30	acuggcuagg gaaaaugauu ggau		24
	<210> 873		
	<211> 20		
35	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 873		
	accaggaggc ugaggcccu		20
40	<210> 874		
	<211> 23		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 874		
	ugucacucgg cucggcccac uac		23
	<210> 875		
50	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 875		
55	uccgguucuc agggcuccac c		21
	<210> 876		
	<211> 23		
	<212> ARN		
60	<213> Homo sapiens		
	<400> 876		
	aggaagcccu ggaggggcug gag		23

	<210>	877	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	877	
		uggugcggag agggcccaca gug	23
10	<210>	878	
	<211>	20	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	878	
		cuguaugccc ucaccgcuca	20
20	<210>	879	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	879	
		uggaagacua gugauuuugu ugu	23
25	<210>	880	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	880	
		caacaaauca cagucugcca ua	22
35	<210>	881	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
40	<400>	881	
		caacaaaucc cagucuaccu aa	22
45	<210>	882	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	882	
		aaggagcuua caaucuagcu ggg	23
50	<210>	883	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	883	
		caacuagacu gugagcuucu ag	22
60	<210>	884	
	<211>	17	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	884	
		ucucgcuggg gccucca	17

	<210>	885		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	885		
		ugcggggcua gggcuaacag ca		22
	<210>	886		
10	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	886		
15		cuguugccac uaaccucaac cu		22
	<210>	887		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
20	<213>	Homo sapiens		
	<400>	887		
		uuugugaccu gguccacuaa cc		22
25	<210>	888		
	<211>	20		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
30	<400>	888		
		cggcucuggg ucugugggga		20
	<210>	889		
	<211>	21		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	889		
		uggaggagaa ggaaggugau g		21
40	<210>	890		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	890		
		acuccagccc cacagccuca gc		22
50	<210>	891		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	891		
55		ucugcuaa cccaugguu ucu		23
	<210>	892		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
60	<213>	Homo sapiens		
	<400>	892		
		ugcaccaugg uugucugagc aug		23

	<210>	893		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
5	<400>	893	cugggaucuc cggggucuug guu	23
	<210>	894		
10	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	894	ugagaccucu ggguuucugag cu	22
	<210>	895		
	<211>	23		
	<212>	ARN		
20	<213>	Homo sapiens		
	<400>	895	uccaguacca cgugucaggg cca	23
	<210>	896		
25	<211>	23		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	896	caguaacaaa gauucauccu ugu	23
	<210>	897		
	<211>	21		
35	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	897	gcaggaacuu gugagucucc u	21
40	<210>	898		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
45	<400>	898	cugcccuggc ccgagggacc ga	22
	<210>	899		
50	<211>	21		
	<212>	ARN		
	<213>	Homo sapiens		
	<400>	899	ccuggaaaca cugagguugu g	21
55	<210>	900		
	<211>	22		
	<212>	ARN		
60	<213>	Homo sapiens		
	<400>	900	uauaccucag uuuuaucagg ug	22

	<210> 901		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 901		
	uggugguuua caaaguaau ca		22
	<210> 902		
10	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 902		
15	uggauuucuu ugugaaucac ca		22
	<210> 903		
	<211> 20		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 903		
	guagaggaga uggcgcaggg		20
25	<210> 904		
	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 904		
	uccucuucuc ccuccucca g		21
	<210> 905		
	<211> 22		
35	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 905		
40	aggcagcggg gugugugga ua		22
	<210> 906		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 906		
	uccauuacac uaccugccu cu		22
	<210> 907		
50	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 907		
55	cgcgggugcu uacugacccu u		21
	<210> 908		
	<211> 23		
	<212> ARN		
60	<213> Homo sapiens		
	<400> 908		
	cgggucggag uuagcucaag cgg		23

	<210>	909	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	909	
		gugaacgggc gccaucccga gg	22
	<210>	910	
10	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	910	
15		uacucaaaaa gcugucaguc a	21
	<210>	911	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
20	<213>	Homo sapiens	
	<400>	911	
		gacugacacc ucuuugggug aa	22
25	<210>	912	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	912	
		uuauaucgg acaaccauug u	21
	<210>	913	
	<211>	21	
35	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	913	
40		uacuuggaaa ggcaucaguu g	21
	<210>	914	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
45	<400>	914	
		ugcaacgaac cugagccacu ga	22
	<210>	915	
50	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	915	
55		ugcaacuac cugagucauu ga	22
	<210>	916	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
60	<213>	Homo sapiens	
	<400>	916	
		cacugugucc uuucugcgua g	21

	<210> 917		
	<211> 22		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
5	<400> 917		
	cacuggcucc uuucugggua ga		22
	<210> 918		
10	<211> 23		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 918		
15	ucuuugggua ucuagcugua uga		23
	<210> 919		
	<211> 22		
	<212> ARN		
20	<213> Homo sapiens		
	<400> 919		
	auaaagcuag auaaccgaaa gu		22
25	<210> 920		
	<211> 20		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
30	<400> 920		
	ggggagcugu ggaagcagua		20
	<210> 921		
	<211> 25		
35	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 921		
40	cuagugaggg acagaaccag gauuc		25
	<210> 922		
	<211> 23		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
45	<400> 922		
	gcagcagaga auaggacuac guc		23
	<210> 923		
50	<211> 21		
	<212> ARN		
	<213> Homo sapiens		
	<400> 923		
55	gucagcggag gaaaagaaac u		21
	<210> 924		
	<211> 20		
	<212> ARN		
60	<213> Homo sapiens		
	<400> 924		
	agagucuugu gaugucuugc		20

	<210>	925	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	925	
		uauugcacuu gucccggccu gu	22
10	<210>	926	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	926	
15		agguugggau cgguugcaau gcu	23
20	<210>	927	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	927	
		ggguggggau uuguugcauu ac	22
25	<210>	928	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	928	
		uauugcacuc gucccggccu cc	22
35	<210>	929	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	929	
40		agggacggga cgcggugcag ug	22
45	<210>	930	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	930	
		caaagugcug uucgugcagg uag	23
50	<210>	931	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	931	
55		acugcugagc uagcacuucc cg	22
60	<210>	932	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	932	
		ugugcgcagg gagaccucuc cc	22

ES 2 689 508 T3

	<210>	933	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	933	
		ugucuacuac uggagacacu gg	22
10	<210>	934	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
15	<400>	934	
		ccaguuaccg cuuccgcuac cgc	23
20	<210>	935	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	935	
		acaguagagg gaggaaucgc ag	22
25	<210>	936	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
30	<400>	936	
		auccgcgcuc ugacucucug cc	22
35	<210>	937	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	937	
		ugcccuuaaa ggugaacca gu	22
40	<210>	938	
	<211>	24	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
45	<400>	938	
		uggggagcug aggcucuggg ggug	24
50	<210>	939	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
55	<400>	939	
		aaggcagggc ccccgucucc c	21
60	<210>	940	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	940	
		cacccggcug ugugacaug ugc	23

	<210>	941	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	941	
		ucuucucugu uuuggccaug ug	22
	<210>	942	
10	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	942	
15		cugacuguug ccguccuca g	21
	<210>	943	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
20	<213>	Homo sapiens	
	<400>	943	
		aaauuauugu acaucggaug ag	22
25	<210>	944	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	944	
30		uucaacgggu auuuauugag ca	22
	<210>	945	
	<211>	23	
35	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	945	
40		uuuggcacua gcacauuuuu gcu	23
	<210>	946	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
45	<400>	946	
		aaucaugugc agugccaaua ug	22
	<210>	947	
50	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	947	
55		ugagguagua aguuguauug uu	22
	<210>	948	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
60	<213>	Homo sapiens	
	<400>	948	
		aaccguaga uccgaucuug ug	22

	<210>	949	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
5	<400>	949	
		caagcucgcu ucuauggguc ug	22
	<210>	950	
10	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	950	
15		cacccguaga accgaccuug cg	22
	<210>	951	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
20	<213>	Homo sapiens	
	<400>	951	
		caagcucgug ucuguggguc cg	22
25	<210>	952	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Virus del herpes simple 1	
30	<400>	952	
		uggaaggacg ggaaguggaa g	21
	<210>	953	
	<211>	24	
35	<212>	ARN	
	<213>	Virus del herpes simple 1	
	<400>	953	
		ccugagccag ggacgagugc gacu	24
40	<210>	954	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Virus del herpes simple 1	
45	<400>	954	
		ucgcacgcgc ccggcacaga cu	22
	<210>	955	
50	<211>	20	
	<212>	ARN	
	<213>	Virus del herpes simple 1	
	<400>	955	
55		cugggacugu gcgguuggga	20
	<210>	956	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
60	<213>	Virus del herpes simple 1	
	<400>	956	
		cuugccuguc uaacucgcu gu	22

	<210>	957	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Virus del herpes simple 1	
5	<400>	957	
		gguagaguuu gacaggcaag ca	22
	<210>	958	
10	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Virus del herpes simple 1	
	<400>	958	
15		gucagagauc caaaccucc gg	22
	<210>	959	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
20	<213>	Virus del herpes simple 1	
	<400>	959	
		cacuucccggu ccuuccauc c	21
25	<210>	960	
	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
30	<400>	960	
		auuacaggaa acugggugua agc	23
	<210>	961	
35	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
	<400>	961	
40		uaguguuguc cccccgagug gc	22
	<210>	962	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
45	<400>	962	
		ugguguuguc cccccgagug gc	22
	<210>	963	
50	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
	<400>	963	
55		uuaaugcuua gccugugucc ga	22
	<210>	964	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
60	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
	<400>	964	
		accaggccac cauuccucuc cg	22

