



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2010-0100774
 (43) 공개일자 2010년09월15일

(51) Int. Cl.
C12N 15/113 (2010.01) *A61K 31/7105* (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2010-7009969
 (22) 출원일자(국제출원일자) 2008년10월03일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2010년05월04일
 (86) 국제출원번호 PCT/DK2008/000344
 (87) 국제공개번호 WO 2009/043353
 국제공개일자 2009년04월09일
 (30) 우선권주장
 08104780.5 2008년07월17일
 유럽특허청(EPO)(EP)
 (뒷면에 계속)

(71) 출원인
산타리스 팔마 에이/에스
 덴마크 디케이-2970 홀슬름 코글 알레 6
 (72) 발명자
오바드 수산나
 스웨덴 에스-217 55 말뫼 로슬린스 베크 18디
카우피넨 사카리
 덴마크 디케이-2765 스펠름 노르스케크로겐 12
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
박장원

전체 청구항 수 : 총 33 항

(54) 마이크로MIRs

(57) 요약

본 발명은 생체내에서 마이크로RNA를 표적화 및 억제하는, 고도로 변형된 매우 짧은 올리고뉴클레오타이드, 및 의약으로서의 이들의 용도 및 의약 조성물에 관한 것이다.

(72) 발명자

엘렌 요아킵

스웨덴 에스-211 52 말뚝 퍼레닝스가텐 61

린도우 모르텐

덴마크 디케이-2450 코펜하겐 에스브이 토마스 코
펠스 알레 22씨

하이덴블라트 마르쿠스

스웨덴 에스-226 47 룬드 만탈스크로켄 9

(30) 우선권주장

60/977,497 2007년10월04일 미국(US)

60/979,217 2007년10월11일 미국(US)

61/028,062 2008년02월12일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

올리고머 세포 또는 기관에서 마이크로RNA 표적의 유효량을 감소시키는데 사용하기 위한, 길이가 7, 8, 9 또는 10 뉴클레오타이드 유닛인 인접 서열을 갖는 올리고머: 여기서 상기 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛의 적어도 70%는 LNA 유닛 및 2' 치환된 뉴클레오타이드 유사체로 이루어진 군 중에서 선택되며, 상기 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛의 적어도 50%는 LNA 유닛이고, 인접 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드 유닛들 사이에 존재하는 인터뉴클레오타이드 결합은 포스포로티오에이트 인터뉴클레오타이드 결합인 것인 길이가 7, 8, 9 또는 10 뉴클레오타이드 유닛인 인접 서열을 갖는 올리고머.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드 유닛들 사이에 존재하는 모든 인터뉴클레오타이드 결합은 포스포로티오에이트 인터뉴클레오타이드 결합인 것인 올리고머.

청구항 3

제2항에 있어서, 올리고머의 길이는 7, 8 또는 9 인접뉴클레오타이드이고, 여기서 상기 인접 뉴클레오타이드 유닛은 LNA 유닛 및 2' 치환된 뉴클레오타이드 유사체로 이루어진 군 중에서 독립적으로 선택되는 것인 올리고머.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛의 적어도 70%는 LNA 유닛인 것인 올리고머.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 하나의 항에 있어서, 올리고머의 모든 뉴클레오타이드 유닛은 LNA 유닛인 것인 올리고머.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 miR-21, miR-155, miR-221, miR-222, 및 miR-122로 이루어진 군 중에서 선택된 마이크로RNA (miRNA) 서열의 대응하는 영역에 상보적인 것인 올리고머.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 miRNA는 miR-1, miR-10b, 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, 및 miR-520c/e로 이루어진 군 중에서 선택되는 것인 올리고머.

청구항 8

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 miR-17-5p, miR-20a/b, miR-93, miR-106a/b, miR-18a/b, miR-19a/b, miR-25, miR-92a, , miR-363으로 이루어진 군 중에서 선택된 마이크로RNA 등의 miR 17-92 중에 존재하는 마이크로RNA (miRNA) 서열의 대응하는 영역에 상보적인 것인 올리고머.

청구항 9

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 표1에 수록된 miRNA들로 이루어진 군 중에서 선택된 포유동물, 인간 또는 바이러스 마이크로RNA (miRNA) 서열의 대응하는 영역에 상보적인 것인 올리고머.

청구항 10

제1항 내지 제5항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 W02008/046911에 설명된 바

와 같은 SEQ ID NO 1-558의 miRNA로 이루어진 군 중에서 선택된 포유동물, 인간 또는 바이러스의 마이크로RNA (miRNA)의 대응하는 영역에 상보적인 것인 올리고머.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 하나의 항에 있어서, 올리고머의 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 상기 마이크로 RNA의 씨드 서열에 상보적인 서열로(을) 구성되거나 포함하는 것인 올리고머.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 하나의 항에 있어서, 올리고머의 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 표 1에 기재된 7mer, 8mer 또는 9mer 씨드 서열로 이루어진 군 중에서 선택된 서열로(을) 구성되거나 포함하는 것인 올리고머.

청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서, 씨드머의 3' 뉴클레오타이드는 상기 인접 뉴클레오타이드 서열의 3' 최말단 뉴클레오타이드를 형성하고, 여기서 인접 뉴클레오타이드 서열은 하나 또는 두개의 추가적인 5' 뉴클레오타이드를 포함하여도 좋은 것인 올리고머.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 하나의 항에 있어서, 올리고머의 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 5' 말단으로부터 세어서 마이크로RNA 서열 내에 존재하는 첫번째 뉴클레오타이드에 대응하는 뉴클레오타이드는 포함하지 않는 것인 올리고머.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 하나의 항에 있어서, 뉴클레오타이드 유사체 유닛은 2'-O_알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, LNA 유닛, 및 2'-MOE RNA 유닛으로 이루어진 군 중에서 선택되는 것인 올리고머.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 하나의 항에 있어서, 뉴클레오타이드 유사체 유닛은 잠금 핵산 (LNA: Locked Nucleic Acid) 뉴클레오타이드 유사체 유닛인 것인 올리고머.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 하나의 항에 있어서, 올리고머의 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 miRNA 서열 등 적어도 2개의 miRNA 서열에 대응하는 서열에 상보적인 것이고, 올리고머 인접 뉴클레오타이드 서열 중 하나의 유니버설 뉴클레오타이드의 용도를 갖는 것인 올리고머.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 올리고머의 인접 뉴클레오타이드 서열은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 miRNA 씨드 영역 서열과 같은 적어도 두개의 miRNA 씨드 영역 서열의 서열에 상보적인 서열로(을) 구성되거나 포함하는 것인 올리고머.

청구항 19

제17항 또는 제18항에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 miR-221 및 miR-222 두가지 모두에 대한 대응하는 영역에 대하여 상보적인 것인 올리고머.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 5'GCUACAU3'에 상보적인 서열로(을) 구성되거나 포함하는 것인 올리고머.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 하나의 항에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 hsa-miR-122의 대응하는 영역에 상보적인 것인 올리고머.

청구항 22

제21항에 있어서, C형 간염 감염 및 고콜레스테롤혈증 및 관련 질환으로 이루어진 군 중에서 선택된 질환 또는 의학적 장애를 치료하는데 사용되기 위한 것인 올리고머.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 하나의 항에 있어서, 의약으로서의 올리고머.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 하나의 항에 있어서, 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 연관이 있는 질환 또는 의학적 장애를 치료하는데 사용되는 등의 의약으로서의 올리고머.

청구항 25

제1항 내지 제23항 중 어느 하나의 항에 기재된 올리고머와 약학적으로 허용되는 희석제, 담체, 염 또는 아췌반트를 포함하여 이루어지는 의약 조성물.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 올리고머는 제21항 또는 제22항에 기재된 것이고 상기 조성물은 ApoB 억제제 또는 MTP 억제제등과 같은 VLDL 어셈블리 경로의 억제제인 제2의 독립적인 활성 성분을 추가로 함유하는 것인 의약 조성물.

청구항 27

제21항 또는 제22항에 기재된 올리고머, 및 ApoB 억제제 또는 MTP 억제제등과 같은 VLDL 어셈블리 경로의 억제제인 제2의 독립적인 활성 성분을 포함하는 의약 조성물을 포함하는 키트.

청구항 28

제25항 또는 제26항에 기재된 의약 조성물을 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 연관이 있는 질환 또는 의학적 장애를 앓는 환자에게 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 연관이 있는 질환 또는 의학적 장애의 치료 방법.

청구항 29

제1항 내지 제24항 중 어느 하나의 항에 기재된 올리고머 및 적어도 하나의 비뉴클레오타이드 화합물을 포함하는 컨쥬게이트.

청구항 30

마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 연관이 있는 질환 또는 의학적 장애의 치료용 약제를 제조하기 위한, 전술한 항 중 어느 하나의 항에 정의된 올리고머 또는 컨쥬게이트의 용도.

청구항 31

전술한 항 중 어느 하나의 항에 정의된 올리고머 또는 컨쥬게이트의, 상기 마이크로RNA를 포함하는 세포에 있어서, 상기 마이크로RNA를 억제하기 위한 용도.

청구항 32

세포에서 miRNA의 양, 또는 유효량을 감소시키기 위한 방법으로서, 상기 miRNA를 발현하는 세포에 전술한 항 중 어느 하나의 항에 따른 올리고머, 컨쥬게이트 또는 의약 조성물을 투여함으로써 세포 중에서 miRNA의 양 또는 유효량을 감소시키는 방법.

청구항 33

세포 내에서 miRNA에 의해 그의 발현이 억제되는 1종 이상의 mRNA을 탈억제하기 위한 방법으로서, 상기 mRNA의 발현을 탈억제하기 위하여, 전술한 항 중 어느 하나에 따른 올리고머, 킨주게이트 또는 의약 조성물을 상기 mRNA와 상기 miRNA의 두가지 모두를 발현시키는 세포에 투여하는 것을 포함하여 이루어지는 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 생체내에서 마이크로 RNA를 표적화하여 억제하는 매우 짧은 올리고뉴클레오타이드, 및 의약으로서의 이들의 용도 및 의약 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 마이크로 RNA (miRNAs)는 그의 표적 mRNA와 염기쌍을 형성함으로써, 유전자 발현의 전사 후 조절자 (post-transcriptional regulators)로서 기능하는 그 종류가 매우 풍부한 짧은 내인성 RNA이다. 이들은 RNase III 효소 다이서 (Dicer)에 의하여 프리-miRNA로 명명된 보다 긴 (약 70-80 nt) 헤어핀형 전구체로부터 만들어진다. 마이크로RNA는 miRNP로 명명된 리보뉴클레오타이드 단백질 복합체에서 조립되어 안티센스 상보성에 의해 그들의 표적 부위를 인식함으로써 그들의 표적 유전자의 하향 조절을 매개한다. miRNA와 그의 표적 부위 사이의 상보성이 거의 완벽하거나 또는 완벽한 경우에는 표적 mRNA이 절단되는 반면, 마이크로RNA와 그의 표적 부위 사이에 상보성이 제한적일 경우에는 표적 유전자의 번역이 억제되는 결과가 초래된다.

[0003] 인간의 질병에 있어서의 마이크로RNA의 역할과, 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드를 이용한 마이크로RNA의 억제 방법이 WO2007/112754 및WO2007/112753에 개시되어 있으며, 이들 문헌은 그 내용 전부가 본 발명에 참고로 통합된다. 역시 본 발명에 참고로 통합되는 WO2008046911은 암과 연관이 있는 마이크로RNA 서열을 제공하고 있다. 수많은 마이크로RNA들이 여러가지 질병의 표현형과 연관이 있기 때문에 생체 내에서 마이크로RNA의 이용성을 조절할 수 있는 물질을 제공하는 것이 바람직하다. WO2007/112754와 WO2007/112753은 그들의 표적 miRNA와 강력한 듀플렉스를 형성하는 것으로 여겨지는 단일 가닥의 짧은 올리고뉴클레오타이드를 개시하고 있다. SEQ ID NO. 1-45는 WO2007/112754와 WO2007/112753에 개시된 항 마이크로RNA 올리고뉴클레오타이드의 예이다.

[0004] **관련 출원**

[0005] 본 출원은 다음의 4개 출원, 즉: 2007년 10월 4일자 US 60/977497, 2007년 10월 11일자 US 60/979217, 2008년 2월 12일자 US 61/028062 및 2008년 7월 17일자 EP08104780에 기초한 우선권을 주장하며, 이들 문헌은 모두 본 발명에 참고로 통합된다. 또한, 본 출원인의 선행 출원인 WO2007/112754 및 WO2007/112753의 내용도 본 발명에 참고로 통합된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] **발명의 개요**

[0007] 본 발명은 마이크로RNA를 표적화하고, LNA 뉴클레오타이드와 같이 뉴클레오타이드 유사 뉴클레오타이드 비율이 높은 매우 짧은 올리고뉴클레오타이드를 사용하는 것이, 생체내에서 표적화 마이크로RNA에 의해, mRNA와 같은 RNA의 억제를 경감시키는데 매우 효과적이라는 발견에 기초한 것이다.

[0008] 본 발명은 세포 또는 생명체에서 마이크로RNA 표적의 유효량을 감소시키기 위한, 길이가 7, 8, 9 또는 10개 뉴클레오타이드 유닛인 인접 (contiguous) 서열로 된 올리고머를 제공하는데, 여기서 상기 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛의 70% 이상, 예컨대 80% 이상은 LNA 유닛과 2' 치환된 뉴클레오타이드 유사체로 이루어진 군으로부터 선택된 것이다.

[0009] 본 발명은 세포 또는 생명체에서 마이크로RNA 표적의 유효량을 감소시키기 위한, 길이가 7, 8, 9 또는 10개 뉴클레오타이드 유닛인 인접 서열로 된 올리고머를 제공하는데, 여기서 상기 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛의 70% 이상은 LNA 유닛과 2' 치환된 뉴클레오타이드 유사체로 이루어진 군으로부터 선택된 것이며, 여기서 상기 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛의 적어도 50%, 예컨대 적어도 60%, 예컨대 적어도 70%는 LNA 유닛이다.

- [0010] 본 발명은 예컨대 7, 8, 9개의 뉴클레오타이드 유닛과 같이 총 7 내지 10개의 뉴클레오타이드로 된 인접 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 올리고머로서, 그 올리고머 유닛의 적어도 50%는 뉴클레오타이드 유사체인 것인, 7 내지 10개 뉴클레오타이드 길이의 올리고머를 제공한다.
- [0011] 본 발명은 또한 7, 8, 9 또는 10개 뉴클레오타이드 유닛과 같이, 총 7 내지 10개 뉴클레오타이드의 인접 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 7 내지 10개 뉴클레오타이드 길이의 올리고머를 제공하는데, 여기서, 상기 뉴클레오타이드 서열은 포유류 또는 바이러스의 마이크로RNA에서 발견되는 대응하는 뉴클레오타이드 서열과 상보적인 것이고, 상기 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛의 적어도 50%는 뉴클레오타이드 유사체인 것이다.
- [0012] 본 발명은 의약으로서의 본 발명에 따른 올리고머를 제공한다.
- [0013] 본 발명은 본 발명에 따른 올리고머와 약학적으로 허용되는 희석제, 담체, 염 또는 아췌반트를 포함하는 의약 조성물을 제공한다.
- [0014] 본 발명은, 본 발명에 따른 올리고머가 1종 이상의 스테롤, 예컨대 콜레스테롤과 같은 비뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 물질에 컨췌게이션된 컨췌게이트를 제공한다.
- [0015] 본 발명은 본문에 개시된 1종 이상의 마이크로RNA와 같은 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 연관된 질병 또는 의학적 장애를 치료하기 위한 의약을 제조하는데 있어서의 본 발명에 따른 올리고머 또는 컨췌게이트의 용도를 제공한다.
- [0016] 본 발명은 본 발명에 따른 올리고머 또는 컨췌게이트를 포함하는 조성물을 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 연관된 질병 또는 의학적 장애를 앓고 있는 환자에게 투여하는 단계를 포함하여 이루어지는, 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 연관된 질병 또는 의학적 장애를 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0017] 본 발명은 본 발명의 올리고머 또는 본 발명에 따른 올리고머나 컨췌게이트를 포함하는 조성물 (예컨대 의약 조성물)을 세포 또는 생명체에게 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 세포 또는 생명체에서 마이크로RNA 표적의 유효량을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0018] 본 발명은 본 발명에 따른 올리고머 또는 컨췌게이트 또는 의약 조성물을 세포 또는 생명체에게 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 세포 또는 생명체에서 마이크로RNA 표적의 유효량을 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0019] 본 발명은 본 발명에 따른 올리고머, 또는 상기 올리고머나 컨췌게이트를 함유하는 조성물을 세포 또는 생명체에게 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 상기 세포 또는 생명체에 있어서 표적 mRNA (또는 1 이상의 RNA)를 탈억제 (de-repression)시키는 방법을 제공한다.
- [0020] 본 발명은 인간 세포와 같이, 마이크로RNA를 포함하는 세포에서, 상기 마이크로RNA를 억제하기 위한, 본 발명에 따른 올리고머 또는 컨췌게이트의 용도를 제공한다. 이러한 용도는 생체내 또는 시험관내의 경우를 모두 포괄할 수 있다.

과제의 해결 수단

- [0021] LNA가 통합되어 이는 짧은 올리고뉴클레오타이드는 시험관내 시약 분야에 알려져 있다 (예컨대 W02005/098029 및 W02006/069584 참조). 그러나 진단 또는 시약 용도로서 설계된 분자들은 생체내 또는 의약 용도로 사용되는 것들과는 그 구조가 매우 다르다. 예를 들어, 시약 올리고의 말단 뉴클레오타이드는 일반적으로 LNA가 아니라 DNA이고, 인터뉴클레오사이드 결합 (internucleoside linkages)은 일반적으로 본 발명의 올리고뉴클레오타이드에서 바람직한 결합으로서 사용되는 것인 포스포로티오에이트가 아니다. 본 발명은 따라서 그 자체가 새로운 부류인 올리고뉴클레오타이드 (본 발명에서 올리고머로 칭한다)를 제공한다.
- [0022] 다음의 구체예들은 의약 조성물에서 사용될 수 있는 본 발명의 올리고머의 특정 구체예에 관한 것이다. 본 발명의 올리고머에 관한 설명들은 인접 뉴클레오타이드 서열에 관한 것이기도 하고 그 역도 성립한다.
- [0023] **올리고머**
- [0024] 본 발명의 올리고머는 LNA와 같은 뉴클레오타이드 유사체를 포함하는 단일 가닥의 올리고뉴클레오타이드로서 여기서 상기 LNA와 같은 뉴클레오타이드 유사체는 상기 올리고뉴클레오타이드의 인접 뉴클레오타이드 서열의 일부 또는 전체를 형성한다.
- [0025] "올리고뉴클레오타이드" (또는 간단히 "올리고")라는 용어는 본 발명에서 "올리고머"라는 용어와 호환적으로 사용되며, 2개 이상의 뉴클레오타이드의 공유 결합에 의해 형성되는 분자를 지칭하는 것이다. 본 발명의 올리고뉴

클레오타이드 (단일 가닥의 올리고뉴클레오타이드라고도 칭함)라는 용어의 의미상, "올리고뉴클레오타이드"라는 용어는 한 가지 실시 상태에서, 7 내지 10개의 뉴클레오타이드, 예컨대 각각의 실시 상태로는 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오타이드를 갖는 것이다.

- [0026] "뉴클레오타이드"라는 용어는 DNA 및 RNA와 같은 뉴클레오타이드, 및 뉴클레오타이드 유사체를 가리킨다. 어느 측면에서는, 뉴클레오염기 (nucleobase)라는 용어 역시도 자연 발생적이거나 자연 발생적이지 않은 뉴클레오타이드를 가리키는데 이용될 수 있다 - 이러한 관점에서 뉴클레오염기 및 뉴클레오타이드라는 용어는 본 발명에서 호환적으로 사용될 수 있다.
- [0027] 어떤 실시 상태에서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 7개의 뉴클레오타이드 유사체로 구성된다. 어떤 실시 상태에서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 8개의 뉴클레오타이드 유사체로 구성된다. 어떤 실시 상태에서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 9개의 뉴클레오타이드 유사체로 구성된다.
- [0028] 한가지 실시 상태에서, 올리고머의 뉴클레오타이드의 적어도 약 50%, 예컨대 적어도 약 55%, 예컨대 적어도 약 60%, 또는 예컨대 적어도 약 65% 또는 예컨대 적어도 약 70%, 예컨대 적어도 약 75%, 예컨대 적어도 약 80%, 예컨대 적어도 약 85%, 예컨대 적어도 약 90%, 예컨대 적어도 약 95%, 또는 예컨대 100%는 뉴클레오타이드 유사체이다. 올리고뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 유사체만으로 이루어진 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수도 있는 것이 자명하다. 본 발명의 올리고머는 적어도 하나의 LNA 모노머, 예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 LNA 모노머를 포함하여 이루어질 수 있다. 전술한 바와 같이, 인접 뉴클레오타이드 서열은 LNA 유닛 (포스포로티오에이트 결합과 같은 결합기를 포함한다)만으로 구성될 수도 있고, 또는 LNA와 다른 뉴클레오타이드 유사체로 구성될 수도 있다. 어떤 실시 상태에서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 하나 또는 두개의 DNA 뉴클레오타이드를 포함하고, 나머지 뉴클레오타이드는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체일 수도 있다.
- [0029] 어떤 실시 상태에 있어서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 6개의 뉴클레오타이드 유사체와 하나의 DNA 뉴클레오타이드로 구성된다. 어떤 실시 상태에서는, 인접 뉴클레오타이드는 7개의 뉴클레오타이드 유사체와 하나의 DNA 뉴클레오타이드로 이루어진다. 어떤 실시 상태에서는, 인접 뉴클레오타이드는 8개의 뉴클레오타이드 유사체와 하나의 DNA 뉴클레오타이드로 이루어진다. 어떤 실시 상태에서는, 인접 뉴클레오타이드는 9개의 뉴클레오타이드 유사체와 하나의 DNA 뉴클레오타이드로 이루어진다. 어떤 실시 상태에서는, 인접 뉴클레오타이드는 7개의 뉴클레오타이드 유사체와 두개의 DNA 뉴클레오타이드로 이루어진다. 어떤 실시 상태에서는, 인접 뉴클레오타이드는 8개의 뉴클레오타이드 유사체와 두개의 DNA 뉴클레오타이드로 이루어진다.
- [0030] 올리고머는 인접 뉴클레오타이드 서열로 이루어질 수 있다.
- [0031] 특히 바람직한 실시 상태에서, 모든 뉴클레오타이드 유사체는 LNA인 것이 좋다. 또 다른 바람직한 실시 상태에서, 올리고머의 모든 뉴클레오타이드는 LNA인 것이 좋다. 또 다른 바람직한 실시 상태에서, 올리고머의 모든 뉴클레오타이드는 LNA이고, 모든 인터뉴클레오사이드 결합기는 포스포티오에이트인 것이 좋다.
- [0032] 본문에서, "질소계 염기 (nitrogenous base)"라는 용어는 퓨린 및 피리미딘, 예컨대 DNA 뉴클레오염기 A, C, T 및 G 및 RNA 뉴클레오염기 A, C, U 및 G 뿐만 아니라 비 DNA/RNA 뉴클레오염기, 예컨대 5-메틸시토신 (^{Me}C), 이소시토신, 슈도이소시토신, 5-브로모우라실, 5-프로피닐우라실, 5-프로피닐-6-플루오로우라실, 5-메틸티아졸우라실, 6-아미노퓨린, 2-아미노퓨린, 이노신, 2,6-디아미노퓨린, 7-프로핀-7-테아자아테닌, 7-프로핀-7-테아자구아닌 및 2-클로로-6-아미노퓨린, 특히 ^{Me}C를 모두 포괄한다. 비 DNA/RNA 뉴클레오염기의 실질적인 선택은 그 올리고뉴클레오타이드가 표적화하고자 하는 마이크로RNA 가닥 내에 존재하는 대응 (또는 매팅) 뉴클레오타이드에 따라 달라진다. 예를 들어서, 대응하는 뉴클레오타이드가 G이면, 일반적으로, G에 대한 수소 결합을 수립할 수 있는 비 DNA/RNA 뉴클레오염기를 선택하는 것이 필요할 것이다. 대응하는 뉴클레오타이드가 G인 이 특수한 경우에 있어서, 바람직한 비 DNA/RNA 뉴클레오염기는 ^{Me}C이다.
- [0033] "한가지 실시 상태"라는 표현은 오직 하나의 특정 실시 상태만을 가리키는 것이 아니라, "몇몇 실시 상태"에 존재할 수 있는 특성, 또는 본 발명의 일반적인 특성을 지칭할 수 있는 것임을 이해하여야 한다. 마찬가지로, "어떤 (몇몇) 실시 상태"라는 표현은 어떤 특정 실시 상태, 또는 그러한 실시 상태의 집합의 특성 또는 심지어는 본 발명의 일반적인 특성을 설명하는데 이용될 수 있다.
- [0034] "대응하다"와 "대응하는"이라는 표현은 올리고머의 뉴클레오타이드 서열 또는 인접 뉴클레오타이드 서열 (제1 서열)을, i) 마이크로RNA 핵산 표적 (예컨대 SEQ ID 40 - SEQ ID 976 중에서 선택된 마이크로RNA 표적)의 역상보적인 서브 서열, 및/또는 ii) SEQ ID NO 977-1913 또는 SEQ ID NO 1914-2850, 또는 SEQ ID NO 2851-3787로

이루어진 군 중에서 제공된 뉴클레오타이드 서열 중에서 선택된 또 다른 서열의 동등한 인접적 뉴클레오타이드 서열과 비교하는데 사용된다. 뉴클레오타이드 유사체는 그와 균등하거나 그에 대응하는 뉴클레오타이드와 직접 비교된다. i) 또는 ii) 하에서 또 다른 서열과 대응하는 (인접 뉴클레오타이드 서열과 같은) 제1 서열은 일반적으로 제1 서열의 길이 전반에 걸쳐 그 서열과 동일하다

[0035] 본 명세서에서 뉴클레오타이드 분자의 길이에 관하여 설명할 때, 그 길이는 모노머 유닛, 즉 뉴클레오타이드의 수에 대응하는 것으로서, 여기서 상기 모노머 유닛이 뉴클레오타이드인지 뉴클레오타이드 유사체인지는 관계없다. 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드와 관련하여, 이들 용어 모노머와 유닛은 본 발명에서 호환적으로 사용된다.

[0036] "약"이라는 용어는 특정한 값 또는 값의 범위를 가리키는 것으로, 특정한 값 또는 관련 범위를 포괄하는 것으로 이해되어야 한다.

[0037] 본 발명에서 "하이브리다이제이션"이라는 용어는 수소 결합을 의미하며, 이는 다시 상보적인 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 염기들 사이의 왓슨-크릭 (Watson-Crick) 결합, 혹스틴 (Hoogsteen) 결합, 역 혹스틴 수소 결합 동일 수 있다. DNA에서 흔히 발견되는 네가지 뉴클레오타이드는 G, A, T 및 C로서 G는 C와, A는 T와 쌍을 이룬다. RNA에서 T는 우라실 (U)로 대체되는데, 이것은 A와 쌍을 이룬다. 표준적인 이중가닥 형성에 참여하는 뉴클레오타이드 염기에 있어서 이들 화학 기들은 왓슨-크릭 페이스 (Watson-Crick face)를 구성한다. 몇 년 후에 혹스틴은 그들의 왓슨-크릭 페이스에 더해서 플린 뉴클레오타이드 염기가 이중가닥의 외부로부터 인식될 수 있음으로 해서 수소 결합을 통해 피리미딘 올리고뉴클레오타이드에 결합하는데 이용되어, 삼중 나선 구조를 형성할 수 있음을 입증한 바 있다.

[0038] 본 발명의 내용상 "상보적(complementary)"이라는 용어는 두개의 뉴클레오타이드 서열이 서로 정확한 쌍을 이룰 수 있는 능력을 가리킨다. 예컨대, 올리고뉴클레오타이드의 어떤 특정 위치에서 하나의 뉴클레오타이드가 DNA 또는 RNA 분자의 대응하는 위치에 있는 뉴클레오타이드와 수소 결합을 할 수 있다면, 상기 올리고뉴클레오타이드와 상기 DNA 또는 RNA는 그 위치에서 서로 상보적인 것으로 간주된다. DNA 또는 RNA 가닥은, 올리고뉴클레오타이드 중의 충분한 수의 뉴클레오타이드들이 표적 DNA 또는 RNA 중의 대응하는 뉴클레오타이드와 수소 결합을 형성하여 안정한 복합체를 형성하는 경우, 서로 상보적인 것으로 간주된다. 시험관내 또는 생체내에서 안정하기 위해서 올리고뉴클레오타이드 서열이 그의 표적 마이크로RNA와 100% 상보적인 필요는 없다. "상보적" 및 "특이적으로 하이브리다이제이션 가능한"이라는 표현은 따라서, 비표적 RNA의 기능에는 하등 영향을 미치지 없이, 표적 RNA의 정상적인 기능만을 원하는대로 간섭하도록, 그 올리고뉴클레오타이드가 표적 분자와 충분히 강하고 특이적인 결합을 형성하는 것을 의미한다. 그러나, 한가지 바람직한 실시 상태에서, 상보적이라는 용어는 100% 상보적 또는 전적으로 상보적임을 의미하는 것이다.

[0039] 바람직한 한가지 예에서 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 miRNA 서열, 예컨대 인간의 마이크로RNA 서열, 또는 본문에 언급된 마이크로RNA 서열들 중 하나와 100% 상보적이다.

[0040] 바람직한 한가지 예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 인간의 마이크로RNA 서열의 씨드 영역 (seed region)과 100% 상보적인 인접 서열을 포함한다.

[0041] 바람직하게는, "마이크로RNA" 또는 "miRNA"라는 용어는 본 발명의 내용 상, 18 내지 25개 뉴클레오타이드 길이로 이루어진 RNA 올리고뉴클레오타이드를 의미한다. 기능적 용어 측면에서 miRNA는 일반적으로 조절적인 내인성 RNA 분자이다.

[0042] "표적 마이크로RNA" 또는 "표적 miRNA"라는 용어는 인간의 질병에 있어서 생물학적 역할을 함으로 해서, 문제의 질환의 치료 매개 과정에서 표적이 되는 마이크로RNA를 가리키는 것으로, 예컨대 암에 있어서 상향 조절된, 발암성 (oncogenic) miRNA 또는 종양 억제자 miRNA가 그 예이다.

[0043] "표적 유전자" 또는 "표적 mRNA"라는 용어는 마이크로RNA의 조절적인 mRNA 표적을 가리키는데, 여기서 상기 "표적 유전자" 또는 "표적 mRNA"는 miRNA와 그의 표적 부위 사이의 완전하거나 거의 완전한 상보성에 기초한 마이크로RNA에 의해 전사후 (post-transcriptionally) 적으로 조절되어 표적 mRNA 절단; 또는 제한적인 상보성을 결과시키는데, 이는 종종 소위 씨드 서열 (miRNA의 뉴클레오타이드 2-7) 및 표적 mRNA의 번역 억제체를 초래하는 표적 부위 사이의 상보성에 종종 기인한다.

[0044] 본 발명의 내용상, 올리고뉴클레오타이드는 단일 가닥이며, 이는 그 올리고뉴클레오타이드에 상보적인 올리고뉴클레오타이드가 부재함을 의미한다 - 즉, 그 올리고뉴클레오타이드가 siRNA와 같이, 이중 가닥 올리고뉴클레오타이드 복합체가 야함을 의미한다. 한가지 실시 상태에서, 본 발명의 조성물은 8개 이상, 예컨대 5, 6, 7, 8, 9

또는 10 개의 인접 뉴클레오타이드와 같이 5개 이상의 뉴클레오타이드의 올리고머와 상보 영역을 갖는 부가적인 올리고뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