	<210>	965	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
5	<400>	965	
		aacuguaguc cgggucgauc ug	22
	<210>	966	
10	<211>	23	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
	<400>	966	
15		ucacauucug aggacggcag cga	23
	<210>	967	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
20	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
	<400>	967	
		ucgcgguccac agaaugugac a	21
25	<210>	968	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
30	<400>	968	
		uagaaucug aggccuagcu ga	22
	<210>	969	
	<211>	22	
35	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
	<400>	969	
40		agcuaaacccg caguacucua gg	22
	<210>	970	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
45	<400>	970	
		uaggaugccu ggaacuugcc gg	22
	<210>	971	
50	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
	<400>	971	
55		ugaugguuuu cgggcuguug ag	22
	<210>	972	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
60	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
	<400>	972	
		ccagcagcac cuaauccauc gg	22

	<210>	973	
	<211>	21	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcoma de Kaposi	
5	<400>	973	
		ugaucCCAUG uugcUGGCGC U	21
10	<210>	974	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcomas de Kaposi	
15	<400>	974	
		uagGCGCGAC ugagagagca CG	22
20	<210>	975	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcomas de Kaposi	
	<400>	975	
		cUGGGUauac gCagcUGCGU aa	22
25	<210>	976	
	<211>	22	
	<212>	ARN	
	<213>	Herpesvirus asociado a sarcomas de Kaposi	
30	<400>	976	
		acCCagcUGC gUaaacCCCG CU	22
35	<210>	977	
	<211>	14	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
40	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
45	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(14)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos,	
	<400>	977	
		cacgattagc atta	14
50	<210>	978	
	<211>	6	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
55	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
60	<220>		
	<221>	misc_feature	
	<222>	(1)..(6)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos,	
	<400>	978	
		gcatta	6
65	<210>	979	

ES 2 689 508 T3

	<211>	7	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
5	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
10	<222>	(1)..(7)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos,	
	<400>	979	
	agcatta		7
15	<210>	980	
	<211>	10	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia artificial	
20	<220>		
	<223>	Oligómero de LNA	
	<220>		
	<221>	misc_feature	
25	<222>	(1)..(10)	
	<223>	Enlaces de LNA y fosforotioato completos,	
	<400>	980	
30	attagcatta		10

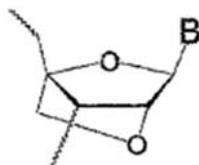
REIVINDICACIONES

1. Un oligómero de una secuencia de nucleobases contigua de 7-12 nucleobases de longitud, en el que todas las unidades de nucleobases del oligómero son unidades de LNA, y en el que al menos el 75 % de los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases de la secuencia de nucleobases contiguas son enlaces internucleosídicos de fosforotioato, y en el que el oligómero es capaz de reducir la cantidad eficaz de un microARN en una célula o *in vivo*.
2. Un oligómero de una secuencia de nucleobases contigua de 7-12 nucleobases de longitud, en el que todas las unidades de nucleobases del oligómero son unidades de LNA, y en el que al menos el 75 % de los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases de la secuencia de nucleobases contiguas son enlaces internucleosídicos de fosforotioato, y en el que el oligómero es capaz de reducir la cantidad eficaz de un microARN en una célula o *in vivo*, en el que el oligómero es para uso como medicamento.
3. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 1 o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la secuencia de nucleobases contigua comprende una secuencia que es complementaria de una secuencia de microARN de mamífero, humana o vírica.
4. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que el oligómero tiene una longitud de 7 nucleobases.
5. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que el oligómero tiene una longitud de 8 nucleobases.
6. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que el oligómero tiene una longitud de 9 nucleobases.
7. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que el oligómero tiene una longitud de 10 nucleobases.
8. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-7, o el oligómero para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-7, en el que todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases de la secuencia de nucleobases contigua son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
9. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-8, o el oligómero para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-8, en el que la secuencia de nucleobases contigua comprende una secuencia que es un 100 % complementaria de la secuencia semilla de una secuencia de microARN humana.
10. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-9, o el oligómero para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en el que todas las unidades de LNA tienen la fórmula:



45 en la que X se selecciona del grupo que consiste en O, S y NR^H, en el que R^H es H o alquilo C₁₋₄ e Y es (-CH₂)_r, en el que r es un número entero de 1-4; y B es una base nitrogenada.

11. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-9, o el oligómero para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en el que todas las unidades de análogos de nucleósidos bicíclicos son de la fórmula:



- en la que B es una base nitrogenada.
- 5 12. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 10, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el oligómero es de 7 nucleobases contiguas de longitud, y en el que todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases del oligómero son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
 - 10 13. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 11, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el oligómero es de 7 nucleobases contiguas de longitud, y en el que todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases del oligómero son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
 - 15 14. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 10, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el oligómero es de 8 nucleobases contiguas de longitud, y en el que todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases del oligómero son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
 - 20 15. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 11, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el oligómero es de 8 nucleobases contiguas de longitud, y en el que todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases del oligómero son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
 - 25 16. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 10, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el oligómero es de 9 nucleobases contiguas de longitud, y en el que todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases del oligómero son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
 - 30 17. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 11, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el oligómero es de 8 nucleobases contiguas de longitud, y en el que todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases del oligómero son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
 - 35 18. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 10, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el oligómero es de 10 nucleobases contiguas de longitud, y en el que todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases del oligómero son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
 - 40 19. El oligómero de acuerdo con la reivindicación 11, o el oligómero para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el oligómero es de 10 nucleobases contiguas de longitud, y en el que todos los enlaces internucleosídicos presentes entre las unidades de nucleobases del oligómero son enlaces internucleosídicos de fosforotioato.
 - 45 20. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10-19, o el oligómero para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10-19, en el que la secuencia de nucleobases contigua del oligómero es un 100 % complementaria de una secuencia de una secuencia de microARN humana y comprende una secuencia que es un 100 % complementaria de la secuencia semilla de dicha secuencia de microARN humana.
 - 50 21. Un conjugado que comprende el oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3-20 y al menos un resto no nucleotídico unido covalentemente con el mismo.
 - 55 22. El oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-20, o el conjugado de acuerdo con la reivindicación 21, para uso en medicina.
 - 60 23. Una composición farmacéutica que comprende el oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-20, o el conjugado de la reivindicación 21, y un diluyente, vehículo, sal o adyuvante farmacéuticamente aceptable.
 24. Un procedimiento *in vitro* para reducir la cantidad eficaz de un microARN en una célula, que comprende administrar un oligómero de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-20, un conjugado de acuerdo con la reivindicación 21, o la composición de acuerdo con la reivindicación 23 a la célula que está expresando dicho microARN para reducir la cantidad eficaz del microARN en la célula.