- [0045] **길이**
- [0046] 놀랍게도 본 발명자들은 이러한 짧은 '항miRs'가 생체내에서 마이크로RNA의 특이적 억제를 향상시키주는 한편, 마이크로RNA 표적에 대한 현저한 특이성을 유지시켜준다는 것을 발견하였다. 또 다른 장점은 마이크로RNA 종들 - 예컨대 본 명세서에 설명된 바와 같은 씨드 영역들 사이의 상동적인 짧은 서열들의 보존으로 인해, 몇몇 마이크로RNA를 동시에 억제할 수 있다는 것이다. 본 발명에 따라, 7, 8, 9, 10 뉴클레오타이드, 예컨대 7, 8 또는 9 뉴클레오타이드의 짧은 올리고뉴클레오타이드를 갖는 것이 특히 유리한 것으로 밝혀졌다.
- [0047] **서열**
- [0048] 인접 뉴클레오타이드 서열은 포유동물, 인간 또는 바이러스의 마이크로RNA (miRNA) 서열, 바람직하게는 인간 또는 바이러스의 miRNA 서열의 대응 영역에 상보적이다 (예컨대 100% 상보적-즉, 완전히 상보적).
- [0049] 마이크로RNA 서열은 성숙한 마이크로RNA인 것이 적합할 수 있다. 어떤 실시 상태에서 마이크로RNA는 마이크로RNA 전구체일 수 있다.
- [0050] 인간의 마이크로RNA 서열은 본 발명에 그 내용 전부가 참고로 통합된 WO2008/046911에 개시된 바와 같은 SEQ ID NO 1-558 중에서 선택될 수 있다. WO2008/047911에 설명된 바와 같이, 이들 마이크로RNA는 암과 연관이 있다.
- [0051] 바이러스의 마이크로RNA 서열은 어떤 실시 상태에서는 헤르페스 심플렉스 바이러스 1, 카포시 육종 관련 헤르페스 바이러스, 엡스타인 바 바이러스 및 인간의 시토메갈로바이러스로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있다.
- [0052] 한가지 실시 상태에 있어서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 표 1에 수록되니 miRNA의 군으로부터 선택된 miRNA 서열의 대응하는 영역과 상보적이다 (예컨대 100% 상보적). 표 1에는 miRBase (Release 12.0-<http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/>)에 공개된, 인간 및 바이러스의 마이크로RNA를 표적으로 하는 7mer, 8mer 및 9mer 올리고머가 제시되어 있다.
- [0053] 어떤 실시 상태에서, 본 발명에 따른 올리고머는 miR-1, miR-10b, miR-17-3p, miR-18, miR-19a, miR-19b, miR-20, miR-21, miR-34a, miR-93, miR-106a, miR-106b, miR-122, miR-133, miR-134, miR-138, miR-155, miR-192, miR-194, miR-221, miR-222, miR-375로 이루어진 군 중에서 선택된 대응하는 마이크로RNA 서열에 상보적인 인접 뉴클레오타이드 서열(을) 구성되거나 포함할 수 있다.
- [0054] 따라서, 한가지 실시 상태에서, miRNA (즉, 표적 miRNA)는 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, 및 miR-375로 이루어진 군 중에서 선택된다.
- [0055] 한가지 실시 상태에서, miRNA 표적은 miR 17, miR 106a, miR 106b, miR 18, miR 19a, miR 19b/1, miR 19b/2, miR20/93, miR92/1, miR92/2 및 miR25와 같은 miR 17 - 92 클러스터의 일원일 수 있다.
- [0056] 한가지 실시 상태에서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 miR-21, miR-155, miR-221, mir-222, 및 mir-122 중에서 선택된 마이크로RNA (mRNA) 서열의 대응하는 영역과 상보적이다.
- [0057] 어떤 실시 상태에서 상기 miRNA는 miR-1, miR-10miR-29, miR-125b,miR-126, miR-133, miR-141, miR-143, miR-200b, miR-206, miR-208, miR-302, miR-372, miR-373, miR-375, 및 miR-520c/e로 이루어진 군 중에서 선택된다.
- [0058] 어떤 실시 상태에서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 miR-17-5p, miR-20a/b, miR-93, miR-106a/b, miR-18a/b, miR-19a/b, miR-25, miR-92a, miR-363로 이루어진 군 중에서 선택된 마이크로RNA와 같은 miR 17-92 클러스터 내에 존재하는 마이크로RNA (miRNA) 서열의 대응하는 영역과 상보적이다.
- [0059] 한가지 실시 상태에서, miRNA (즉, 표적 miRNA)는 hsa-miR-21와 같은 miR-21이다. 한 가지 실시 상태에서, miRNA (즉, 표적 miRNA)는 hsa-miR-122와 같은 miR-122이다. 한 가지 실시 상태에서, miRNA (즉, 표적 miRNA)는 hsa-miR-19b와 같은 miR-19b이다. 한 가지 실시 상태에서, miRNA (즉, 표적 miRNA)는 hsa-miR-155와 같은 miR-155이다. 한 가지 실시 상태에서, miRNA (즉, 표적 miRNA)는 hsa-miR-375와 같은 miR-375이다. 한 가지 실시 상태에서, miRNA (즉, 표적 miRNA)는 hsa-miR-106b와 같은 miR-375이다.
- [0060] 인접 뉴클레오타이드 서열이 19b, 21, 122, 155 및 375 중에서 선택된 hsa-miR과 같은 대응하는 영역과 상보적

인 것이 적합할 수 있다.

[0061] **씨드 (seed) 영역 및 씨드머 (seedmers)**

[0062] 본 발명자들은 잠금 핵산 (LNA: locked nucleic acid) 유닛과 같은 고친화성 뉴클레오타이드 유사체와 같은 뉴클레오타이드 유사체를(로) 포함하거나 구성된 신중하게 설계된 짧은 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드가, 마이크로RNA의 유의적인 사일런싱을 일으킴으로써, 마이크로RNA 수준을 감소시킨다는 것을 발견하였다. 상기 올리고뉴클레오타이드와, 표적 마이크로RNA의 5' 말단부터 세어서, 일반적으로 뉴클레오타이드 2 내지 8 또는 뉴클레오타이드 2 내지 7에 해당하는 소위 씨드 서열과의 강한 결합이 중요하다는 것이 밝혀졌다. 표적 마이크로RNA의 뉴클레오타이드 1은 쌍을 이루지 않는 염기이며 Ago2 단백질 중의 결합 포켓 중에 숨어있을 것으로 강하게 추정된다. 특정 이론에 구애되는 것은 아니나, 본 발명자들은 씨드 영역 서열을 선택하고, 특히 LNA, 바람직하게는 상기 씨드 영역에 상보적인 영역 중의 LNA 유닛을 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 이용함으로써, miRNA와 올리고뉴클레오타이드 간의 듀플렉스가 오프 표적 효과를 회피하면서 miRNA를 표적화하는데 특히 효과적인 한편, RISC 지향성 miRNA 기능을 방지하는 추가적인 특성도 제공할 수 있다고 여기고 있다.

[0063] 본 발명자들은, LNA-변형된 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드가 쌍을 이루지 않는 이 뉴클레오타이드 1에 대응하는 뉴클레오타이드를 3' 말단에 함유하지 않을 경우, 마이크로RNA 사일런싱 효과가 훨씬 더 증대됨을 발견하였다. 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드의 3' 말단의 적어도 2개의 LNA 유닛은, 뉴클레아제에 대한 상기 올리고뉴클레오타이드의 내성을 높였다는 것이 추가로 밝혀졌다.

[0064] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머의 첫번째 또는 두번째 3' 뉴클레오타이드는 마이크로RNA 서열의 두번째 5' 뉴클레오타이드에 대응하며, LNA와 같은 뉴클레오타이드 유사체일 수 있다.

[0065] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛 1 내지 6 (1과 6을 모두 포함)은 올리고머의 3' 말단 영역으로부터 측정된 바와 같이 마이크로RNA 씨드 영역 서열에 상보적이며, 이들 모두는 LNA와 같은 뉴클레오타이드 유사체일 수 있다.

[0066] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛 1 내지 7 (1과 7을 모두 포함)은 올리고머의 3' 말단 영역으로부터 측정된 바와 같이 마이크로RNA 씨드 영역 서열에 상보적이며, 이들 모두는 LNA와 같은 뉴클레오타이드 유사체일 수 있다.

[0067] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛 2 내지 7 (2와 7을 모두 포함)은 올리고머의 3' 말단 영역으로부터 측정된 바와 같이 마이크로RNA 씨드 영역 서열에 상보적이며, 이들 모두는 LNA와 같은 뉴클레오타이드 유사체일 수 있다.

[0068] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머는 miRNA 씨드 영역에 상보적인 영역 중의 위치에서, 적어도 하나의 LNA 유닛과 같은, 적어도 하나의 뉴클레오타이드 유사체 유닛을 포함한다. 한가지 실시 상태에서, 이 올리고머는 miR 씨드 영역에 상보적인 영역 중의 위치에서, 1 내지 6 LNA 유닛 및 1 내지 7 LNA 유닛과 같이, 1 내지 6 또는 1 내지 7 뉴클레오타이드 유사체 유닛을 포함할 수 있다.

[0069] 한 가지 실시 상태에 있어서, 연속 뉴클레오타이드 서열은 상기 마이크로RNA의 씨드 서열에 대하여 상보적인 (예컨대 100% 상보적) 서열을(로) 포함하거나 이루어질 수 있다.

[0070] 한 가지 실시 상태에 있어서, 연속 뉴클레오타이드 서열은 표 1에 제시된 씨드머 서열들 중에서 선택된 서열을(로) 포함하거나 이루어질 수 있다.

[0071] 한 가지 실시 상태에 있어서, 씨드머의 3' 뉴클레오타이드는 인접 뉴클레오타이드 서열의 최말단 3' 뉴클레오타이드를 형성하는데, 여기서 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 필요에 따라, 씨드머 서열에 더해 하나 또는 두개의 추가적인 뉴클레오타이드 5'를 포함할 수 있다.

[0072] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머는 5' 말단으로부터 세어서 마이크로RNA 서열 중에 존재하는 첫번째 뉴클레오타이드에 대응하는 뉴클레오타이드를 갖지 않는다.

[0073] 한 가지 실시 상태에 있어서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 표적 마이크로RNA의 5' 말단 뉴클레오타이드에 대응하는 뉴클레오타이드를 3' 말단에 갖지 않는다.

[0074] **뉴클레오타이드 유사체**

[0075] 본 발명에 따라, 예컨대 7, 8 또는 9 뉴클레오타이드와 같이 7, 8, 9, 10 뉴클레오타이드로 된 짧은 올리고뉴클

레오타이드로서, 상기 올리고머의 뉴클레오타이드 유닛의 적어도 50%, 예컨대 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 예컨대 100%가 잠금 핵산 (LNA: Locked Nucleic Acid) 뉴클레오타이드 유닛과 같은 (바람직하게는 고친화성) 뉴클레오타이드 유사체인 것인, 짧은 올리고뉴클레오타이드가 특히 유리한 것으로 밝혀졌다.

- [0076] 어떤 실시 상태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 7, 8, 또는 9개 뉴클레오타이드 길이이며, 인간 또는 바이러스의 마이크로RNA의 씨드 영역과 상보적인 인접 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 여기서 상기 뉴클레오타이드의 적어도 75%, 예컨대 적어도 80%, 예컨대 적어도 85%, 예컨대 적어도 90%, 예컨대 적어도 95%, 예컨대 100%는 잠금 핵산 (LNA) 뉴클레오타이드 유닛이다.
- [0077] 어떤 실시 상태에서, 이러한 올리고머에서는, 결합기가 포스포디에스테르 결합이 아니며, 예를 들면 포스포로티오에이트 결합이다.
- [0078] 어떤 실시 상태에서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드 유닛은 모두 LNA 뉴클레오타이드 유닛이다.
- [0079] 어떤 실시 상태에서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 7, 8, 9 또는 10개의, 바람직하게는 인접하는 LNA 뉴클레오타이드 유닛으로(을) 구성되거나 포함한다.
- [0080] 또 다른 바람직한 실시 상태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 7, 8 또는 9개 뉴클레오타이드 길이로서, 인간 또는 바이러스의 마이크로RNA의 씨드 영역에 상보적인 인접 뉴클레오타이드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오타이드의 적어도 80%는 LNA이고, 인터뉴클레오타이드 결합 (internucleotide linkage)의 적어도 80%, 예컨대 85%, 예컨대 90%, 예컨대 95%, 예컨대 100%는 포스포로티오에이트 결합이다. 상기 올리고머의 인접 뉴클레오타이드 서열 (씨드머)는 씨드 영역 밖으로 연장될 수 있다.
- [0081] 어떤 실시 상태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 7개 뉴클레오타이드 길이이며 이들 7개 모두는 LNA이다.
- [0082] 어떤 실시 상태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 8개 뉴클레오타이드 길이이며 여기서 최대 1개의 뉴클레오타이드는 LNA가 아닌 것일 수 있다. 어떤 실시 상태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 9개 뉴클레오타이드 길이이며 여기서 최대 1개 또는 2개의 뉴클레오타이드는 LNA가 아닌 것일 수 있다. 어떤 실시 상태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 10개 뉴클레오타이드 길이이며 여기서 최대 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드는 LNA가 아닌 것일 수 있다. LNA가 아닌 다른 뉴클레오타이드는 예를 들면 DNA이거나, 또는 2' 치환된 뉴클레오타이드 유사체일 수 있다.
- [0083] 고친화성 뉴클레오타이드 유사체는 이와 동등한 DNA 뉴클레오타이드가 상보적인 RNA 뉴클레오타이드에 대하여 갖는 결합 친화성보다, 상기 상보적인 RNA 뉴클레오타이드에 대하여 더 높은 듀플렉스 열안정성을 갖는 올리고뉴클레오타이드를 결합시키는 뉴클레오타이드 유사체이다. 이것은 T_m 을 측정함으로써 결정할 수 있다.
- [0084] 어떤 실시 상태에서, 인접 뉴클레오타이드 서열에 존재하는 뉴클레오타이드 유사체 유닛은 2'-O_알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, LNA 유닛, PNA 유닛, HNA 유닛, INA 유닛, 및 2'MOE RNA 유닛으로 이루어진 군 중에서, 필요에 따라 독립적으로 선택된다.
- [0085] 어떤 실시 상태에서, 인접 뉴클레오타이드 서열 중에 존재하는 뉴클레오타이드 유사체 유닛은 2'-O_알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, LNA 유닛, 및 2'MOE RNA 유닛으로 이루어진 군 중에서 필요에 따라 독립적으로 선택된다.
- [0086] 2'플루오로-DNA라는 용어는 2' 위치에서 불소로 치환된 (2'F) DNA 유사체를 가리킨다. 2'플루오로-DNA는 2'플루오로-뉴클레오타이드의 바람직한 형태이다.
- [0087] 어떤 실시 상태에서, 올리고머는 적어도 4개의 뉴클레오타이드 유사체 유닛, 예컨대 적어도 5개의 뉴클레오타이드 유사체 유닛, 예컨대 적어도 6개의 뉴클레오타이드 유사체 유닛, 예컨대 적어도 7개의 뉴클레오타이드 유사체 유닛, 예컨대 적어도 8개의 뉴클레오타이드 유사체 유닛, 예컨대 적어도 9개의 뉴클레오타이드 유사체 유닛, 예컨대 적어도 10개의 뉴클레오타이드 유사체 유닛을 포함한다.
- [0088] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머는 LNA 유닛을 적어도 3개, 예컨대 LNA 유닛을 적어도 4개, 예컨대 LNA 유닛을 적어도 5개, 예컨대 LNA 유닛을 적어도 6개, 예컨대 LNA 유닛을 적어도 7개, 예컨대 LNA 유닛을 적어도 8개, 예컨대 LNA 유닛을 적어도 9개, 예컨대 LNA 유닛을 적어도 10개 포함한다.

[0089] 한 가지 실시 상태에 있어서 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 하나는 시토신 또는 구아닌이며, 예컨대 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체 1-10은 시토신이거나 구아닌이다. 예컨대 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체들 중 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9개는 시토신 또는 구아닌이다.

[0090] 한 가지 실시 상태에 있어서 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 2개는 시토신 또는 구아닌이다. 한 가지 실시 상태에서, LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 3개는 시토신 또는 구아닌이다. LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 4개는 시토신 또는 구아닌이다. LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 5개는 시토신 또는 구아닌이다. LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 6개는 시토신 또는 구아닌이다. LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 7개는 시토신 또는 구아닌이다. LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체들 중 적어도 8개는 시토신 또는 구아닌이다.

[0091] 바람직한 한 가지 실시 상태에서, 뉴클레오타이드 유사체는 이와 동등한 DNA 뉴클레오타이드가 상기 상보적인 RNA 뉴클레오타이드에 대하여 갖는 결합 친화성보다 더 높은 듀플렉스 열안정성을 상보적인 RNA 뉴클레오타이드에 대하여 갖는다.

[0092] 한 가지 실시 상태에 있어서, 뉴클레오타이드 유사체는 단일 가닥의 올리고뉴클레오타이드에 대하여 증대된 열 안정성을 부여한다.

[0093] 서열목록 및 표 1 중의 특이적인 SEQ IDs는 LNA 모노머와 포스포로티오에이트 (PS) 백본을 갖는 LNA 모노머의 올리고머를 나타내는 것인 반면, 본 발명은 LNA를 대체하여 또는 LNA와 병합하여 다른 뉴클레오타이드 유사체 및/또는 결합을 사용하는 것을 포괄하는 것임을 이해하여야 한다. 따라서, 서열 목록에 나타난 뉴클레오타이드 (염기) 서열은 LNA/PS, LNA와 같은 LNA의 것일 수 있거나, 또는 동일한 염기 서열 (A, T, C 또는 G)을 보유하는, 슈가/결합 화학과 같은 대체 백본 화학을 함유하는 올리고머일 수 있다.

[0094] 2'-MOE RNA 또는 2'-플루오로 뉴클레오타이드와 같은 다른 뉴클레오타이드 유사체가 본 발명에 따른 올리고머에서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 기대되지만, 올리고머는 LNA를 높은 비율로, 예컨대 그의 뉴클레오타이드의 적어도 50%를 LNA로서 함유하는 것이 바람직하다. 뉴클레오타이드 유사체는 2'-H기가 -OH (RNA) 이외의 것, 예컨대 -O-CH₃, -O-CH₂-CH₂-O-CH₃, -O-CH₂-CH₂-CH₂-NH₂, -O-CH₂-CH₂-CH₂-OH 또는 -F에 의해 치환된 DNA 유사체와 같은 DNA 유사체일 수 있다. 뉴클레오타이드 유사체는 예컨대 -O-CH₃, -O-CH₂-CH₂-O-CH₃, -O-CH₂-CH₂-CH₂-NH₂, -O-CH₂-CH₂-CH₂-OH 또는 -F와 같이, -H (DNA)가 아닌 다른 기에 의해 그의 2'-OH 기가 치환되어 변형된 RNA 유사체와 같은 RNA 유사체일 수 있다. 하나의 실시 상태에서, 뉴클레오타이드 유사체는 "ENA" 이다.

[0095] **LNA**

[0096] 본 발명의 내용상, "LNA 유닛", "LNA 모노머", "LNA 잔기", "잠금 핵산 유닛", "잠금 핵산 모노머" 또는 "잠금 핵산 잔기"라는 용어는 바이시클릭 뉴클레오사이드 유사체를 가리키는 것이다. LNA 유닛은 그 중에서도 WO 99/14226, WO 00/56746, WO 00/56748, WO 01/25248, WO 02/28875, WO 03/006475 및 WO 03/095467에 설명되어 있다. LNA 유닛은 또한 그의 화학식으로 정의될 수도 있다. 따라서, "LNA 유닛"은 본 명세서에서 다음 화학식 1에 도시된 화학 구조를 갖는다.