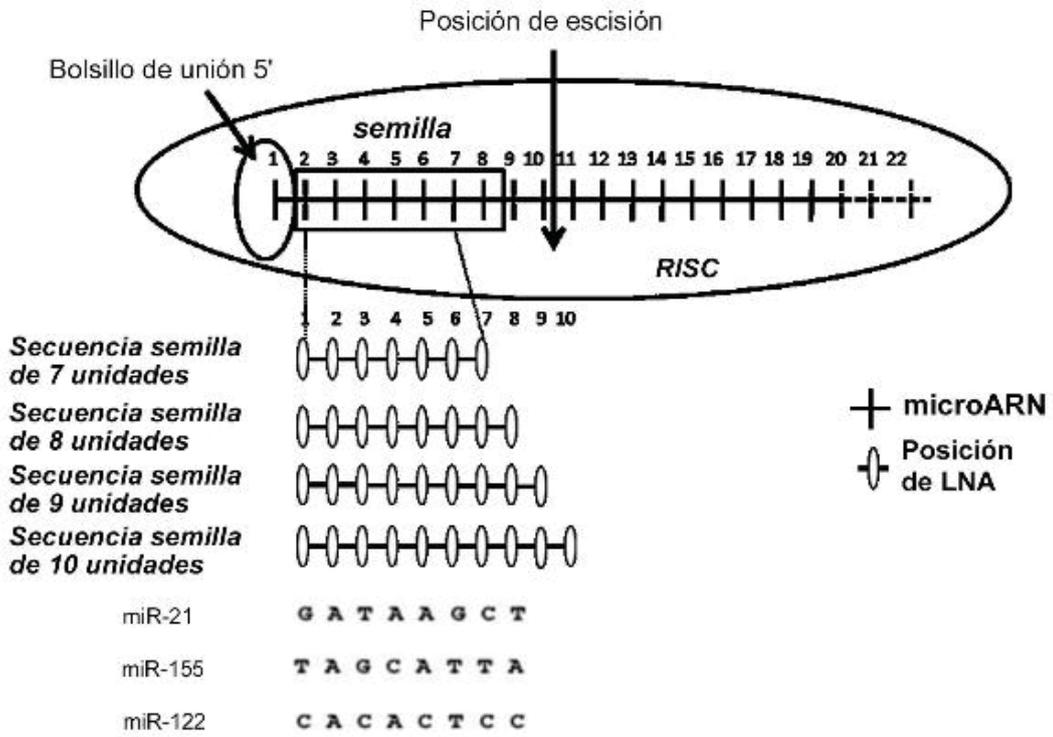


Figura 1

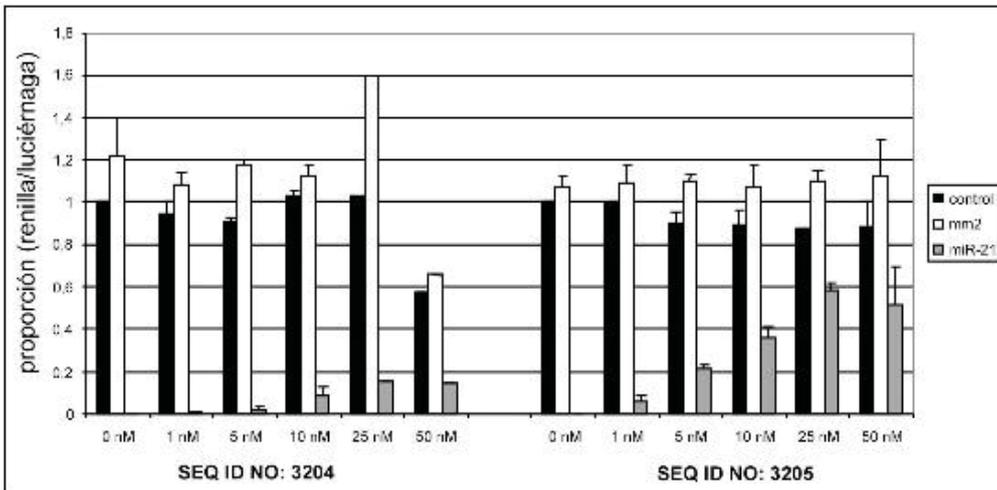


Figura 2

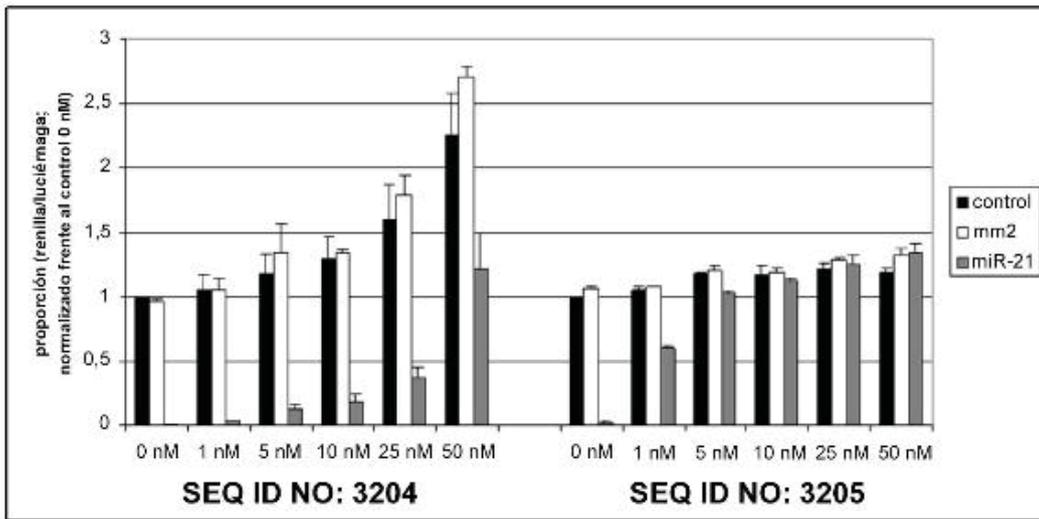


Figura 3

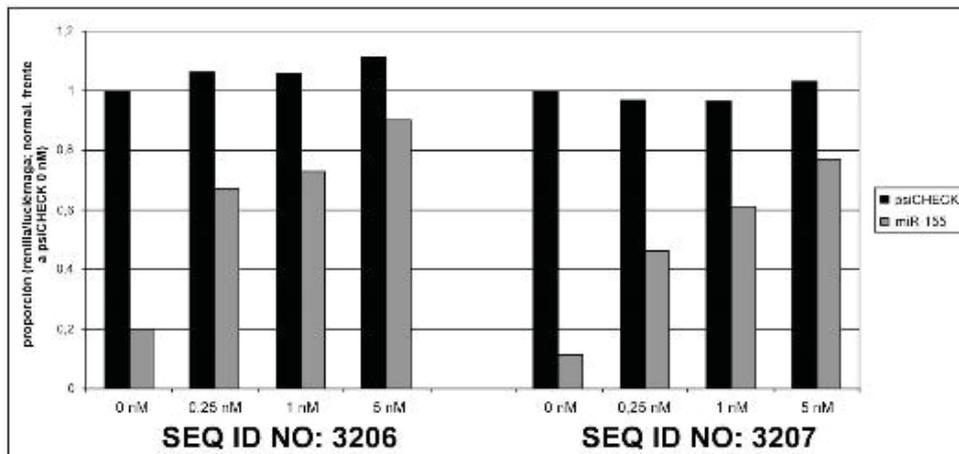


Figura 4

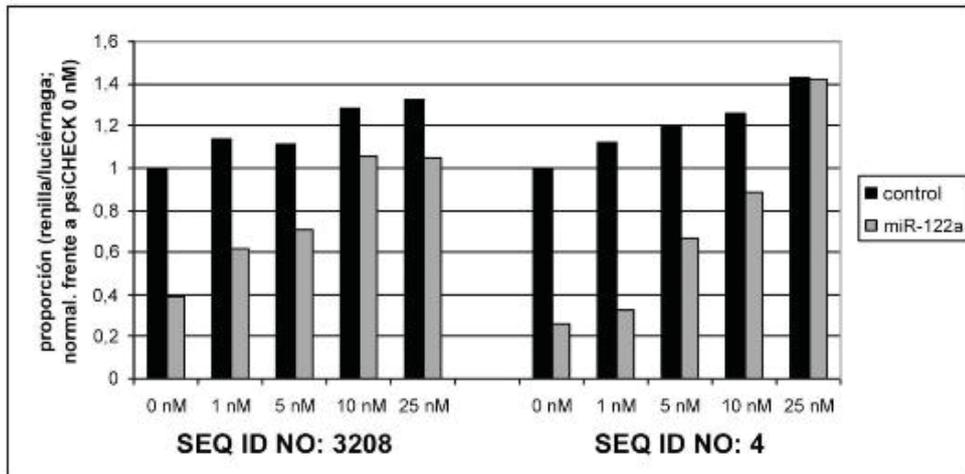


Figura 5

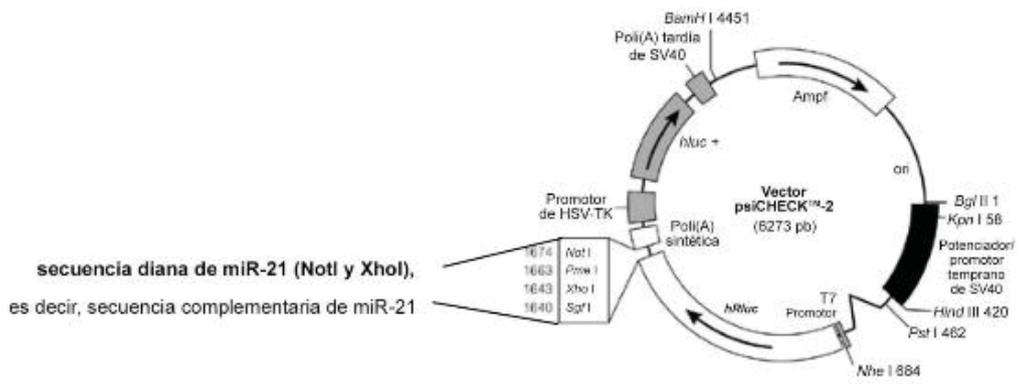


Figura 6

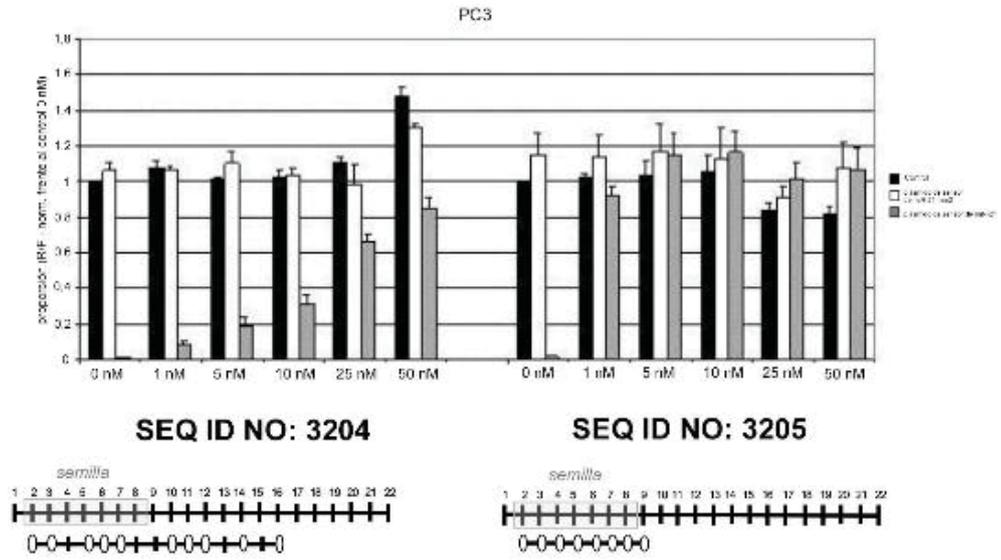