[0097] **화학식 1**

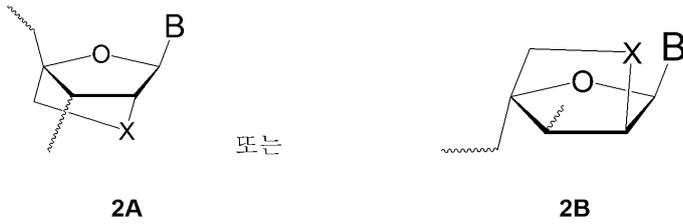


[0098] 식 중,

[0099] X는 O, S 및 NR^H이고, 여기서 R^H는 H 또는 C₁₋₄-알킬; Y는 (-CH₂)_r이고, 여기서 r은 1-4의 정수이며; B는 질소계 염기이다.

[0101] 본 발명의 한 가지 바람직한 실시 상태에서, r은 1 또는 2, 특히 1이다. 즉, 바람직한 LNA 유닛은 다음 화학식 2의 화학 구조를 갖는다:

[0102] 화학식 2



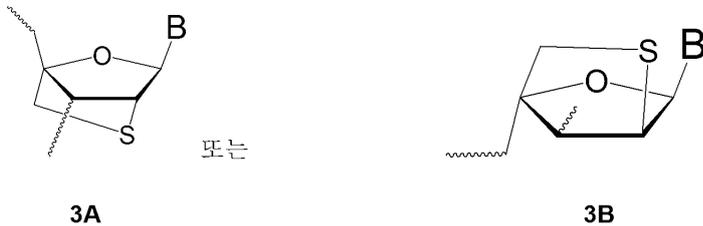
[0103]

[0104] 식 중 X와 B는 상기 정의한 바와 같다.

[0105] 흥미로운 한가지 구체예에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드에 통합된 LNA 유닛은 티오-LNA 유닛, 아미노-LNA 유닛 및 옥시-LNA 유닛으로 이루어진 군 중에서 독립적으로 선택된다.

[0106] 따라서, 티오-LNA는 다음 화학식 3의 화학 구조를 가질 수 있다:

[0107] 화학식 3



[0108]

[0109] 식 중, B는 상기 정의한 바와 같다.

[0110] 바람직하게는, 티오-LNA 유닛은 베타-D형으로 존재하는 것이, 즉 상기 3A의 화학 구조를 갖는 것이 좋다. 마찬가지로, 아미노-LNA 유닛은 다음 화학식 4의 화학 구조를 가질 수 있다.

[0111] 화학식 4

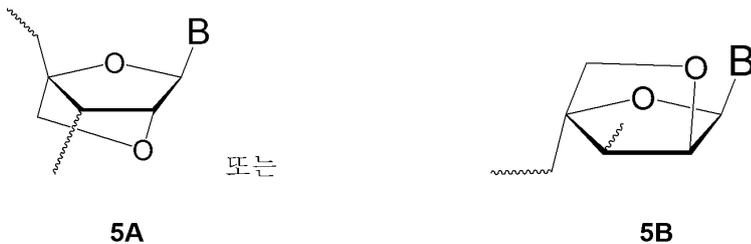


[0112]

[0113] 식 중 B와 R^H는 상기 정의한 바와 같다.

[0114] 바람직하게는, 아미노-LNA 유닛은 베타-D형으로 존재하는 것이, 즉 상기 4A의 화학 구조를 갖는 것이 좋다. 옥시-LNA 유닛은 다음 화학식 5의 화학 구조를 가질 수 있다.

[0115] 화학식 5



[0116]

[0117] 식 중 B는 상기 정의한 바와 같다.

[0118] 바람직하게는, 옥시-LNA는 베타-D형으로 존재하는 것이, 즉 상기 5A의 화학 구조를 갖는 것이 좋다. 상기 표시된 바와 같이, B는 천연 또는 비천연 기원의 것일 수 있는 질소계 염기이다. 질소계 염기의 특수한 예로는 아데

닌 (A), 시토신 (C), 5-메틸시토신(^{Me}C), 이소시토신, 슈도이소시토신, 구아닌 (G), 티민 (T), 우라실 (U), 5-브로모우라실, 5-프로피닐우라실, 5-프로피닐-6,5-메틸티아졸우라실, 6-아미노퓨린, 2-아미노퓨린, 이노신, 2,6-디아미노퓨린, 7-프로핀-7-테아자아데닌, 7-프로핀-7-테아자구아닌 및 2-클로로-6-아미노퓨린을 들 수 있다.

- [0119] "티오-LNA 유닛"이라는 용어는 상기 화학식 1에서 X가 S인 LNA 유닛을 가리킨다. 티오-LNA 유닛은 베타-D형과 알파-L형의 두가지 모두로 존재할 수 있다. 일반적으로, 티오-LNA 유닛의 베타-D형이 바람직하다. 티오-LNA 유닛의 베타-D형과 알파-L형은 화학식 3에서 각각 화합물 3A와 3B로 표시되어 있다.
- [0120] "아미노-LNA 유닛"이라는 용어는 화학식 1에서 X가 NH 또는 NR^H이고, R^H는 수소 또는 C₁₋₄-알킬인 LNA 유닛을 가리키는 것이다. 아미노-LNA 유닛은 베타-D형으로도, 알파-L-형으로도 있을 수 있다. 일반적으로, 아미노-LNA 유닛의 베타-D형이 바람직하다. 아미노-LNA 유닛의 베타-D형과 알파-L형은 상기 화학식 4에서 각각 화합물 4A 및 4B이다.
- [0121] "옥시-LNA 유닛"이라는 용어는 화학식 1에서 LNA X가 O인 LNA 유닛을 가리킨다. 옥시-LNA 유닛은 베타-D형과 알파-L형 두가지 모두로 존재할 수 있다. 일반적으로 옥시-LNA 유닛의 베타-D형이 바람직하다. 옥시-LNA 유닛의 베타-D형과 알파-D형은 상기 화학식 5에서 각각 화합물 5A와 5B이다.
- [0122] 본 발명의 내용상, "C₁₋₆-알킬"이라는 용어는 선형 또는 분지형 포화 탄화수소사슬을 의미하는 것으로서, 가장 사슬은 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 이소펜틸, 네오펀틸 및 헥실과 같이 1 내지 6개의 탄소 원자를 갖는 것이다. 분지형 탄화수소 사슬은 어떤 탄소에서든 탄화수소 사슬로 치환된 C₁₋₆-알킬을 의미하는 것이다.
- [0123] 본 발명의 내용상, "C₁₋₄-알킬"이라는 용어는 선형 또는 분지형 포화 탄화수소사슬을 의미하는 것으로서, 가장 사슬은 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, n-부틸, 이소부틸, sec-부틸, tert-부틸과 같이 1 내지 4개의 탄소 원자를 갖는 것이다. 분지형 탄화수소 사슬은 어떤 탄소에서든 탄화수소 사슬로 치환된 C₁₋₄-알킬을 의미하는 것이다.
- [0124] 본 발명에서 "C₁₋₆-알콕시"라는 용어는 메톡시, 에톡시, n-프로폭시, 이소프로폭시, n-부톡시, 이소부톡시, sec-부톡시, tert-부톡시, 펜톡시, 이소펜톡시, 네오펀톡시 및 헥소시와 같은 C₁₋₆-알킬-옥시를 의미하는 것이다.
- [0125] 본 발명의 내용상, "C₂₋₆-알케닐"이라는 용어는 2 내지 6개의 탄소 원자와 1개 이상의 이중 결합을 갖는 선형 또는 분지형 탄화수소기를 의미하는 것이다. C₂₋₆-알케닐기의 예로는 알릴, 호모-알릴, 비닐, 크로틸, 부테닐, 부타디에닐, 펜테닐, 펜타디에닐, 헥세닐 및 헥사디에닐을 들 수 있다. 불포화 (이중 결합) 위치는 탄소 사슬의 어느 위치든 가능하다.
- [0126] 본 발명의 내용상, "C₂₋₆-알키닐"이라는 용어는 2 내지 6개의 탄소 원자와 1개 이상의 삼중 결합을 갖는 선형 또는 분지형 탄화수소기를 의미하는 것이다. C₂₋₆-알키닐기의 예로는, 아세틸렌, 프로피닐, 부티닐, 펜티닐 및 헥시닐을 들 수 있다. 불포화 (삼중 결합) 위치는 탄소 사슬의 어느 위치든 가능하다. 당업자에게 잘 알려진 바와 같이, 두개 이상의 결합이 불포화될 수 있으며, 예컨대, "C₂₋₆-알키닐"은 디-인 (di-yne) 또는 엔디-인 (enedi-yne)이다.
- [0127] 본 발명의 내용상 DNA 유닛을 그의 대응하는 LNA 유닛으로 치환한다고 할 때, "대응하는 LNA 유닛"이라 함은 어떤 DNA 유닛이, 그 DNA 유닛이 함유하는 질소계 염기와 동일한 질소계 염기를 함유하는 LNA 유닛에 의해 대체된다는 것으로서, 예컨대 질소계 염기 A를 함유하는 어떤 DNA 유닛의 대응하는 LNA 유닛 역시도 질소계 염기 A를 함유함을 의미한다. 예외가 있다면, 어떤 DNA 유닛이 염기 C를 함유할 경우, 대응하는 LNA 유닛은 염기 C, 염기 ^{Me}C, 바람직하게는 ^{Me}C를 함유할 수 있다는 것이다.
- [0128] 본 발명에서, "비LNA 유닛 (non-LNA unit)"이라는 용어는 LNA 유닛과는 다른 뉴클레오사이드를 가리키는 것으로, "비LNA 유닛"이라는 용어에는 RNA 유닛 뿐만 아니라 DNA 유닛도 포함된다. 바람직한 비LNA 유닛은 DNA 유닛이다.
- [0129] "유닛", "잔기" 및 "모노머"라는 용어들은 본 발명에서 상호 호환적으로 사용된다.

- [0130] "적어도 하나"라는 용어는 1과 같거나 더 큰 정수, 예컨대, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 등을 포함한다.
- [0131] "a" 및 "an"과 같은 관사가 뉴클레오타이드, 시약, LNA 유닛 등에 관하여 사용될 경우, 하나 이상을 의미한다. 특히, "...로 이루어진 군 중에서 선택된 성분 (예컨대 뉴클레오타이드, 시약, LNA 유닛 등)"이라는 표현은 인용된 성분들 중 하나 이상이 선택될 수 있음을 의미하는 것이다. 따라서, "A, B 및 C로 이루어진 군 중에서 선택된 성분"이라는 표현은 A, B 및 C의 가능한 모든 조합, 즉, A, B, C, A+B, A+C, B+C 및 A+B+C를 포함한다.
- [0132] **인터뉴클레오사이드 결합 (Internucleoside Linkages)**
- [0133] "인터뉴클레오사이드 결합기"라는 용어는 예컨대 DNA 유닛들 간, DNA 유닛과 뉴클레오타이드 유사체 간, 두개의 비LNA 유닛 간, 비LNA 유닛과 LNA 유닛 간, 및 두개의 LNA 유닛 사이 등 처럼, 두개의 뉴클레오타이드를 서로 공유적으로 커플링시킬 수 있는 기를 의미한다. 일예컨대 포스페이트, 포스포디에스테르기 및 포스포티오에이트기를 들 수 있다.
- [0134] 어떤 실시 상태에서는, 올리고머 내의 인터뉴클레오사이드 결합들 중 적어도 하나, 예컨대 모두가 포스포디에스테르이다. 그러나, 생체내 용도에 있어서는, 포스포티오에이트 결합이 바람직할 수 있다.
- [0135] 올리고뉴클레오타이드에 있어서 전형적인 인터뉴클레오사이드 결합은 포스페이트기이지만, 이들은 포스페이트와는 다른 인터뉴클레오사이드기에 의해 대체될 수 있다. 또 다른 흥미로운 본 발명의 실시 상태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 그의 인터뉴클레오사이드 결합기 구조가 변형된 것인데, 즉, 이러한 변형된 올리고뉴클레오타이드는 포스페이트와는 다른 인터뉴클레오사이드 결합을 포함한다. 따라서, 바람직한 한가지 실시 상태에서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 포스페이트와는 다른 인터뉴클레오사이드 결합기를 적어도 하나 포함한다.
- [0136] 포스페이트 (-O-P(O)₂-O-)와 다른 인터뉴클레오사이드 결합기의 특정 예로는 -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-를 들 수 있으며, 여기서, R^H는 수소 또는 C₁₋₄-알킬이다.
- [0137] 인터뉴클레오사이드 결합기가 변형된 것인 경우, 그 인터뉴클레오사이드 결합기는 포스포티오에이트기 (-O-P(O,S)-O-)인 것이 바람직하다. 바람직한 한가지 실시 상태에서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드의 모든 인터뉴클레오사이드 결합기는 포스포티오에이트이다.
- [0138] 인터뉴클레오사이드 결합은: -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-로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있으며 및/또는 인터뉴클레오사이드 결합은: -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-, (여기서 R^H는 수소 및 C₁₋₄-알킬 중에서 선택된다)로 이루어진 군 중에서 선택될 수도 있다. 어떤 실시 상태에서는 황(S)을 함유하는 전술한 인터뉴클레오사이드 결합을 사용하는 것이 바람직할 수 있다. 인터뉴클레오사이드 결합은 독립적으로 선택될 수 있거나 또는 모두 동일할 수 있다. 예컨대, 모두 포스포티오에이트 결합일 수도 있다. 한가지 실시 상태에서, 인접 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드 유닛들 사이에 존재하는 인터뉴클레오사이드 결합의 적어도 75%, 예컨대 80% 또는 85% 또는 90% 또는 95% 또는 모두는 포스포티오에이트 인터뉴클레오사이드 결합이다.
- [0139] **두개 이상의 마이크로RNA를 표적화하는 마이크로mir 올리고뉴클레오타이드**

- [0140] 한 가지 실시 상태에 있어서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 miRNA 서열과 같이 적어도 2개의 miRNA 서열들로 된 대응하는 서열에 상보적이다. 단일의 유니버설 염기 (universal base)를 사용하면, 본 발명의 단일 올리고머를 이용하여 두개의 독립적인 마이크로RNA를 표적화할 수 있는데 여기서 이들 두개의 독립적인 마이크로RNA 중 어느 하나 또는 두가지 모두는, 그 유니버설 뉴클레오타이드가 위치하는 자리의 올리고머에 대응하는 영역에서 하나의 미스매치를 갖는 것이다.
- [0141] 한 가지 실시 상태에 있어서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 miRNA 씨드 영역 서열과 같은 적어도 두개의 miRNA 씨드 영역 서열에 상보적인 서열(로) 포함하거나 이루어진다.
- [0142] 한 가지 실시 상태에 있어서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 miR-221 및 miR-222 두가지 모두의 대응하는 영역에 상보적이다.
- [0143] 한 가지 실시 상태에 있어서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 miR-17-92 클러스터의 멤버 두개 이상의 대응하는 영역 - 예컨대, miR-17-5p, miR-20a/b, miR-93, miR-106a/b 중 두개 이상 또는 모두; miR-25, miR-92a 및 miR-363 중 두개 이상 또는 모두의 대응하는 영역에 상보적이다.
- [0144] 한 가지 실시 상태에 있어서, 인접 뉴클레오타이드 서열은 5'GCTACAT3'에 상보적인 서열로(을) 구성되거나 포함한다.
- [0145] **올리고머 설계**
- [0146] 한 가지 실시 상태에 있어서, 3' 말단으로부터 세어서, 본 발명에 따른 올리고머의 첫번째 뉴클레오타이드는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체이다. 한 가지 실시 상태에 있어서, 3' 말단으로부터 세어서, 본 발명에 따른 올리고머의 마지막 뉴클레오타이드는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체인데 이는 첫번째 뉴클레오타이드와 같거나 다를 수 있다.
- [0147] 한 가지 실시 상태에 있어서, 3' 말단으로부터 세어서, 본 발명에 따른 올리고머의 두번째 뉴클레오타이드는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체이다.
- [0148] 한 가지 실시 상태에 있어서, 3' 말단으로부터 세어서, 본 발명에 따른 올리고머의 9번째 및/또는 10번째 뉴클레오타이드는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체이다.
- [0149] 한 가지 실시 상태에 있어서, 3' 말단으로부터 세어서, 본 발명에 따른 올리고머의 9번째 뉴클레오타이드는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체이다.
- [0150] 한 가지 실시 상태에 있어서, 3' 말단으로부터 세어서, 본 발명에 따른 올리고머의 10번째 뉴클레오타이드는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체이다.
- [0151] 한 가지 실시 상태에 있어서, 3' 말단으로부터 세어서, 본 발명에 따른 올리고머의 9번째와 10번째 뉴클레오타이드는 두개 모두 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체이다.
- [0152] 한 가지 실시 상태에 있어서, 본 발명의 올리고머는 3개를 초과하는 연속 DNA 뉴클레오타이드 유닛으로 된 영역을 포함하지 않는다. 한 가지 실시 상태에 있어서, 본 발명의 올리고머는 2개를 초과하는 연속 DNA 뉴클레오타이드 유닛으로 된 영역을 포함하지 않는다.
- [0153] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머는 적어도 두개의 연속 LNA 유닛과 같은 적어도 두개의 연속 뉴클레오타이드 유사체 유닛으로 이루어진 영역을 적어도 포함한다. 한 가지 실시 상태에서, 올리고머는 적어도 세개의 연속 LNA 유닛과 같은 적어도 세개의 연속 뉴클레오타이드 유사체 유닛으로 이루어진 영역을 적어도 포함한다.
- [0154] **올리고머 중 LNA와 같은 뉴클레오타이드 유사체의 다른 패턴**
- [0155] 적어도 6개의 LNA, 예컨대 적어도 7개의 뉴클레오타이드 유닛을 함유하는 올리고머들이 바람직할 것으로 여겨지고 있지만, 생체내에서 마이크로RNA를 표적화하는데 있어서 짧은 올리고머가 매우 효율적이라는 이러한 발견은, 고친화성 뉴클레오타이드 유사체와 같은 다른 뉴클레오타이드 유사체를 포함하는, 본 발명의 보다 짧은 올리고머를 제조하는데 이용될 수 있다.
- [0156] 3' 말단으로부터 세어서 1 내지 2 위치의 뉴클레오타이드를 변형시킨다. 위치 1 및/또는 2의 뉴클레오타이드는 LNA와 같은 고친화성 뉴클레오타이드 유사체이거나 또는 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, 2'-MOE-RNA 유닛, LNA 유닛, PNA 유닛, HNA 유닛, INA 유닛으로 이루어진 군 중에서 선택된 뉴클레오타이드 유사체일 수 있다. 따라서, 두개의 3' 뉴클레오타이드는 Xx, xX, XX 또는 xx일 수

있다. 여기서: 한 가지 실시 상태에 있어서 X는 LNA이고 x는 DNA 또는 예컨대 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, LNA, 및 2-MOE RNA 유닛으로 이루어진 군 중에서 선택된 2' 치환 뉴클레오타이드 유사체와 같은 다른 뉴클레오타이드 유사체이다. 또는 X는 뉴클레오타이드 유사체이고 x는 DNA이다.