Figura 7

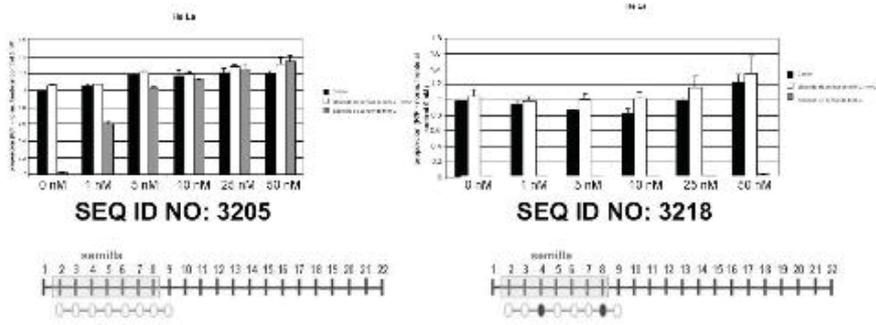


Figura 8

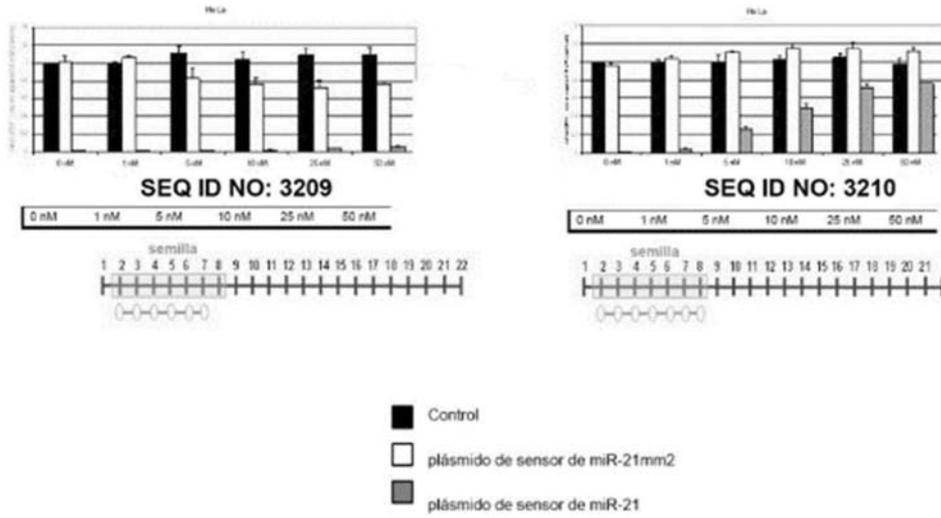


Figura 9

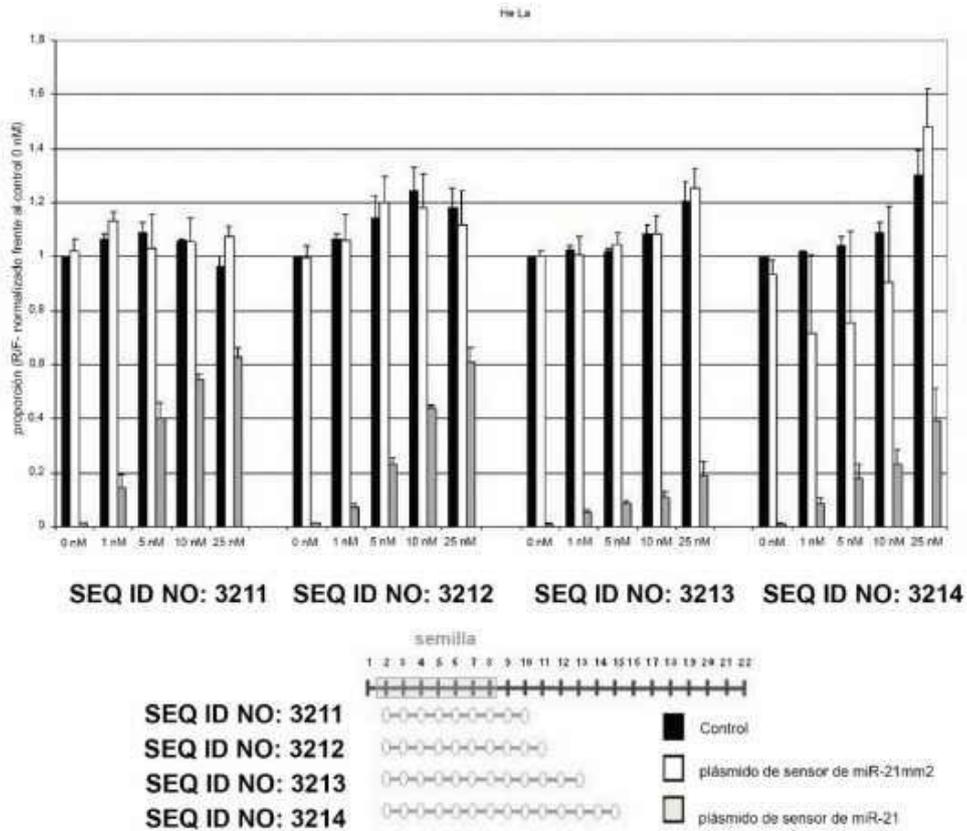


Figura 10

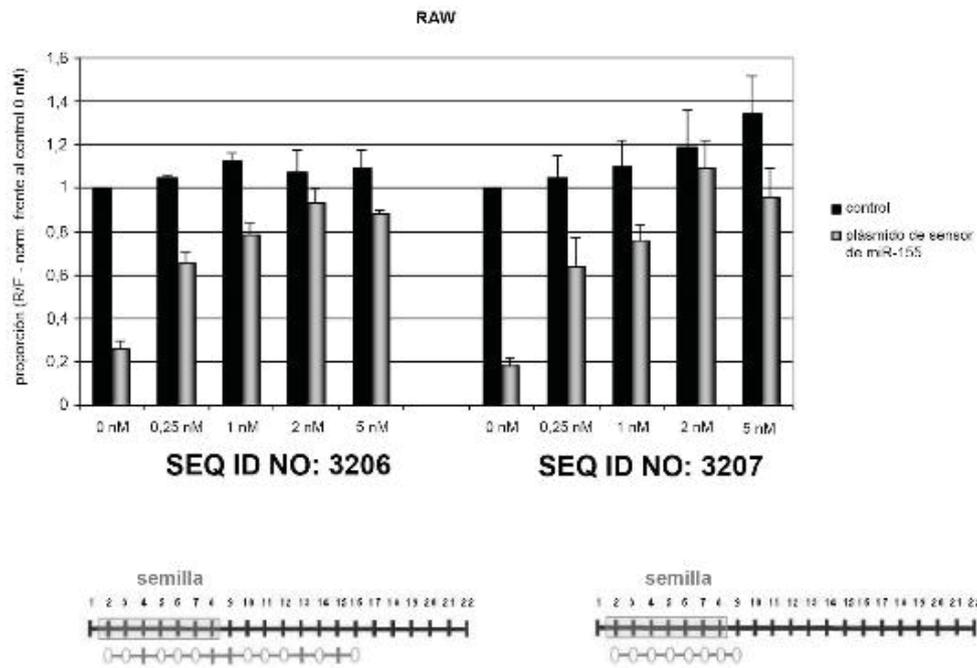


Figura 13



Figura 14

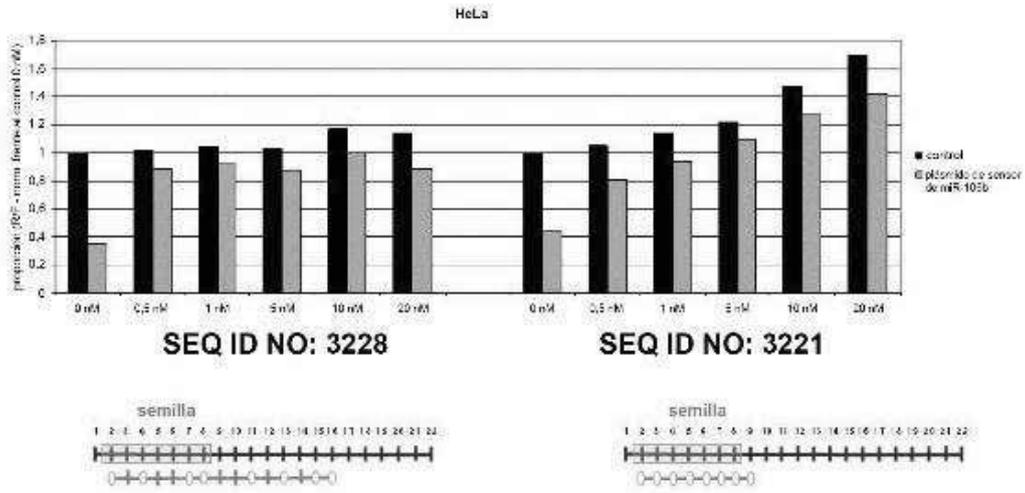


Figura 15

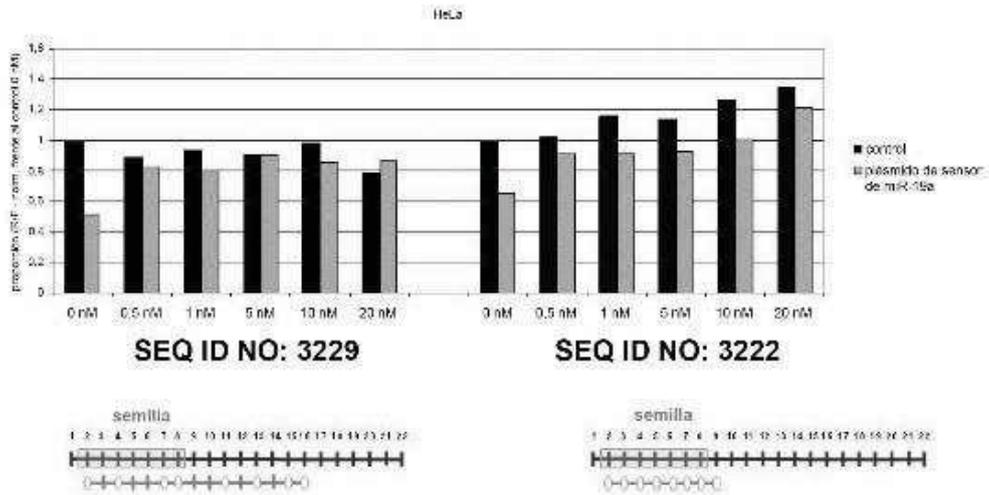


Figura 16

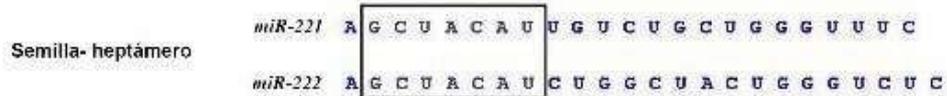


Figura 17

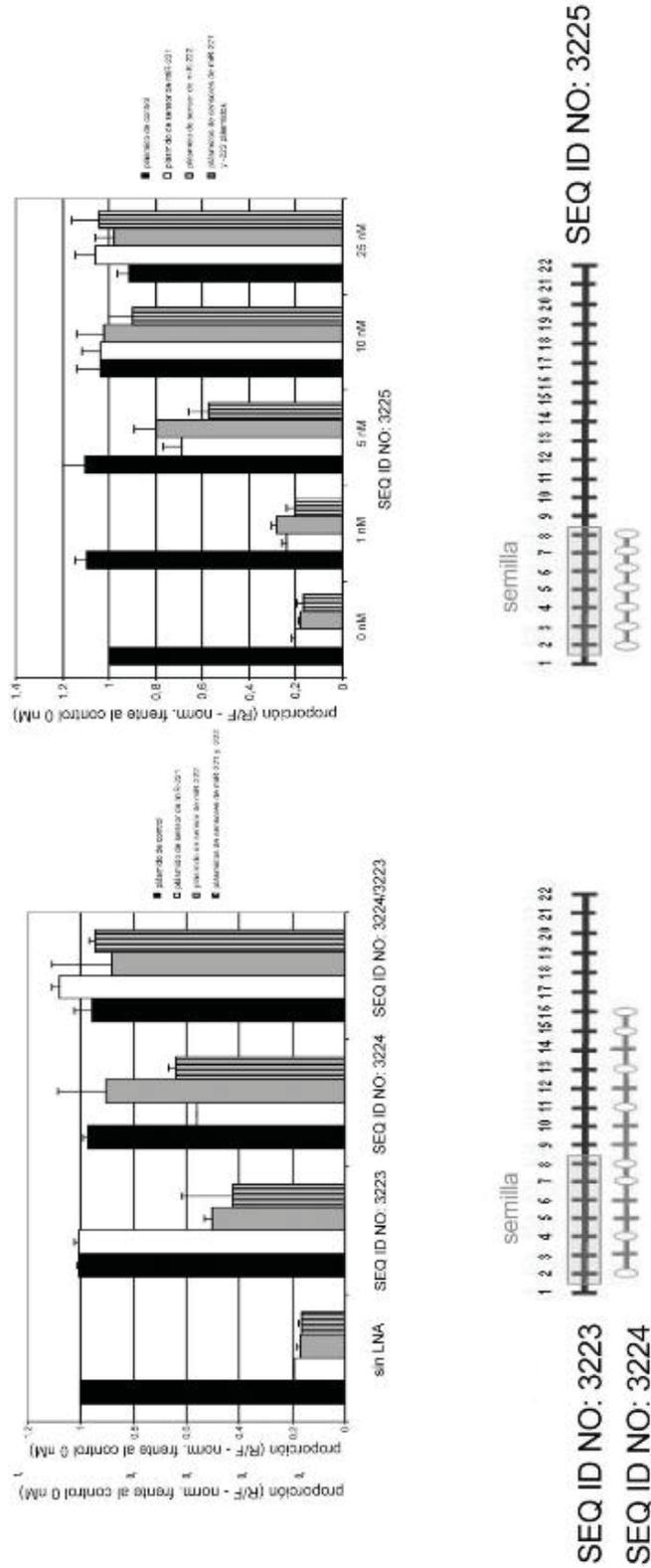


Figura 18

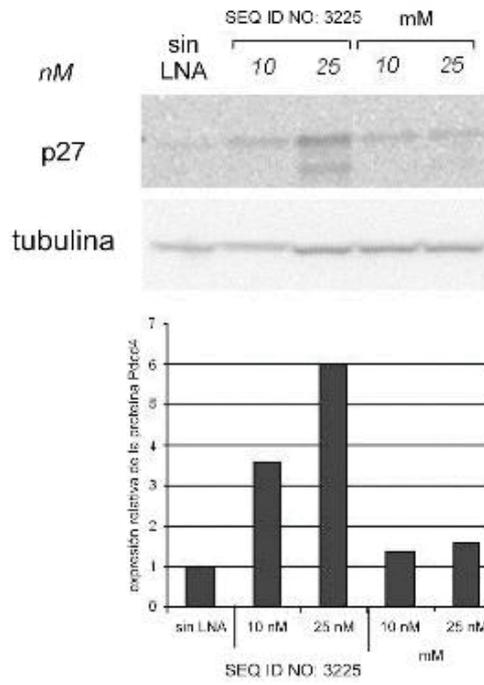


Figura 19

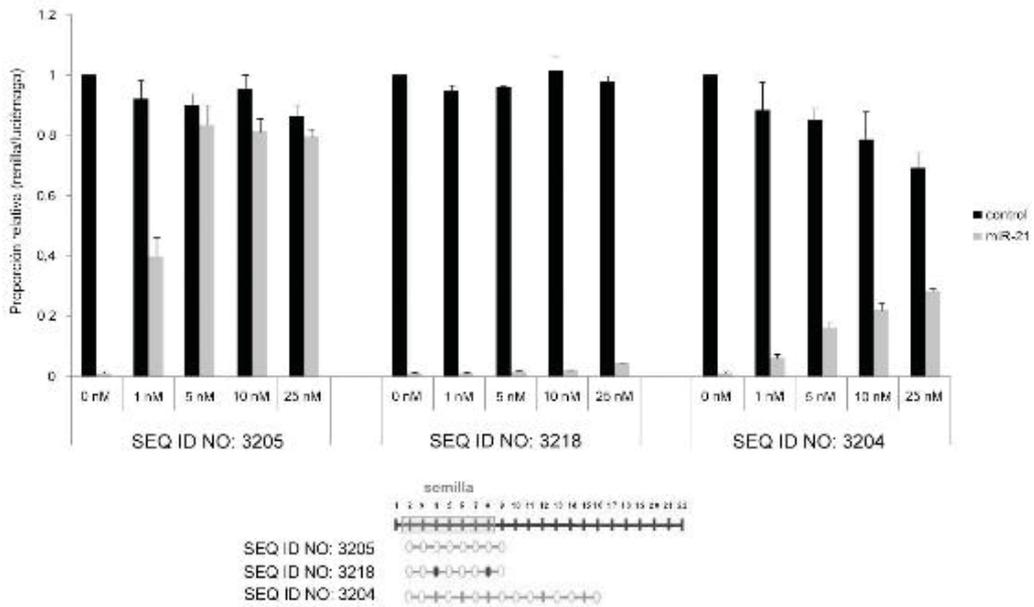


Figura 20

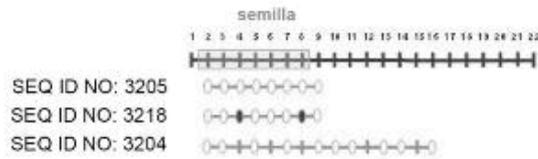
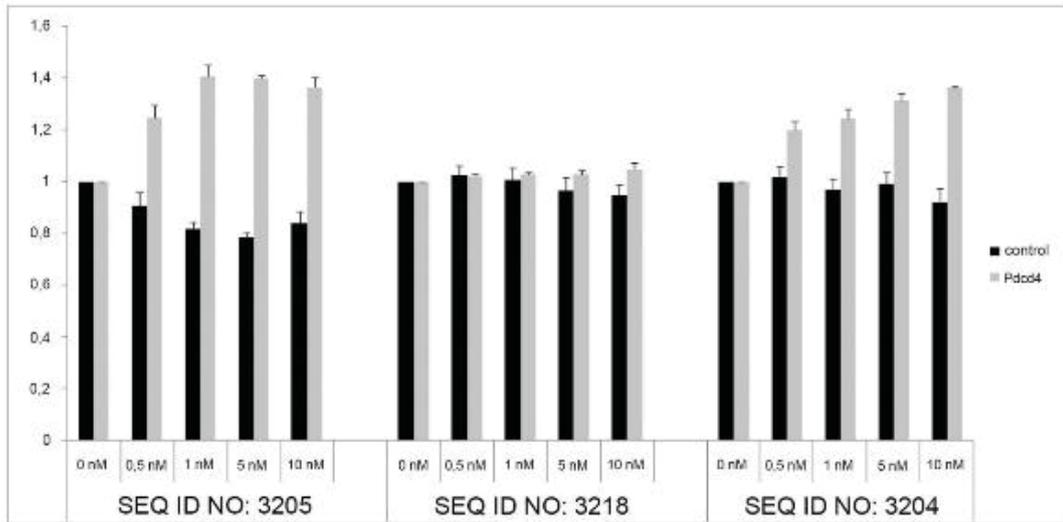
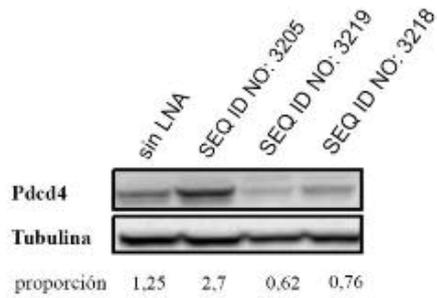