[0157] 2개의 3' 말단 뉴클레오타이드에서의 전술한 변형은 후술하는 바와 같이, 3' 말단으로부터 세어서 위치 3-8에 있는 뉴클레오타이드의 변형과 조합될 수 있다. 이와 관련하여, X 및 x로 표시된 뉴클레오타이드는 그 올리고머 중에서 동일할 수 있다. 만일 올리고머의 길이가 오직 7 뉴클레오타이드 길이라면, 3' 말단부터 세어서 8번째 뉴클레오타이드는 폐기되어야 한다. 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8의 뉴클레오타이드가 변형된 다음의 실시 상태에서, LNA 유닛은 하나의 실시 상태에서 본 발명에 예시된 b와 같은 다른 뉴클레오타이드 유사체로 대체될 수 있다. 따라서, "X"는 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, 2'-MOE-RNA 유닛, LNA 유닛, PNA 유닛, HNA 유닛, INA 유닛으로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있다. "x"는 바람직하게는 DNA 또는 RNA인 것이 좋고, DNA인 것이 가장 좋다. 그러나, X는 LNA인 것이 바람직하다.

[0158] 본 발명의 한 가지 실시 상태에 있어서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 3' 말단으로부터 세어서 위치 3 내지 8에서 변형된다. 이러한 서열의 설계는 존재하는 비LNA 유닛의 수나 또는 존재하는 LNA 유닛의 수에 따라 정의될 수 있다. 전자의 바람직한 한가지 실시 상태에서, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8의 뉴클레오타이드들 중 적어도 하나, 예컨대 하나는 비LNA 유닛이다. 또 다른 실시 상태에 있어서, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8의 뉴클레오타이드들 중 적어도 두개, 예컨대 두개는 비LNA 유닛이다. 또 다른 실시 상태에 있어서, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8의 뉴클레오타이드들 중 적어도 세개, 예컨대 세개는 비LNA 유닛이다. 또 다른 실시 상태에 있어서, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8의 뉴클레오타이드들 중 적어도 네개, 예컨대 네개는 비LNA 유닛이다. 또 다른 실시 상태에 있어서, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8의 뉴클레오타이드들 중 적어도 다섯개, 예컨대 다섯개는 비LNA 유닛이다. 또 다른 실시 상태에 있어서, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8의 뉴클레오타이드들 6개는 모두 비LNA 유닛이다.

[0159] 달리 정의하면, 한가지 실시 상태에서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8에 적어도 3개의 LNA 유닛을 포함한다. 그 한가지 실시 상태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8에 3개의 LNA 유닛을 포함한다. 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중의 뉴클레오타이드의 치환 패턴은 XXXxxx, xXXXx, xxXXX, xxxXXX, XxXxx, xXxXx 및 XxXxXx로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있고, 여기서, "X"는 LNA 유닛을, "x"는 비LNA 유닛을 가리키는 것이다. 한가지 바람직한 실시 상태에서, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중의 뉴클레오타이드의 치환 패턴은 XXxXxx, XXxxX, xXxXx 및 XxXxXx로 이루어진 군 중에서 선택되며, 여기서 "X"는 LNA 유닛을, "x"는 비LNA 유닛을 가리키는 것이다. 더욱 바람직한 한가지 실시 상태에 있어서, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중의 뉴클레오타이드들의 치환 패턴은 xXXxX, xXXxX, xxXXx, xXxXX, xXxxX, xxXxX 및 xXxXx로 이루어진 군 중에서 선택되며, 여기서 "X"는 LNA 유닛을, "x"는 비LNA 유닛을 가리키는 것이다. 한가지 실시 상태에서, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중의 뉴클레오타이드들의 치환 패턴은 xXxXx 또는 XxXxX이며, 여기서 "X"는 LNA 유닛을, "x"는 비LNA 유닛을 가리키는 것이다. 한가지 실시 상태에서, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중의 뉴클레오타이드의 치환 패턴은 xXxXx이며 여기서 "X"는 LNA 유닛을, "x"는 비LNA 유닛을 가리키는 것이다.

[0160] 또 다른 실시 상태에서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중에 적어도 4개의 LNA 유닛을 포함한다. 그의 한가지 실시 상태에서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중에 4개의 LNA 유닛을 포함한다. 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중의 뉴클레오타이드들의 치환 패턴은 xxXXXX, xXxXXX, xXXxX, xXXxX, xXXXX, XxxXXX, XxXxX, XxXXx, XxXXX, XXxxX, XXxXX, XXXxX, XXXxX 및 XXXxx로 이루어진 군 중에서 선택되며, 여기서 "X"는 LNA 유닛을, "x"는 비LNA 유닛을 가리킨다.

[0161] 또 다른 실시 상태에서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중에 적어도 5개의 LNA 유닛을 포함한다. 그의 한가지 실시 상태에서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중에 5개의 LNA 유닛을 포함한다. 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중의 뉴클레오타이드들의 치환 패턴은 xxxXXX, XxXXX, XXxXX, XXXxX, XXXxX 및 XXXxx로 이루어진 군 중에서 선택될 수 있으며, 여기서, "X"는 LNA 유닛을, "x"는 비LNA 유닛을 가리킨다.

- [0162] 바람직하게는, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중에 하나 또는 두개의 LNA 유닛을 포함한다. 이는, 구조상 RNA:RNA 듀플렉스와 닮은 듀플렉스인 올리고:마이크로RNA 듀플렉스에 의해 형성되는 A-헬릭스에 의한 안정성 측면에서 유리하다.
- [0163] 또 다른 실시 상태에 있어서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중에 적어도 6개의 LNA 유닛을 포함한다. 그의 한가지 실시 상태에서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 6 중에 3 내지 6개의 LNA 유닛과, 이에 더해, 동일 영역에서 0 내지 3개의 다른 고친화성 뉴클레오타이드 유사체를 포함하며, 이에 따라, 3' 말단부터 세어서 위치 3 내지 8 중의 고친화성 뉴클레오타이드 유사체 (LNA 유닛을 포함한다)의 총량은 6개 이하가 된다.
- [0164] 어떤 실시 상태에서, X가 LNA이면, 상기 비LNA 유닛 (x)는 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, LNA, 및 2'MOE RNA 유닛으로 이루어진 군 중에서 선택된 2' 치환된 뉴클레오타이드 유사체와 같은, 다른 뉴클레오타이드 유사체 유닛이다.
- [0165] 9 또는 10개의 뉴클레오타이드를 갖는 올리고머의 경우, 위치 9 및/ 또는 10의 뉴클레오타이드는 LNA와 같은 고친화성 뉴클레오타이드 유사체와 같은 뉴클레오타이드 유사체이거나, 또는 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, 2'-MOE-RNA 유닛, LNA 유닛, PNA 유닛, HNA 유닛, 및 INA 유닛으로 이루어진 군 중에서 선택된 뉴클레오타이드 유사체일 수 있다. 따라서 두개의 5' 뉴클레오타이드는 Xx, xX, XX 또는 xx일 수 있고, 여기서: 한 가지 실시 상태에 있어서 X는 LNA이고 x는 DNA이거나 또는 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, LNA, 및 2'MOE RNA 유닛으로 이루어진 군 중에서 선택된 2' 치환된 뉴클레오타이드 유사체와 같은 다른 뉴클레오타이드 유사체이다. 따라서, 상기 비LNA 유닛 (x)은 2'MOE RNA 또는 2'-플루오로-DNA일 수 있다. 다른 한편, X는 뉴클레오타이드 유사체이고, x는 DNA이다.
- [0166] 2개의 5' 말단 뉴클레오타이드에 있어서의 전술한 변형은 전술한 바와 같이 3' 말단부터 세어서 위치 3 - 8 중의 뉴클레오타이드, 및/또는 2개의 3' 뉴클레오타이드의 변형과 조합될 수 있다. 이와 관련하여, X 및 x로 표시된 뉴클레오타이드는 그 올리고머 중에서 같을 수 있다.
- [0167] 본 발명의 바람직한 실시 상태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 5' 말단에 LNA 유닛을 함유한다. 또 다른 바람직한 실시 상태에서, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드는 5' 말단부터 세어서 처음 두 위치에서 LNA 유닛을 포함한다.
- [0168] 한가지 실시 상태에서, 본 발명은 본 발명의 약학적 조성물 측면, 또는 생물체의 생체내에서의, 예컨대 의약으로서의 용도를 갖는 올리고머를 제공하며, 여기서 상기 올리고머 (또는 인접 뉴클레오타이드 서열)는
- [0169] i) 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합 및/또는
- [0170] ii) 적어도 하나의 3' 말단 LNA 유닛, 및/또는
- [0171] iii) 적어도 하나의 5' 말단 LNA 유닛
- [0172] 중 어느 하나를 포함하는 것이다.
- [0173] 올리고머는 따라서 모든 결합이 포스포로티오에이트인 것과 같이, 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합과, 적어도 하나의 3' 말단 LNA 유닛 및 적어도 하나의 5' 말단 LNA 유닛을 함유한다.
- [0174] 대부분의 치료 용도에 있어서, 올리고뉴클레오타이드는 완전히 포스포로티올화된 것이 바람직하다 - 단, 뉴클레아제의 부재로 인하여, 포스포로티오에이트화가 독성적일 수 있는 뇌 또는 척수와 같은 CNS에서 사용될 경우의 치료적 올리고뉴클레오타이드는 예외인데, 이 경우 연속적인 DNA 유닛 사이에 조차 포스포디에스테르 결합을 사용할 수 있다.
- [0175] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드에서 두개의 3' 뉴클레오타이드, 및/또는 만일 존재할 경우 9번째 및 10번째 (3' 말단부터 세어서)의 뉴클레오타이드 역시도 LNA일 수 있다.
- [0176] 한가지 실시 상태에서, 올리고머는 miRNA 씨드 영역에 상보적인 위치에서, 적어도 5개의 LNA 유닛과 같은 적어도 5개의 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다.
- [0177] 한가지 실시 상태에서, 마이크로RNA 씨드 영역의 서열에 상보적인 올리고머의 뉴클레오타이드 서열은 (X)xXXXXX, (X)XxXXXX, (X)XXxXXX, (X)XXXxXX, (X)XXXXxX 및 (X)XXXXXx로 이루어진 군 중에서 선택되며, 여기서

"X"는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체, (X)는 LNA 유닛과 같은 임의의 뉴클레오타이드 유사체를 나타내고, "x"는 DNA 또는 RNA 뉴클레오타이드 유닛을 가리킨다.

- [0178] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머는 miRNA 씨드 영역에 상보적인 위치에서, 6개 또는 7개 뉴클레오타이드 유사체 유닛, 예컨대 6개 또는 7개의 LNA 유닛을 포함한다.
- [0179] 한가지 실시 상태에서, 마이크로RNA 씨드 영역의 서열에 상보적인 올리고머의 뉴클레오타이드 서열은 XXXXXX, XxXXXX, XxXXXX, XXXxXXX, XXXXxXX, XXXXXxX 및 XXXXXxX로 이루어진 군 중에서 선택되며, 여기서 "X"는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체를 나타내고, "x"는 DNA 또는 RNA 뉴클레오타이드 유닛을 나타낸다.
- [0180] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머의 3' 말단부터 세어서 위치 7 내지 8의 2개의 뉴클레오타이드 모티프는 xx, XX, xX 및 Xx로 이루어진 군 중에서 선택되며, 여기서 "X"는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체를 나타내고, "x"는 DNA 또는 RNA 뉴클레오타이드 유닛을 가리킨다.
- [0181] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머의 3' 말단부터 세어서 위치 7 내지 8의 2개의 뉴클레오타이드 모티프는 XX, xX 및 Xx로 이루어진 군 중에서 선택되며, 여기서 "X"는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체를 나타내고, "x"는 DNA 또는 RNA 뉴클레오타이드 유닛을 가리킨다.
- [0182] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머는 12개의 뉴클레오타이드를 포함하며 여기서 올리고머의 3' 말단부터 세어서 위치 11 내지 12의 두개의 뉴클레오타이드 모티프는 xx, XX, xX 및 Xx로 이루어진 군 중에서 선택되며, 여기서 "X"는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체를 나타내고, "x"는 DNA 또는 RNA 뉴클레오타이드 유닛을 나타낸다.
- [0183] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머는 12개의 뉴클레오타이드를 포함하며 여기서 올리고머의 3' 말단부터 세어서 위치 11 내지 12의 두개의 뉴클레오타이드 모티프는 XX, xX 및 Xx로 이루어진 군 중에서 선택되며, 여기서 "X"는 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체를 나타내고, "x"는 DNA 또는 RNA 뉴클레오타이드 유닛을 나타낸다.
- [0184] 한가지 실시 상태에서, 올리고머는 5' 말단에서 LNA 유닛과 같은 뉴클레오타이드 유사체 유닛을 포함한다.
- [0185] 한 가지 실시 상태에 있어서, X와 같은 뉴클레오타이드 유사체 유닛은 다음으로 이루어진 군 중에서 선택된다: 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, 2'-MOE-RNA 유닛, LNA 유닛, PNA 유닛, HNA 유닛, INA 유닛.
- [0186] 한 가지 실시 상태에 있어서, 본 발명의 올리고머의 모든 뉴클레오타이드들은 뉴클레오타이드 유사체 유닛이다.
- [0187] 한 가지 실시 상태에 있어서, X와 같은 뉴클레오타이드 유사체 유닛은 독립적으로: 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, 및 LNA 유닛으로 이루어진 군 중에서 선택된다.
- [0188] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머는 상기 적어도 하나의 LNA 유사체 유닛과 LNA 이외의 적어도 하나의 또 다른 뉴클레오타이드 유사체를 포함한다.
- [0189] 한 가지 실시 상태에 있어서, 비LNA 뉴클레오타이드 유사체 유닛 또는 유닛들은 독립적으로 2'-OMe RNA 유닛 및 2'-플루오로 DNA 유닛이다.
- [0190] 한 가지 실시 상태에 있어서, 올리고머는 적어도 하나의 서열 XYX 또는 YXY로 구성되며, 여기서 X는 LNA이고 Y는 2'-OMe RNA 유닛이거나 2'-플루오로 DNA 유닛이다.
- [0191] 한 가지 실시 상태에서, 올리고머의 뉴클레오타이드 서열은 또 다른 X 및 Y 유닛으로 구성된다.
- [0192] 한가지 실시 상태에서, 올리고머는 LNA 유닛과 DNA 유닛이 번갈아 나타나는 (Xx) 또는 (xX) 배열을 갖는다. 한 가지 실시 상태에서, 올리고머는 LNA 다음에 2개의 DNA 유닛이 번갈아 배치되는 모티프 (Xxx), xXx 또는 xxX의 코티프를 갖는다.
- [0193] 한 가지 실시 상태에 있어서, DNA 또는 비LNA 뉴클레오타이드 유사체 유닛들 중 적어도 하나는 전술한 실시 상태들에 있어서 LNA 뉴클레오타이드로서 동정되는 위치에서 선택된 위치에서 LNA 뉴클레오타이드로 대체된다. 한 가지 실시 상태에서, "X"는 LNA 유닛을 공여한다.
- [0194] **본 발명의 올리고머를 위한 또 다른 디자인**
- [0195] 하기 표 1은 본 발명의 올리고뉴클레오타이드를 이용하여 유리하게 표적화될 수 있는 짧은 마이크로RNA 서열의

비제한적인 예들을 제공한다.

- [0196] 표 1에 개시된 것과 같은 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 한가지 실시 상태에서, 7, 8, 9 또는 10개의 LNA 뉴클레오타이드 서열 5'-3' LLLLLL(L)(L)(L)(L)을 갖거나, 또는 다음의 모티프를 갖는 또는 최초 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오타이드 서열을 가질 수 있다:
- [0197] LdLddL(L)(d)(d)(L)(d)(L)(d)(L)(L), LdLdLL(L)(d)(d)(L)(L)(L)(d)(L)(L),
 LMLML(L)(M)(M)(L)(M)(L)(M)(L)(L), LMLML(L)(M)(M)(L)(L)(L)(M)(L)(L),
 LFLFFL(L)(F)(F)(L)(F)(L)(F)(L)(L), LFLFL(L)(F)(F)(L)(L)(L)(F)(L)(L), 및 다음과 같은 매 3번째 디자인;
 LddLdd(L)(d)(d)(L)(d)(d)(L)(d)(d)(L)(d)dLddLd(d)(L)(d)(d)(L)(d)(d)(L)(d)(d)(L),
 ddLddL(d)(d)(L)(d)(d)(L)(d)(d)(L)(d)(d), LMMLMM(L)(M)(M)(L)(M)(M)(L)(M)(M)(L)(M),
 MLMLM(M)(L)(M)(M)(L)(M)(M)(L)(M)(M)(L), MMLMML(M)(M)(L)(M)(M)(L)(M)(M)(L)(M)(M),
 LFFLFF(L)(F)(F)(L)(F)(F)(L)(F)(F)(L)(F), FLFFLF(F)(L)(F)(F)(L)(F)(F)(L)(F)(F)(L),
 FFLFFL(F)(F)(L)(F)(F)(L)(F)(F)(L)(F)(F), 및 dLdLdL(d)(L)(d)(L)(d)(L)(d)(L)(d) 및 다음과 같은 매
 4번째 디자인; LdLdLd(L)(d)(L)(d)(L)(d)(L)(d)(L)(d)(L), MLMLM(L)(M)(L)(M)(L)(M)(L)(M)(L)(M),
 LMLML(L)(M)(L)(M)(L)(M)(L)(M)(L)(M)(L), FLFLFL(F)(L)(F)(L)(F)(L)(F)(L)(F)(L)(F), 및
 LFLFLF(L)(F)(L)(F)(L)(F)(L)(F)(L)(F)(L); 여기서 L = LNA 유닛, d= DNA 유닛, M = 2'-MOE RNA, F = 2'-플루오로오로이며, 괄호 안의 잔기는 임의의 것이다.
- [0198] **의약 조성물 및 의학적 응용**
- [0199] 본 발명은 본 발명에 따른 올리고머, 및 약학적으로 사용되는 희석제, 담체, 염 또는 아췌반트를 포함하는 의약 조성물을 제공한다.
- [0200] 본 발명은 또한 의약 조성물의 일부를 형성하는데 있어서, 마이크로RNA의 과발현 (상향조절) 또는 존재와 관련된 질환 또는 의학적 장애의 치료용 약제를 제조하는데 있어서의 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드의 용도를 제공한다.
- [0201] 본 발명은 또한 치료를 필요로 하는 사람에게 본 발명에 따른 조성물 (예컨대 의약 조성물)을 투여하는 단계를 포함하여 이루어지는, 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 연관된 질환 또는 의학적 장애를 치료하기 위한 방법을 제공한다.
- [0202] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 조성물 (예컨대 의약 조성물) 또는 본 발명에 따른 올리고머를 세포 또는 장기에 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 세포 또는 장기에 있어서 miRNA의 유효량을 감소시키는 방법을 제공한다. 문맥상 유효량을 저감시킨다 함은 그 세포 또는 장기 중에 존재하는 기능적인 miRNA를 감소시킨다는 것이다. 본 발명에 따른 바람직한 올리고뉴클레오타이드는 일반적으로 그들의 miRNA 표적과 매우 안정한 듀플렉스를 형성하기 때문에, 그 세포 또는 장기 중의 miRNA의 실제량을 항상 유의적으로 감소시키는 것이 아니다. 한가지 실시 상태에서, 어떤 세포 중의 miRNA의 유효량의 감소는 그 세포에 있어서 miRNA의 표적의 탈억제 (de-repression) 수준을 검색함으로써 측정될 수 있다.
- [0203] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 조성물 (예컨대 의약 조성물) 또는 올리고머를 세포 또는 장기에 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 세포 또는 장기에서 miRNA의 표적 mRNA의 탈억제 방법도 제공한다.
- [0204] 본 발명은 또한 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 연관이 있는 질환 또는 의학적 장애의 치료용 약제를 제조하는데 있어서의, 7 - 10, 예컨대, 7, 8, 9, 또는 10 뉴클레오타이드 길이를 갖는 올리고머의 용도도 제공한다.
- [0205] 한가지 실시 상태에서, 상기 의학적 상황 (또는 질병)은 C형 간염 (HCV)이고, miRNA는 miR-122이다.
- [0206] 한 가지 실시 상태에 있어서, 본 발명의 의약 조성물은 C형 간염 바이러스 및 고콜레스테롤혈증 및 관련 질환, 및 암으로 이루어진 군 중에서 선택된 의학적 장애 또는 질환을 치료하기 위한 용도를 갖는다.
- [0207] 한가지 실시 상태에 있어서, 의학적 장애 또는 질환은 CNS 질환, 예컨대 하나 이상의 마이크로RNA가 지시되는 것으로 알려진 CNS 질환이다.
- [0208] 고콜레스테롤혈증 관련 질환이라 함은 죽상동맥경화증 또는 고지혈증과 같은 질환을 의미한다. 관련 질환의 또 다른 예로는 여러 유형의 HDL/LDL 콜레스테롤 불균형; 디스리피데미아, 예컨대 가족고지혈증 (FCHL), 후천성 고지혈증, 스타틴 내성 고콜레스테롤혈증; 관상 동맥 질환 (CAD), 관상 심장 질환 (CHD), 죽상동맥경화증 등을 들 수 있다.

- [0209] 한 가지 실시 상태에 있어서, 본 발명의 의약 조성물은 ApoB 억제제, 또는 MTP 억제제 (예컨대 본 발명에 참고 통합된 US 60/977,497에 개시된 것들)과 같이, VLDL 어셈블리 경로의 억제제인 제2의 독립적인 활성 성분을 추가로 포함한다.
- [0210] 본 발명은 또한 길이가 7, 8, 9, 또는 10 뉴클레오타이드 인 것과 같이 7 - 10개 길이의 올리고머를 포함하는 조성물 (예컨대 의약 조성물)을 치료를 필요로 하는 사람에게 투여하는 단계를 포함하여 이루어지는, 마이크로 RNA의 존재 또는 과발현과 연관이 있는 질환 또는 의학적 장애의 치료 방법도 제공한다.
- [0211] 본 발명은 또한 길이가 7, 8, 9, 또는 10 뉴클레오타이드 인 것과 같이 7-10개 길이의 올리고머를 포함하는 조성물 (예컨대 의약 조성물)을 세포 또는 장기에 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 세포 또는 장기에 있어서, miRNA 표적의 유효량 (즉, '이용가능한 (available)' miRNA)을 감소시키는 방법 역시도 제공한다.
- [0212] 세포 또는 장기에서 하나 이상의 마이크로RNA의 "유효량을 감소시킨다"라는 것은 그 세포 또는 장기에서 마이크로RNA 기능을 억제하는 것을 가리킨다. 세포는 바람직하게는 마이크로RNA 또는 마이크로RNA들을 발현하는 포유동물의 세포 또는 인간 세포인 것이 좋다.
- [0213] 본 발명은 또한 길이가 7, 8, 9, 또는 10 뉴클레오타이드 인 것과 같이 7-10개 길이의 올리고머를 세포 또는 장기에 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 세포 또는 장기에 있어서, miRNA의 표적 mRNA의 탈억제 방법 역시도 제공한다.
- [0214] 전술한 바와 같이, 마이크로RNA는 몇몇 질환과 관련이 있다. 따라서, 본 발명의 네번째 측면은 척수근육위축증, 투렛 (Tourette) 증후군, C형 간염, 취약 X 정신 지체증, 디조지 (DiGeorge) 증후군 및 암, 예컨대 비제한적인 예로서 만성 임파구구성 백혈병, 유방암, 폐암 및 결장암, 특히 암으로 이루어진 군 중에서 선택된, 마이크로RNA의 발현과 연관된 질환의 치료용 약제를 제조하는데 있어서의 본 발명의 올리고뉴클레오타이드의 용도에 관한 것이다.
- [0215] **합성 방법**
- [0216] 본 발명은 또한 본 발명에 설명된 올리고머와 같은, 인간 마이크로RNA에 대하여 표적화된 올리고머의 합성 방법을 제공하는데, 상기 방법은 다음 단계를 포함하여 이루어진다:
- [0217] a. 3' 말단으로부터 세어서 LNA 뉴클레오타이드와 같은, 뉴클레오타이드 유사체인 제1 뉴클레오타이드를 임의로 선택하는 단계.
- [0218] b. 3' 말단으로부터 세어서 LNA 뉴클레오타이드와 같은, 뉴클레오타이드 유사체인 제2 뉴클레오타이드를 임의로 선택하는 단계.
- [0219] c. miRNA 씨드 영역에 대응하는 올리고머 영역을 선택하는 단계 (여기서 상기 영역은 본 발명에서 정의된 바와 같다)
- [0220] d. 본 발명에서 정의된 7번째 및 임의로 8번째 뉴클레오타이드를 선택하는 단계.
- [0221] e. 본 발명에서 정의된 바와 같은 올리고머의 1개 또는 2개의 추가적인 5' 말단을 임의로 선택하는 단계.
- [0222] 여기서 상기 합성법은 a - e 단계에 정의된 영역의 순차적인 합성에 의해 수행되는데, 여기서 상기 합성은 3'-5' 방향 (a 에서 f로) 또는 5'-3' 방향 (e에서 a로)으로 수행될 수 있고, 상기 올리고머는 miRNA 표적 서열에 상보적이다.
- [0223] 본 발명은 또한 올리고머 (예컨대 본 발명에 따른 올리고머)의 제조 방법도 제공하는데, 상기 방법은 a) 길이가 7, 8, 9 또는 10 뉴클레오타이드인 것과 같이 길이가 적어도 7 뉴클레오타이드인 공통 인접 뉴클레오타이드 서열 (즉, 동일하지 않은 두개의 miRNA에서 모두 발견되는 서열)을 포함하는 2개 이상의 miRNA 서열을 동정하기 위하여 2개 이상의 miRNA 서열들의 서열을 비교하는 단계, b) 상기 공통 인접 뉴클레오타이드 서열에 상보적인 인접 뉴클레오타이드 서열로(을) 구성되거나 포함하는 올리고머 서열을 포함하는 단계 (여기서 상기 올리고머는 본 발명에 따른 올리고머임)를 포함하여 이루어지는 것이다. 바람직한 구체예에서, 공통 인접 뉴클레오타이드 서열은 상기 2개 이상의 miRNA 서열 (길이가 적어도 6 뉴클레오타이드인 공통 인접 뉴클레오타이드 서열을 포함한다)의 각각의 씨드 영역으로(을) 구성되거나 포함하는 것이다. 한가지 실시 상태에 있어서, 이들 2 이상의 miRNA의 씨드 영역은 동일하다. 적절하게는, 상기 올리고머는 상기 2 이상의 miRNA에 대해 상보적인 서열을 포함하며 길이가 7 또는 8 뉴클레오타이드인 씨드 서열로(을) 구성되거나 포함하는 것이다. 이 방법은 상기 방

법의 단계 c)와 병합하여 사용될 수 있다.

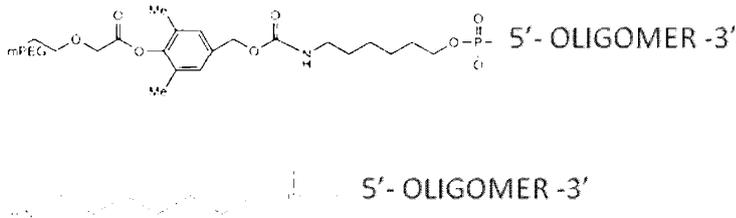
- [0224] 본 발명에 따른 올리고머의 합성 방법은 표준 고상 올리고뉴클레오타이드 합성법을 사용하여 수행될 수 있다.
- [0225] 한가지 실시 상태에서, 인간의 마이크로RNA에 대하여 표적화된 올리고머의 합성 방법은 3'로부터 5'로의 방향으로 a-e로 수행된다.
- [0226] 본 발명의 또 다른 구체에는 표적 마이크로RNA를 본 발명에서 정의된 바와 같은 올리고뉴클레오타이드와 접촉시킴으로써, 표적 마이크로RNA의 수준을 감소시키는 방법인데, 이 방법에서 상기 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 (i) 표적 마이크로RNA 서열에 상보적이면서 (ii) 표적 마이크로RNA의 첫번째 5' 말단 뉴클레오타이드에 대응하는 3' 말단에서의 뉴클레오타이드는 함유하지 않는 것이다.
- [0227] **듀플렉스 안정성 및 T_m**
- [0228] 한 가지 실시 상태에 있어서, 본 발명의 올리고머는 포스포디에스테르 인터뉴클레오사이드 결합을 갖는, 상보적인 단일 가닥의 RNA 핵산 분자와 듀플렉스를 형성할 수 있는 것으로서 (상기 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드와 대략 동일한 길이를 가짐) 여기서 상기 듀플렉스의 T_m 은 30°C 내지 70°C, 또는 80°C, 예컨대 30°C 내지 60°C 또는 70°C, 또는 30°C 내지 50°C 또는 60°C이다. 한 가지 실시 상태에 있어서 상기 T_m 은 적어도 40°C이다. T_m 은 다음의 완충 조건, 즉: 100mM NaCl, 0.1mM EDTA, 10mM Na-포스페이트, pH 7.0 (실시예 및 상세한 프로토콜 참조)에서, 올리고머의 T_m 및 상보적인 RNA 표적의 T_m 을 측정함으로써 측정할 수 있다. 고친화성 유사체는 본 발명의 올리고머에서 사용될 경우, DNA 염기만을 함유하는 동일한 올리고머와 비교할 때, 그 올리고머의 T_m 을 증가시키는 결과를 초래하는 유사체인 것으로 정의될 수 있다.
- [0229] **컨쥬게이트**
- [0230] 한 가지 실시 상태에 있어서, 상기 올리고머는 하나 이상의 비뉴클레오타이드 (또는 폴리뉴클레오타이드) 화합물과 컨쥬게이트된다.
- [0231] 본 발명의 내용상 "컨쥬게이트(conjugate)"라는 용어는 본 발명에 설명된 바와 같은 올리고머가 하나 이상의 비뉴클레오타이드, 또는 비폴리뉴클레오타이드 부분 (moieties)과 공유 부착 ("컨쥬게이션")함으로써 형성된 이중 분자를 가리키는 것이다. 비뉴클레오타이드 또는 비폴리뉴클레오타이드 부분의 예로는 단백질, 지방산 사슬, 당 잔기 (sugar residues), 당단백질, 폴리머 또는 이들의 조합과 같은 마크로분자 체제를 들 수 있다. 일반적으로 단백질은 표적 단백질에 대한 항체일 수 있다. 전형적인 폴리머는 폴리에틸렌 글리콜일 수 있다.
- [0232] 따라서, 다양한 실시 상태에서, 본 발명의 올리고머는 뉴클레오타이드의 인접 서열로 주로 구성된 폴리뉴클레오타이드 영역과, 추가적인 비뉴클레오타이드 영역의 두가지 모두를 포함할 수 있다. 인접 뉴클레오타이드 서열로 구성된 본 발명의 올리고머를 말할 때, 상기 화합물은 컨쥬게이트 성분과 같은, 비뉴클레오타이드 성분들을 포함할 수 있다.
- [0233] 본 발명의 다양한 실시 상태에 있어서, 올리고머 화합물은 예컨대, 올리고머성 화합물의 세포 흡수를 증가시키는데 사용될 수 있는 리간드/컨쥬게이트에 결합된다. W02007/031091은 적절한 리간드와 컨쥬게이트를 제공하는데, 이는 본 발명에 참고로 통합된다.
- [0234] 본 발명은 또한 전술한 바와 같은 본 발명에 따른 화합물, 및 상기 화합물에 공유적으로 부착된 적어도 하나의 비뉴클레오타이드 또는 비폴리뉴클레오타이드 부분을 포함하여 이루어지는 컨쥬게이트를 제공한다. 따라서, 본 발명의 화합물이 전술한 바와 같은 특정 핵산 또는 뉴클레오타이드 서열로 구성된 것인 여러가지 실시 상태에서, 상기 화합물 역시도 상기 화합물에 공유적으로 부착된 적어도 하나의 비뉴클레오타이드 또는 비폴리뉴클레오타이드 부분 (예컨대 하나 이상의 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유사체를 포함하지 않는다)을 포함할 수도 있다.
- [0235] (컨쥬게이트 부분에 대한) 컨쥬게이션은 본 발명의 올리고머의 세포 흡수, 활성, 세포 분포를 향상시킬 수 있다. 이러한 부분의 예로는 항체, 폴리펩타이드, 지질 부분, 예컨대 콜레스테롤 부분, 콜산, 티오에테르, 예컨대 핵실-s-트리틸티올, 티오콜레스테롤, 지방족 사슬, 예컨대, 도데칸디올 또는 운데실 잔기, 인지질, 예컨대, 디-헥사데실-rac-글리세롤 또는 트리에틸암모늄 1,2-디-o-헥사데실-rac-글리세로-3-h-포스페이트, 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 사슬, 아다만탄 아세트산, 팔미틸 부분, 옥타데실아민 또는 핵실아미노-카르보닐-옥시콜레스테롤 부분을 들 수 있으나 이에 한정되지 않는다.