Figura 21



SEQ ID NO: 3205 5'- GATAAGCT - 3'
 SEQ ID NO: 3219 5'- CGTAATGA - 3'
 SEQ ID NO: 3218 5'- GGTAAACT - 3'

Figura 22

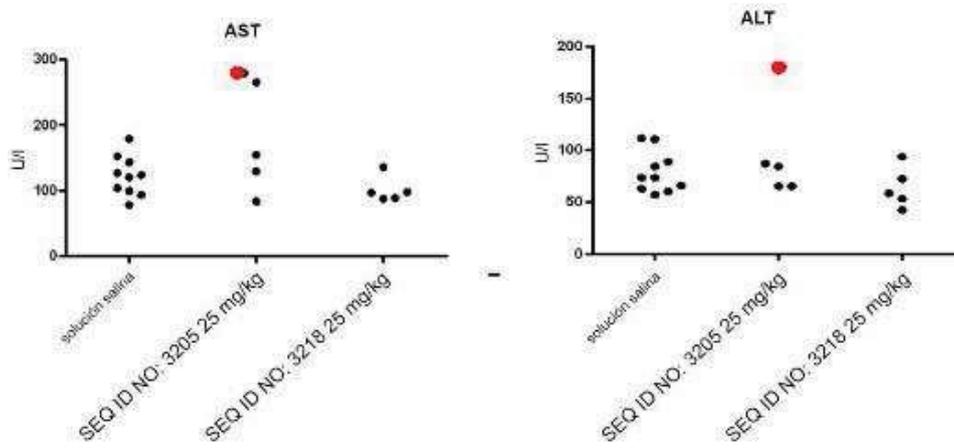


Figura 23

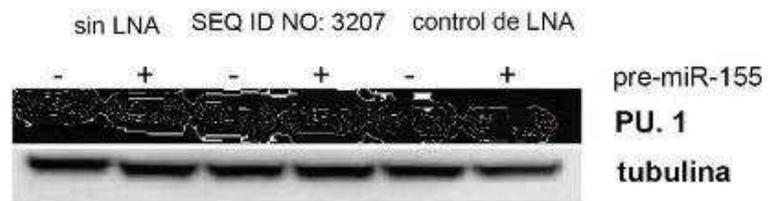


Figura 24



SEQ ID NO: 3225 5'- ATGTAGC -3'
 control de LNA 5'- GTAGACT -3'

Figura 25

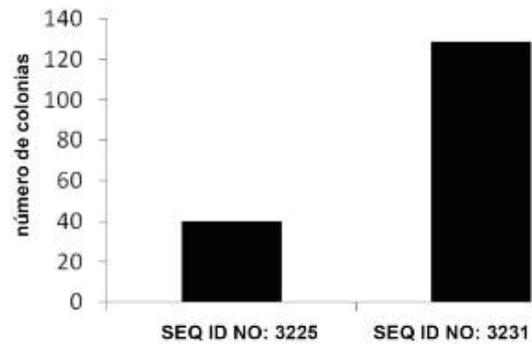


Figura 26

Nombre	Secuencia de miARN madura	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	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	0	0
let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	0	0
let-7d	AGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	1	1
let-7e	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	1	0	1
let-7f	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	1	1
let-7g	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	1	1
let-7i	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	1	1
miR-98	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	1	1

Número	Compuesto	Secuencia (5' a 3') ^a	Longitud (nt)	Diana(s) complementaria(s)
1.	SEQ ID NO: 3226	A-C-a-A-c-C-T-a-c-T-a-C-c-T-C	15	let-7a/b/c
2.	SEQ ID NO: 3236	G-C-a-A-c-C-T-a-c-T-a-C-c-T-C	15	let-7d
3.	SEQ ID NO: 3237	A-C-a-A-c-C-T-c-c-T-a-C-c-T-C	15	let-7e
4.	SEQ ID NO: 3238	A-C-a-A-a-C-T-a-c-T-a-C-c-T-C	15	let-7g/i
5.	SEQ ID NO: 3239	C-T-A-C-C-T-C	7	todos los miembros
6.	SEQ ID NO: 3240	C-T-A-A-C-T-C	7	ninguno
7.	SEQ ID NO: 3227	A-C-T-A-C-C-T-C	8	todos excepto let-7e
8.	SEQ ID NO: 3232	T-A-C-C-T-C	6	todos los miembros
9.	SEQ ID NO: 3234	T-N ₁ -C-T-A-C-C-T-C	9	todos los miembros ^b
10.	SEQ ID NO: 3235	T-N ₂ -C-T-A-C-C-T-C	9	todos los miembros ^b

^aLas letras mayúsculas y minúsculas denotan LNA y DNA, respectivamente.

^bAmbas secuencias de 9 unidades se dirigen teóricamente a todos los miembros ya que contienen 2 químicas de hibridación universal diferentes en su 2.^a posición.