[0236] 본 발명의 올리고머는 또한 예컨대, 아스피린, 이부프로펜, 설파제, 항당뇨병제, 항균제 또는 항생제와 같은 활성 약물과 컨주게이트될 수도 있다.

[0237] 특정 실시 상태에서, 컨주게이트된 부분은 스테롤, 예컨대 콜레스테롤이다.

[0238] 다양한 실시 상태에서, 이러한 컨주게이트된 부분은 양하전 폴리머, 예컨대 길이가 1-50, 예컨대 2-20, 예컨대 3-10 아미노산 잔기인 양하전 펩티드, 및/또는 폴리알킬렌 옥사이드, 예컨대 폴리에틸렌글리콜 (PEG) 또는 폴리프로필렌글리콜(로) 포함하거나 구성될 수 있다 - 본 발명에 참고로 통합된 WO 2008/034123의 내용을 참고. 적절하게는, 폴리알킬렌 옥사이드와 같은 양하전된 폴리머는 WO 2008/034123에 설명된 방출가능한 링커와 같은 링커를 통하여 본 발명의 올리고머에 부착될 수 있다.

[0239] 일례로서, 본 발명의 컨주게이트에는 다음과 같은 컨주게이트 부분을 사용할 수 있다:



[0240]

[0241] **활성화된 올리고머들**

[0242] 본 발명에서 "활성화된 올리고머"라는 용어는 그 올리고머로 하여금 하나 이상의 컨주게이트된 부분, 즉 그 자신은 핵산 또는 모노머가 아닌 부분과 공유 결합 (즉, 관능화됨)을 형성하게 해줌으로써, 본 발명에 설명된 컨주게이트를 형성하는, 본 발명의 올리고머를 칭한다. 일반적으로, 관능기 부분은 예컨대 아데닌 염기의 엑소시클릭 NH₂기 또는 3'-히드록실기, 바람직하게는 친수성인 것이 좋은 스페이서 및 컨주게이트된 부분 (예컨대 아미노기, 설포히드릴기 또는 히드록실기)에 결합될 수 있는 말단기를 통하여 상기 올리고머에 공유 결합할 수 있는 화학기르르 포함할 것이다. 어떤 실시 상태에서, 이러한 말단기는 보호되지 않으며, 예컨대 NH₂기이다. 또 다른 실시 상태에서, 말단기는 예컨대 "Protective Groups in Organic Synthesis" (Theodora W Greene 및 Peter G M Wuts, 제3판 (John Wiley & Sons, 1999)에 설명된 바와 같은 적절한 보호기에 의해 보호된다. 적절한 히드록실 보호기의 예로는 아세테이트 에스테르와 같은 에스테르, 벤질과 같은 아르알킬기, 디페닐메틸, 또는 트리페닐메틸, 및 테트라히드로피라닐과 같은 에스테르를 들 수 있다. 적절한 아미노 보호기의 예로는 벤질, 알파-메틸벤질, 디페닐메틸, 트리페닐메틸, 벤질옥시카르보닐, 3차-부톡시카르보닐, 및 아실기, 예컨대 트리클로로아세틸 또는 트리플루오로아세틸을 들 수 있다. 어떤 실시 상태에서, 관능기 부분은 자가-절단된다. 또 다른 실시 상태에서, 관능기 부분은 생분해가능한 것이다. 예컨대, 본 발명에 그 내용 전체가 참고로 통합된 미국특허 제 7,087,229호.

[0243] 어떤 실시 상태에서, 본 발명의 올리고머는 컨주게이트된 부분을 올리고머의 5' 말단에 공유 부착시키도록, 5' 말단에서 관능화된다. 다른 실시 상태에서, 본 발명의 올리고머는 3' 말단에서 관능화될 수 있다. 또 다른 실시 상태에서, 본 발명의 올리고머는 백본을 따라 관능화되거나 또는 헤테로사이클릭 염기 부분 상에서 관능화될 수 있다. 또 다른 실시 상태에서, 본 발명의 올리고머는 5' 말단, 3' 말단, 백본 및 염기 중에서 독립적으로 선택된 두개 이상의 위치에서 관능화될 수 있다.

[0244] 어떤 실시 상태에서, 본 발명의 활성화된 올리고머는 그의 합성이 진행되는 동안, 관능기 부분에 공유적으로 부착된 하나 이상의 모노머를 인코포레이팅함으로써 합성된다. 또 다른 실시 상태에서, 본 발명의 활성화된 올리고머는 관능화되지 않은 모노머를 이용하여 합성되어, 합성 완료 후에 관능화된다. 어떤 실시 상태에서, 올리고머는 아미노알킬 링커를 함유하는 힌더드 에스테르에 의해 관능화되는데, 여기서 알킬 부분은 식 (CH₂)_w로 표시되고, 여기서 w는 1 내지 10, 바람직하게는 약 6의 정수이며, 여기서 알킬아미노기의 알킬 부분은 직쇄 또는 분지쇄일 수 있고, 여기서 관능기 부분은 에스테르기 (-O-C(O)-(CH₂)_wNH)를 통해 올리고머에 부착된다.

[0245] 또 다른 실시 상태에서, 올리고머는 (CH₂)_w-설포히드릴 (SH) 링커를 함유하는 힌더드 에스테르에 의해 관능화되는데, 여기서 w는 1 내지 10, 바람직하게는 약 6의 정수이고, 여기서 알킬아미노기의 알킬 부분은 직쇄 또는 분지쇄일 수 있으며, 여기서 관능기는 에스테르기 (-O-C(O)-(CH₂)_wSH)를 통해 올리고머에 부착된다.

- [0246] 어떤 실시 상태에 있어서, 설프히드릴-활성화된 올리고뉴클레오타이드는 폴리에틸렌 글리콜 또는 펩타이드와 같은 폴리머 부분과 함께 컨주게이트된다 (디설프아이드 결합의 형성을 포함).
- [0247] 전술한 바와 같이 힌더드 에스테르를 함유하는 활성화된 올리고머는 종래 기술에 알려진 방법, 특히, PCT 공개 번호 WO 2008/034122에 개시된 방법 및, 이 특허문헌에 개시된 실시예에 의해 합성될 수 있으며 이 문헌의 내용은 그 전체가 본 발명에 참고 통합된다.
- [0248] 또 다른 실시 상태에 있어서, 본 발명의 올리고머는 미국특허 제4,962,029호 및 제4,914,210호에 실질적으로 설명된 관능화 시약, 즉, 즉 한쪽 말단에, 포스포로아미다이트를 갖되, 이 포스포로아미다이트는 친수성 스페이서 사슬을 통해 반대쪽 말단에 결합되어 있는 것이고, 이 반대쪽 말단은 보호되거나 보호되지 않은 설프히드릴기, 아미노기 또는 히드록실기를 포함하는 것인, 실질적으로 선형인 시약에 의하여, 설프히드릴기, 아미노기 또는 히드록실기를 올리고머 내로 도입함으로써 관능화된다. 이러한 시약은 일차적으로 올리고머의 히드록실기와 반응한다. 어떤 실시 상태에 있어서, 이러한 활성화된 올리고머는 그 올리고머의 5'-히드록실기에 커플링된 관능화 시약을 갖는다. 또 다른 실시 상태에서, 활성화된 올리고머는 3'-히드록실기에 커플링된 관능화 시약을 갖는다. 또 다른 실시 상태에 있어서, 본 발명의 활성화된 올리고머는 올리고머의 백본 상에 히드록실기에 커플링된 관능화 시약을 갖는다. 또 다른 실시 상태에서, 본 발명의 올리고머는 미국특허 제4,962,029호 및 제4,914,210호에 설명된 바와 같은 2중 이상의 관능화 시약에 의해 관능화되며, 상기 문헌들의 내용은 그 전체가 본 발명에 참고로 통합된다. 이러한 관능화 시약의 합성 방법 및 이들을 모노머 또는 올리고머 내로 통합시키는 방법은 미국특허 제4,962,029호 및 제4,914,210호에 기재되어 있다.
- [0249] 또 다른 실시 상태에 있어서는, 고상 결합된 올리고머의 5'-말단을 디에닐 포스포로아미다이트 유도체로 관능화시킨 다음, 이 탈보호된 올리고머를, 딜스-알더 사이클로부가반응을 경유하여 예컨대 아미노산 또는 펩타이드와 컨주게이션시킨다.
- [0250] 여러가지 실시 상태에서, 2'-카르바메이트 치환된 당 또는 2'-(0-펜틸-N-프탈이미도)-데옥시리보스 당과 같은 2'-당 변형체를 함유하는 모노머를 올리고머 내로 인코포레이션시키면, 컨주게이션된 부분이 올리고머의 당과 공유 부착하는 것이 용이해진다. 또 다른 실시 상태에서는, 하나 이상의 모노머의 2'-위치에 아미노-함유 링커를 갖는 올리고머를, 예컨대, 5'-디메톡시트리틸-2'-0-(e-프탈이미딜아미노펜틸)-2'-데옥시아데노신-3'--N,N-디이소프로필-시아노에톡시 포스포로아미다이트와 같은 시약을 이용하여 제조한다. 예컨대, Manoharan 외, Tetrahedron Letters, 1991, 34, 7171 참조.
- [0251] 또 다른 실시 상태에서, 본 발명의 올리고머는 N6 퓨린 아미노기 상에, 구아닌의 엑소사이클릭 N2 상에, 또는 시토신의 N4 또는 N5 위치를 비롯한, 뉴클레오타이드 상에 아미노-함유 관능기 부분을 가질 수 있다. 다양한 실시 상태에서, 이러한 관능화는 올리고머 합성시 이미 관능화된 시판 시약을 이용함으로써 달성할 수 있다.
- [0252] 몇몇 관능기 부분은 시중에서 구입가능한데, 예컨대 헤테로이관능기 및 동종이관능기 링킹 부분은 Pierce Co. (Rockford, Ill.)로부터 입수가 가능하다. 또 다른 시판 링킹기로서 5'-아미노-모디파이어 C6 및 3'-아미노-모디파이어 시약을 들 수 있는데 이들 두가지 모두 Glen Research Corporation (Sterling, Va.)로부터 입수할 수 있다. 5'-아미노-모디파이어 C6은 ABI (Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.)로부터 아미노링크-2로서도 입수가 가능하며, 3'-아미노-모디파이어 역시도 Clontech Laboratories Inc. (Palo Alto, Calif.)로부터 구입할 수 있다.
- [0253] **치료 및 의약 조성물 - 포플레이션 및 투여**
- [0254] 처음 설명한 바와 같이, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 개선된 효능을 갖는 적절한 약물을 구성한다. 강력하고도 안전한 약물을 설계하기 위해서는 체액 중에서의 친화성/특이성, 안정성, 세포 흡수력, 작용 방식, 약동학적 특성 및 독성과 같은 다양한 변수를 미세하게 조정할 필요가 있다.
- [0255] 따라서, 또 다른 구체예에서, 본 발명은 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드 및 약학적으로 허용가능한 희석제, 담체 또는 아유반트를 함유하는 의약 조성물에 관한 것이다. 바람직하게는 상기 담체는 염수 또는 완충 염수인 것이 좋다.
- [0256] 또 다른 측면에서 본 발명은, 의약 용도를 위한 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드에 관한 것이다.
- [0257] 투약은 치료하고자 하는 질병 상태의 위중도와 응답성, 수일 내지 수개월간 지속되거나, 또는 치료가 효과를 거둘 때까지, 또는 질병 상태가 호전될 때까지 지속되는 치료 경과에 따라 달라진다는 것은 잘 알려진 사실이다. 최적의 투약 스케줄은 환자 체내의 약물 측정량을 측정함으로써 산출할 수 있다. 최적 투여량은 개개의 올리고

뉴클레오타이드의 상대 강도에 따라 달라질 수 있다. 일반적으로 시험관내 및 생체내 동물 모델에서 효과적인 것으로 밝혀진 EC50에 기초하여 평가될 수 있다. 일반적으로, 투여량은 체중 1 kg 당 0.01 μg 내지 1 g이며, 하루, 일주일, 월간, 또는 연간 단위로 한번 이상, 심지어는 2년 내지 10년 마다 한번씩 투여하거나, 또는 수시간 내지 최대 수개월 동안 연속 주입할 수도 있다. 투약의 반복 속도는 체액 또는 조직 중에서 측정된 약물의 체류 시간 및 농도에 따라 평가할 수 있다. 성공적인 치료에 이어서, 질병 상태가 재발되지 않도록, 환자들에게 유지 요법을 실시하는 것이 요망될 수 있다.

[0258] 전술한 바와 같이, 본 발명은 또한 활성 성분으로서 본 발명의 1종 이상의 올리고뉴클레오타이드를 함유하는 의약 조성물에 관한 것이기도 하다. 본 발명에 따른 의약 조성물은 약학적 담체를 함유하여도 좋고, 필요에 따라서는 추가의 화합물, 예컨대, 화학요법용 화합물, 항염 화합물, 항바이러스 화합물 및/또는 면역조절 화합물을 추가로 함유할 수도 있는 것으로 이해되어야 한다.

[0259] 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 "그대로" 또는 약학적으로 허용가능한 다양한 염 형태로 사용될 수 있다. 본 명세서에서, "약학적으로 허용가능한 염"이라는 용어는 본 발명에서 동정된 올리고뉴클레오타이드의 목적하는 생물학적 활성을 유지하면서 바람직하지 않은 독성 효과는 최소 한도로 나타내는 염들을 가리킨다. 이러한 염들은 유기 아미노산, 아연, 칼슘, 비스무쓰, 바륨, 마그네슘, 알루미늄, 구리, 코발트, 니켈, 카드뮴, 나트륨, 칼륨 등과 같은 금속 양이온과 함께 형성된 염기 부가염, 또는 암모니아, N,N-디벤질에틸렌-디아민, D-글루코사민, 테트라에틸암모늄 또는 에틸렌디아민으로부터 형성된 양이온과 함께 형성될 수 있으며 이에 한정되지 않는다.

[0260] 본 발명의 한가지 실시 상태에서, 올리고뉴클레오타이드는 전구약물 형태일 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 실제로 음하전된 이온이다. 세포막은 친지 특성을 갖기 때문에 올리고뉴클레오타이드의 세포 흡수는 중성 또는 친지성 등가물에 비해 감소된다. 이 극성 "장해 (hindrance)"는 전구약물 접근법을 이용함으로써 회피할 수 있다. (예컨대, Crooke, R. M. (1998) 참조, Crooke, S. T. *Antisense research and Application*. Springer-Verlag, Berlin, Germany, vol. 131, pp. 103-140).

[0261] 약학적으로 허용가능한 결합제 및 아췌반트는 조제된 약물의 일부를 구성할 수 있다.

[0262] 본 발명에 설명된 치료제의 전달을 위한 전달 방법의 예 및 약학적 포물레이션, 염의 상제는 예컨대, 미국 가특허출원 60/838,710 및 60/788,995와 덴마크 출원 PA 2006 00615에 설명되어 있으며, 이들 문헌의 내용은 본 발명에 참고로 통합된다.

[0263] 본 발명의 의약 조성물은 용액, 에멀전 및 리포솜-함유 포물레이션일 수 있으며 이에 한정되지 않는다. 이러한 조성물은 미리 형성된 액체, 자가유화성 고체 및 자가유화성 반고체를 비롯한 여러가지 성분들로부터 제조될 수 있으나 이에 한정되지 않는다. 중앙 조직 내로의 약물 전달은 비제한적인 예로서 양이온성 리포솜, 사이클로덱스트린, 포스포핀 유도체, 분지쇄 덴드리머, 폴리에틸렌이민 폴리머, 나노입자 및 마이크로스피어를 비롯한 담체-매개형 전달에 의해 개선될 수 있다 (Dass CR. *J Pharm Pharmacol* 2002; 54(1):3-27). 단위 투여 제형으로서 제공될 수 있는 본 발명의 의약 포물레이션은 제약 산업 분야에서 잘 알려진 통상적인 기술을 이용하여 제조될 수 있다. 이러한 기술은 활성 성분들을 약학적 담체(들) 또는 부형제(들)과 한데 조합시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, 이러한 포물레이션은 활성 성분들과 액상 담체 또는 미분 고상 담체 또는 두가지 모두를 균일하고 치밀하게 잘 혼합한 다음, 필요에 따라, 이 생성물을 성형함으로써 제조한다. 본 발명의 조성물은 정제, 캡슐제, 젤 캡슐제, 액상 시럽, 연질 젤 및 좌약과 같은 가능한 투여 형태로 조제될 수 있으나 이들로 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 조성물은 또한 수성, 비수성 또는 혼합 매질 중 현탁액으로서 조제될 수도 있다. 수성 현탁액은 추가로 예컨대, 카르복시메틸셀룰로스 나트륨, 소르비톨 및/또는 텍스트란과 같이, 현탁액의 점도를 증가시키는 물질을 추가로 함유할 수 있다. 이러한 현탁액은 또한 안정화제를 추가로 함유할 수 있다. 본 발명의 화합물은 또한 예컨대 아스피린, 이부프로펜, 설과제, 항당뇨병제, 항균제 또는 항생제와 같은 활성 약물 물질에 컨주게이트될 수도 있다.