Figura 27

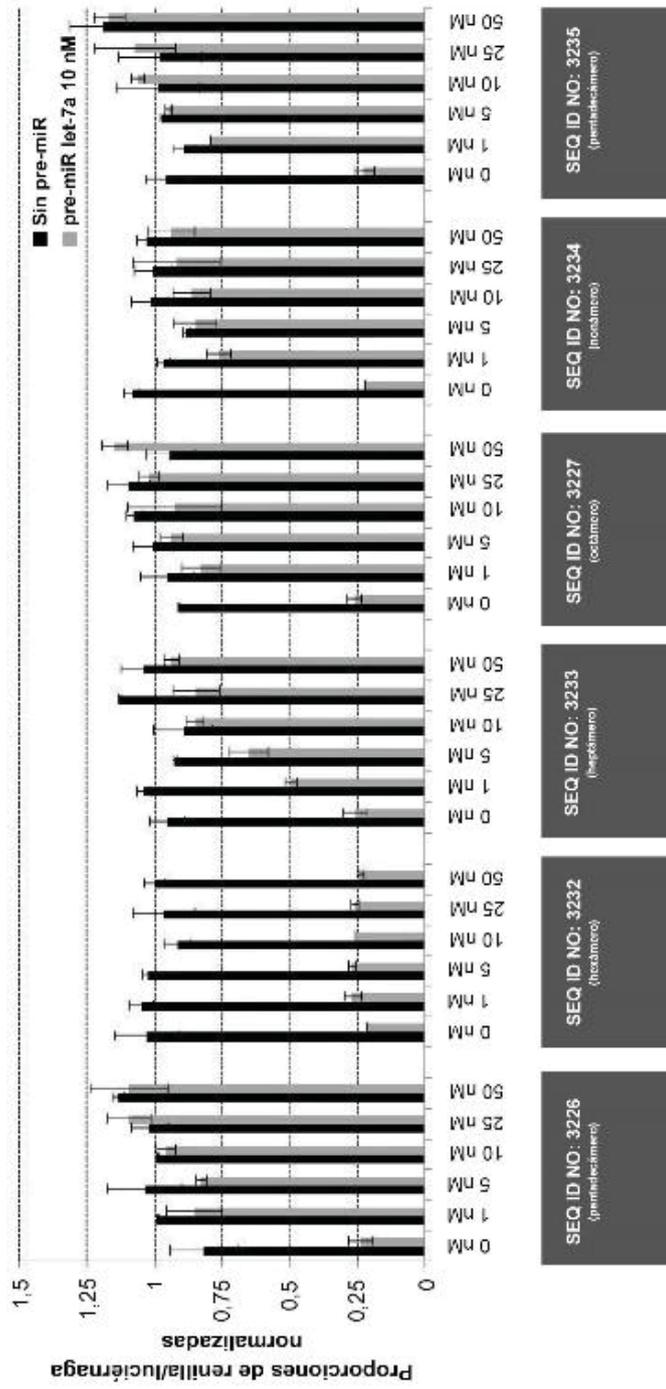


Figura 28

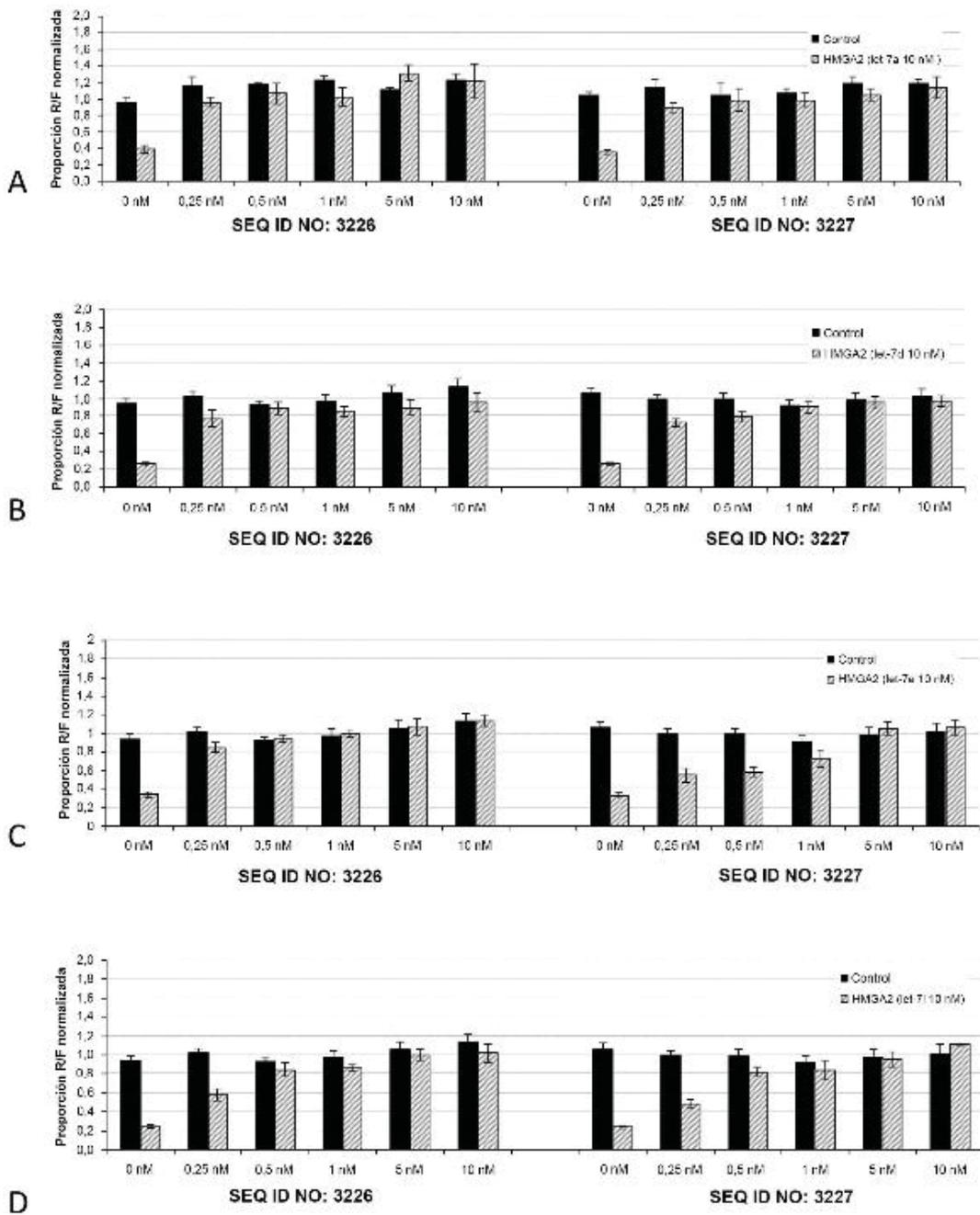


Figura 29

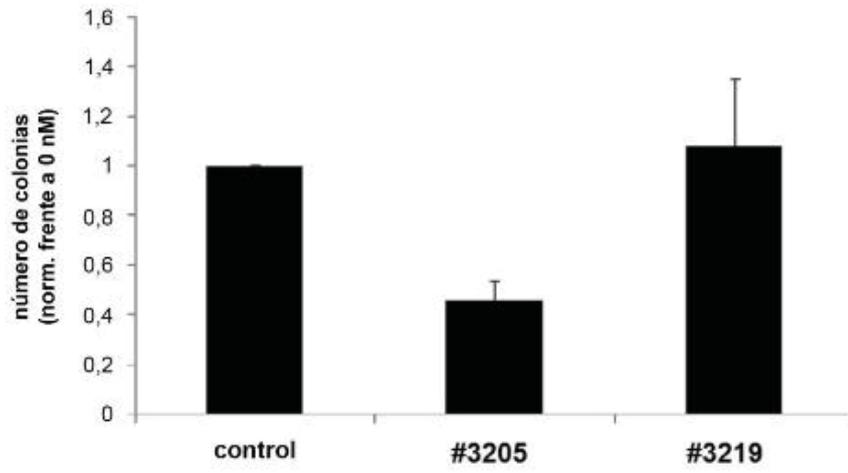


Figura 32.

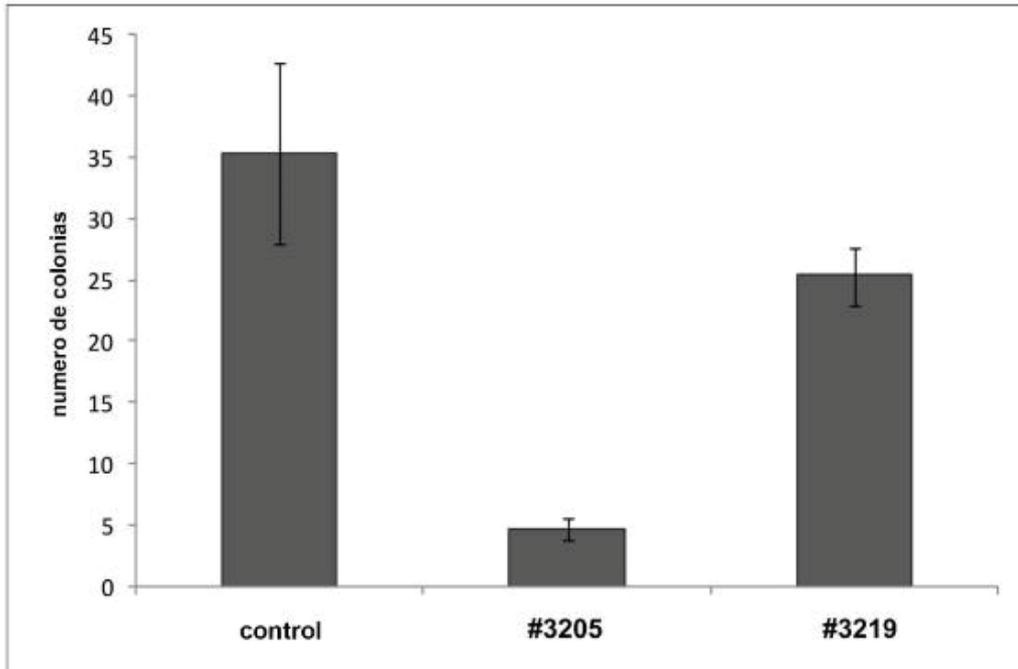
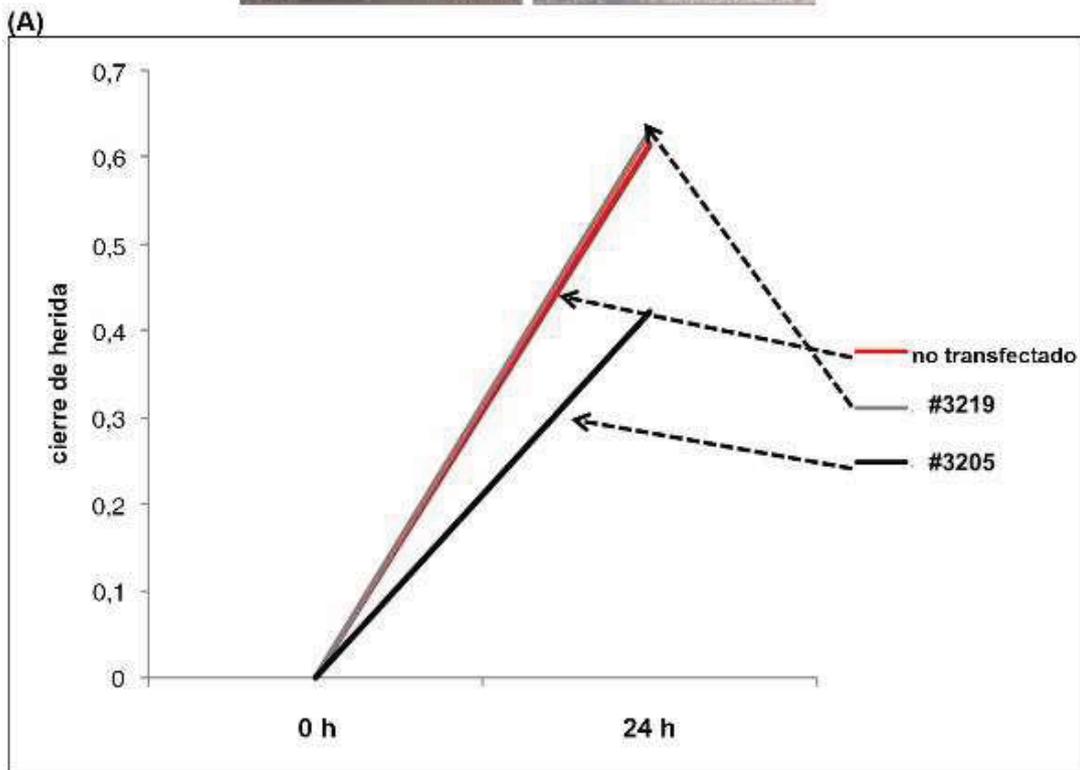
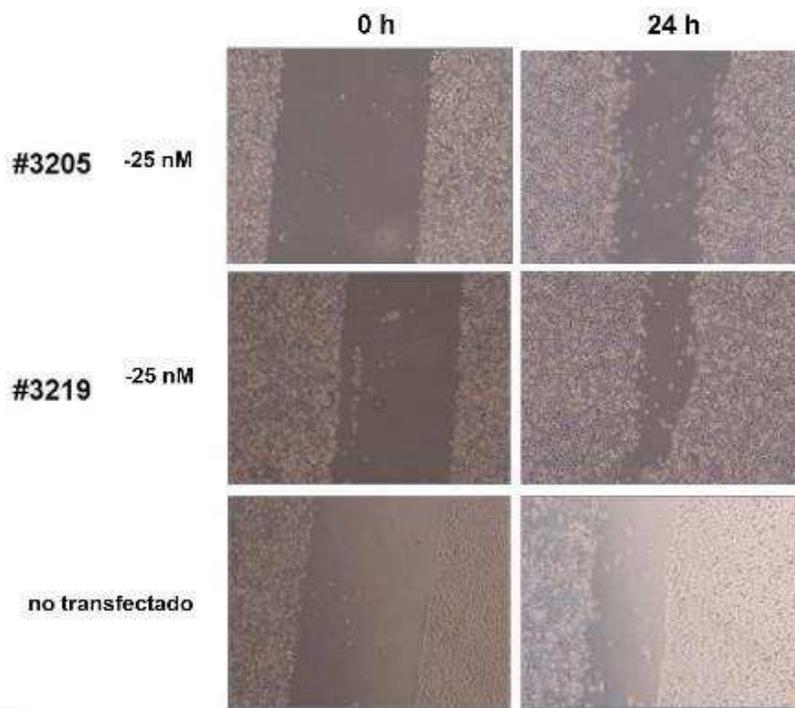


Figura 33.



(B) Figuras 34 A y B

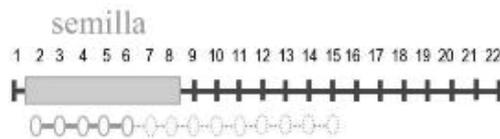
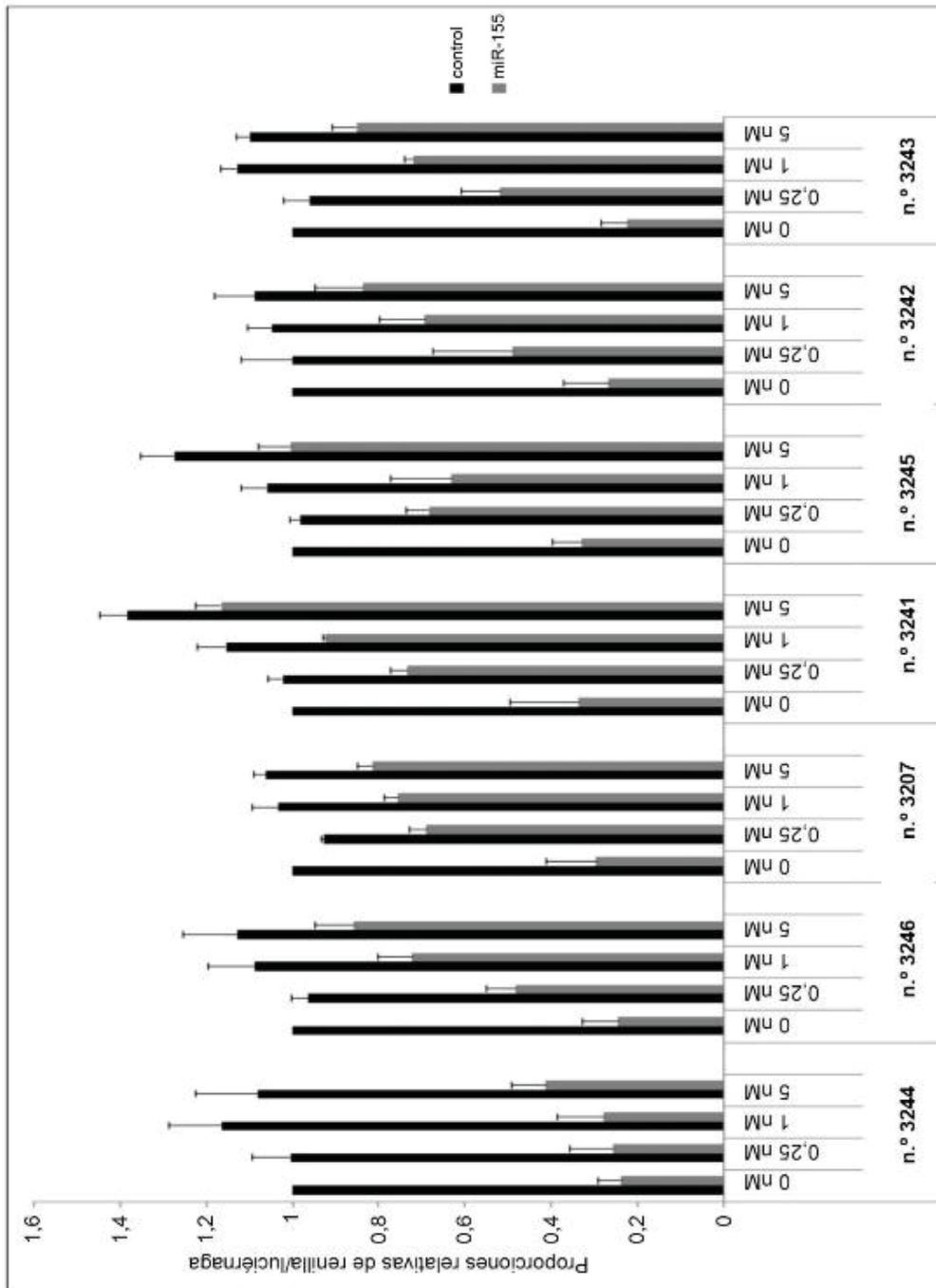
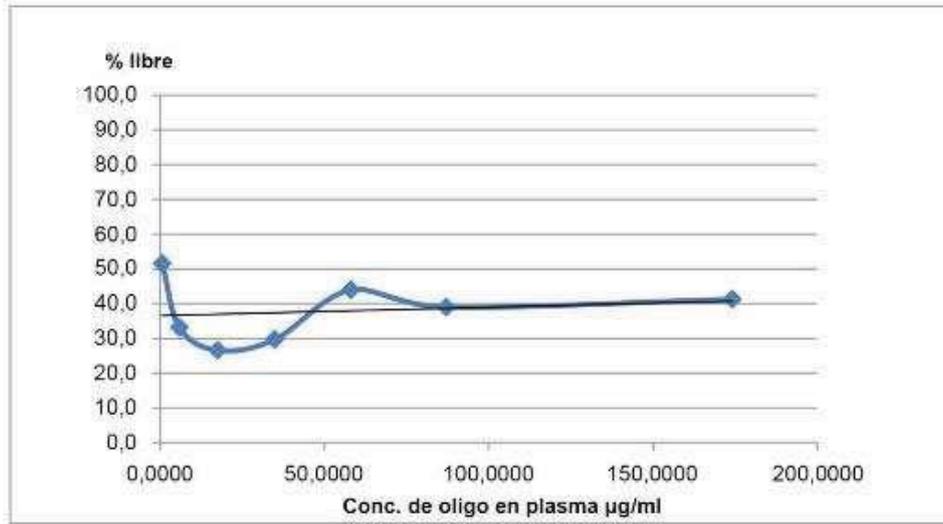
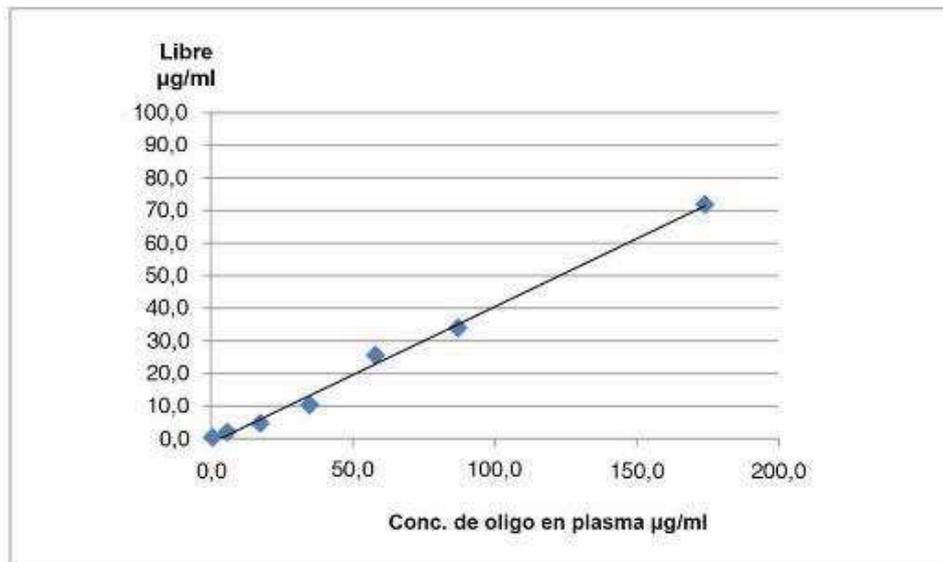


Figura 35.



A)



B)

Figura 36.

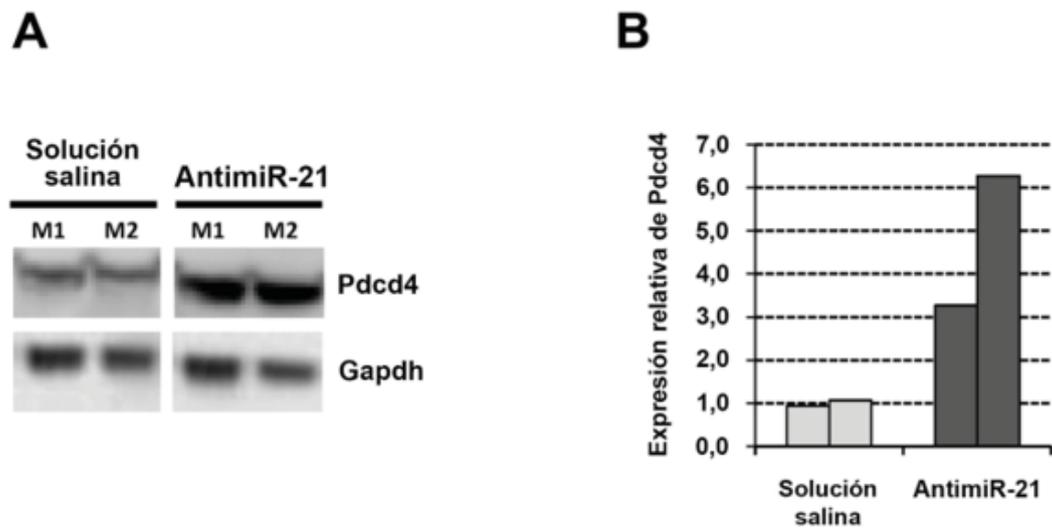


Figura 37.