[0264] 또 다른 실시 상태에서, 본 발명의 조성물은 제1 마이크로RNA에 표적화된 1종 이상의 올리고뉴클레오타이드 화합물 및 제2 마이크로RNA 표적에 표적화된 1종 이상의 부가적인 올리고뉴클레오타이드 화합물을 함유할 수 있다. 2종 이상의 결합된 화합물들은 함께 사용되거나 또는 순차적으로 사용될 수 있다.

[0265] 본 발명에 개시된 화합물들은 전술한 바와 같은 몇가지 치료제 용도에 유용하다. 일반적으로, 본 발명의 치료 방법은 포유동물, 특히 인간에게 치료적 유효량의 올리고뉴클레오타이드를 투여하는 것을 포함한다. 특정 실시 상태에서, 본 발명은 (a) 본 발명의 화합물 1종 이상 및 (b) 화학요법제 1종 이상을 포함한다. 본 발명의 화합

물을 사용하는 경우, 이러한 화학요법제들은 개별적으로 또는 순차적으로 사용되거나 또는, 1종 이상의 이러한 다른 화학요법제와 함께 또는 병합적으로 사용될 수 있으며, 또는 방사능 요법과 병용될 수 있다. 본 발명이 속한 기술 분야의 당업자에게 알려진 모든 화학치료제는 본 발명의 화합물과 병용 치료시 통합적으로 사용될 수 있다. 비제한적인 예로서 비스테로이드계 항염 약물 및 코르티코스테로이드계 항염 약물을 포함하는 항염 약물, 항바이러스 약물 및 면역 조절 약물과 같은 기타 활성 물질 역시 본 발명의 조성물과 병용될 수 있다. 2종 이상의 병용 화합물들을 함께 또는 순차적으로 사용할 수 있다.

[0266] 본 발명의 의약 조성물에 의해 치료될 수 있는 치료 응용에는 다음과 같다:

마이크로 RNA	가능한 의학적 용도
miR-1	심부정맥
miR-21	교모세포종, 유방암, 간세포 암종, 직장결장암, 세포독성 약물에 대한 신경아교종의 민감화, 심장 비대증
miR-21, miR-200b 및 miR-141	화학요법에 대한 반응 및 담관암종 성장의 조절
miR-122	고콜레스테롤혈증, C 형 간염 감염, 혈색소침착증
miR-19b	임파종 및 기타 종양 유형
miR-26a	인간 줄기 세포의 조골세포 분화
miR-155	임파종, 위장 종양 발달, 유방암 및 폐암
miR-203	건선
miR-375	당뇨병, 대사성 질환, 췌장 내분비 세포로부터의 글루코스 유도형 인슐린 분비
miR-181	근육모세포 분화, 자가면역 질환
miR-10b	유방암 세포 침습 및 전이
miR-125b-1	유방암, 폐암, 난소암 및 자궁경부암
miR-221 및 222	전립선 암종, 인간의 갑상선 유두상암종, 인간의 간세포 암종
miRNA-372 및 -373	고환 생식 세포 종양.
miR-142	B-세포 백혈병
miR-17 - 19b 클러스터	B-세포 임파종, 폐암, 간세포 암종

[0267]

[0268] 종양 억제 유전자 트로포마이신 1 (TPM1) mRNA는 miR-21의 표적으로서 알려져 왔다. 미오토린 (mtpn) mRNA는 miR 375의 표적인 것으로서 알려져 왔다..

[0269] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 죽상동맥경화증, 고콜레스테롤혈증 및 고지혈증; 암; 교모세포종, 유방암, 임파종, 폐암; 당뇨병, 대사성 질환; 근육모세포 분화; 면역 질환으로 이루어진 군 중에서 선택된 질환을 치료하는데 사용되기 위한 본 발명의 올리고뉴클레오타이드에 관한 것이다.

[0270] 본 발명은 죽상동맥경화증, 고콜레스테롤혈증 및 고지혈증; 암; 교모세포종, 유방암, 임파종, 폐암; 당뇨병, 대사성 질환; 근육모세포 분화; 면역 질환으로 이루어진 군 중에서 선택된 질환 또는 증상을 앓는 대상자의 치료 방법을 제공하는데, 이 방법은 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 또는 의약 조성물을 이를 필요로 하는 대상자에게 투여하는 것을 포함하여 이루어진다.

[0271] 본 발명은 또한 본 발명에 따른 의약 조성물, 및 ApoB 억제제 또는 MTP 억제제와 같은 VLDL 어셈블리 경로의 억제제인 제2의 독립적인 활성 성분을 함유하는 키트를 제공한다.

[0272] **암**

[0273] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 암 치료용 약제의 제조를 위한, 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드의 용도에 관한 것이다. 또 다른 구체예에서, 본 발명은 암의 치료 또는 예방을 위한 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 또는 본 발명의 의약 조성물을, 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하여 이루어진다.

- [0274] 이러한 암은 림프세망 신생물, 림프아구성 백혈병, 뇌종양, 위종양, 형질세포종, 다발성 골수종, 백혈병, 연결 조직 종양, 임파종 및 고형 종양을 포함할 수 있다.
- [0275] 암 치료용 약제의 제조를 위한 본 발명의 화합물의 용도에 있어서, 상기 암은 적절하게는 고형 종양일 수 있다. 마찬가지로, 본 발명에 개시된 암 치료법에 있어서, 상기 암은 적절하게는 고형 종양일 수 있다.
- [0276] 또한, 상기 암은 암종인 것이 적합하다. 암종은 일반적으로 악성 흑색종, 기조 세포 암종, 남소 암종, 유방 암종, 비소세포 폐암, 신장 세포 암종, 방광 암종, 재발성 표재성 방관암, 위암종, 전립선 암종, 췌장 암종, 폐암종, 자궁경부 암종, 자궁목 형성이상증, 후두유두종증, 결장암종, 결장 직장 암종 및 카르시노이드 종양으로 이루어진 군 중에서 선택된다. 더욱 일반적으로, 상기 암종은 악성 흑색종, 비소세포 폐암, 유방암종, 결장 암종 및 신장 세포 암종으로 이루어진 군 중에서 선택된다. 악성 흑색종은 일반적으로 표재성 확산성 흑색종, 결절성 흑색종, 악성흑자 흑색종, 원위치 흑색종, 비멜라노성 흑색종 및 결합조직 형성 흑색종으로 이루어진 군 중에서 선택된다.
- [0277] 또는, 암은 육종인 것이 적합할 수 있다. 육종은 대개 골육종, 어빙 육종, 연골육종, 악성 섬유성 조직구종, 섬유육종 및 카포시 육종으로 이루어진 군 중에서 선택된다.
- [0278] 또는 암은 신경아교종인 것이 적합할 수 있다.
- [0279] 그 밖의 실시 상태는 본 발명의 올리고뉴클레오타이드의 암치료용 약제의 제조 용도에 관한 것으로, 여기서 상기 약제는 아드레노코르티코스테로이드, 예컨대, 프레드니손, 텍사메타손 또는 데카드론; 알트레타민 (헥살렌, 헥사메틸멜라민(HMM)); 아미포스틴 (에티올); 아미노글루테티미드 (시타드렌); 암사크린 (M-AMSA); 아나스트로졸 (아리미텍스); 안드로겐, 예컨대 테스토스테론; 아스파라기나제 (엘스파); 바실러스 칼메트-구린; 비칼루타미드 (카소텍스); 브레오마이신 (블레녹산); 부술판 (밀레란); 카르보플라틴 (파라플라틴); 카르부스틴 (BCNU, BiCNU); 클로람부실 (류케란); 클로로데옥시아데노신 (2-CDA, 클라드리빈, 류스타틴); 시스플라틴 (플라티놀); 시토신 아라비노사이드 (시타라빈); 데카르바진 (DTIC); 닥티노마이신 (악티노마이신-D, 코스메젠); 다우노루비신 (세루비딘); 도세탁셀 (탁소테레); 독소루비신(아드리오마이신); 에피루비신; 에스트라무스틴 (엠시트); 에스트로겐, 예컨대 디에틸stil베스트롤 (DES); 에토포시드 (VP-16, 베프시드, 에토포스); 플루다라빈 (플루다라); 플루타미드 (올렉신); 5-FUDR (플록스우리딘); 5-플루오로우라실 (5-FU); 겐시타빈 (겐자르); 고세렐린 (조달텍스); 헤르셉틴 (트라스투주맵); 히드록시우레아 (히드레아); 이다루비신 (이다마이신); 이포스파미드; IL-2 (프로류킨, 알데스류킨); 인터페론 알파 (인트론 A, 로페론 A); 이리노테칸 (캄토사르); 류프롤리드 (류프론); 레바미솔 (에르가미솔); 로무스틴 (CCNU); 메클로라타민 (무스타르겐, 질소 머스타드); 멜팔란 (알케란); 머캅토프린 (푸리네톨, 6-MP); 메토티렉세이트 (백세이트); 미토마이신-C (뮤타뮤신); 미토잔트론 (노반트론); 옥트레오타이드 (산도스타틴); 펜토스타틴 (2-데옥시코포르마이신, 니펜트); 플리카마이신 (미트라마이신, 키트라신); 프로카르바진 (마톨란); 스트렙토조신; 타목시펜 (놀바텍스); 탁솔 (파클리탁셀); 테니포시드 (부몬, VM-26); 티오테파; 토포테칸 (히캅틴); 트레티노인 (베사노이드, 올-트랜스 레틴산); 빈블라스틴 (발반); 빈크리스틴 (온코빈) 및 비노렐빈 (나벨빈)으로 이루어진 군 중에서 선택된 화학치료제를 추가로 포함한다. 적당하게는 또 다른 화학치료제는 탁솔, 파클리탁셀 또는 도세탁셀과 같은 탁산 중에서 선택된다.
- [0280] 마찬가지로, 본 발명은 암치료용 약제의 제조를 위한 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드의 용도에도 관한 것인데, 여기서 상기 치료는 아드레노코르티코스테로이드, 예컨대, 프레드니손, 텍사메타손 또는 데카드론; 알트레타민 (헥살렌, 헥사메틸멜라민(HMM)); 아미포스틴 (에티올); 아미노글루테티미드 (시타드렌); 암사크린 (M-AMSA); 아나스트로졸 (아리미텍스); 안드로겐, 예컨대 테스토스테론; 아스파라기나제 (엘스파); 바실러스 칼메트-구린; 비칼루타미드 (카소텍스); 브레오마이신 (블레녹산); 부술판 (밀레란); 카르보플라틴 (파라플라틴); 카르부스틴 (BCNU, BiCNU); 클로람부실 (류케란); 클로로데옥시아데노신 (2-CDA, 클라드리빈, 류스타틴); 시스플라틴 (플라티놀); 시토신 아라비노사이드 (시타라빈); 데카르바진 (DTIC); 닥티노마이신 (악티노마이신-D, 코스메젠); 다우노루비신 (세루비딘); 도세탁셀 (탁소테레); 독소루비신(아드리오마이신); 에피루비신; 에스트라무스틴 (엠시트); 에스트로겐, 예컨대 디에틸stil베스트롤 (DES); 에토포시드 (VP-16, 베프시드, 에토포스); 플루다라빈 (플루다라); 플루타미드 (올렉신); 5-FUDR (플록스우리딘); 5-플루오로우라실 (5-FU); 겐시타빈 (겐자르); 고세렐린 (조달텍스); 헤르셉틴 (트라스투주맵); 히드록시우레아 (히드레아); 이다루비신 (이다마이신); 이포스파미드; IL-2 (프로류킨, 알데스류킨); 인터페론 알파 (인트론 A, 로페론 A); 이리노테칸 (캄토사르); 류프롤리드 (류프론); 레바미솔 (에르가미솔); 로무스틴 (CCNU); 메클로라타민 (무스타르겐, 질소 머스타드); 멜팔란 (알케란); 머캅토프린 (푸리네톨, 6-MP); 메토티렉세이트 (백세이트); 미토마이신-C (뮤타뮤신); 미토잔트론 (노반트론); 옥트레오타이드 (산도스타틴); 펜토스타틴 (2-데옥시코포르마이신, 니펜트); 플리카마이신 (미

트라마이신, 키트라신); 프로카르바진 (마톨란); 스트렙토조신; 타목시펜 (놀바텍스); 탁솔 (파클리탁셀); 테니포시드 (부몬, VM-26); 티오테과; 토포테칸 (히캄틴); 트레티노인 (베사노이드, 올-트랜스 레틴산); 빈블라스틴 (발반); 빈크리스틴 (온코빈) 및 비노렐빈 (나벨빈)으로 이루어진 군 중에서 선택된 화학치료제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 적절하게는, 상기 치료는 추가로 탁솔, 파클리탁셀 또는 도세탁셀과 같은 탁산 중에서 선택된 화학치료제를 추가로 투여하는 것을 포함하는 것이다.

[0281] 달리 언급하면, 본 발명은 또한 암의 치료 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드나 본 발명에 따른 의약 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것과 추가로 또 다른 화학치료제를 투여하는 것을 포함하여 이루어진다. 상기 추가 투여는 또 다른 화학치료제를 본 발명의 화합물과 컨쥬게이트시켜서 상기 의약 조성물에 포함시켜 투여하거나 또는 별도 포물레이션으로서 투여하는 것일 수 있다.

[0282] **감염성 질환**

[0283] 본 발명의 화합물은 디프테리아, 파상풍, 백일해, 소아마비, B형 간염, C형 간염, 헤르필루스 인플레운자, 홍역, 볼거리, 풍진과 같은 광범위한 감염성 질환에 광범위하게 적용할 수 있는 것으로 생각된다.

[0284] Hsa-miR122는 C형 간염에서 나타나므로 miR-122를 표적화하는 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 C형 간염의 감염을 치료하는데 이용될 수 있을 것이다.

[0285] 따라서, 또 다른 측면에서 본 발명은, 감염성 질환의 치료용 약제를 제조하는데 있어서의 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드의 용도 뿐만 아니라 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드 또는 본 발명에 따른 의약 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 감염성 질환을 치료하는 방법도 제공한다.

[0286] 바람직한 실시 상태에 있어서, 본 발명은 apoB 또는 MTP의 억제제와 같은, VLDL 어셈블리의 억제제와 조합하여, 항miR-122 올리고머를 제공하는 복합 치료법을 제공한다.

[0287] **염증성 질환**

[0288] 염증성 반응은 감염성 물질의 공격에 대한 생체의 기본적인 방호 메카니즘으로서, 자가 면역 질환을 비롯한, 많은 급성 및 만성 질환의 발병기전에 관여하는 것이기도 하다. 병원체와 싸울 필요가 있음에도 불구하고, 염증성 과열의 효과는 대단히 파괴적이다. 따라서 항염제를 이용함으로써, 염증의 증상을 제한할 필요가 종종 있다. 염증은 다수의 관련 효소들의 활성화, 혈관 침투성의 증가 및 혈액의 관외, 세포 이동 및 화학적 매개체의 방출을 비롯한 조직 손상에 의해 일반적으로 촉발되는 복합적인 프로세스로서, 손상된 조직의 파괴와 복구를 목표로 한다.

[0289] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 염증성 질환의 치료용 약제를 제조하는데 있어서의 본 발명의 올리고뉴클레오타이드의 용도 뿐만 아니라, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 또는 본 발명의 의약 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 염증성 질환의 치료 방법에 관한 것이기도 하다.

[0290] 본 발명의 바람직한 한가지 실시 상태에서, 염증성 질환은 류마티스성 질환 및/또는 연결 조직 질환, 예컨대 류마티스성 관절염, 전신성 홍반성 루푸스 (SLE) 또는 루푸스, 공피증, 다발성 근염, 염증성 장 질환, 피부근염, 궤양성 대장염, 크론씨병, 혈관염, 건선성 관절염, 박리성 건선 피부염, 보통천포창 및 쇠르그렌 증후군, 특히 염증성 장질환 및 크론씨병인 것이 좋다.

[0291] 또는 염증성 질환은 유행낭염, 유행막염, 피막염, 건염 및/또는 외상성 및/또는 스포츠 기원의 기타 염증성 병변과 같은, 비류마티스성 염증 일 수도 있다.

[0292] **대사성 질환**

[0293] 대사성 질환은 신체에서 자연적으로 생산되는 화학물질의 축적에 기인하는 질환이다. 이러한 질환은 대개 심각하며, 심지어는 생명을 위협하기도 한다. 기타는 서서히 신체적으로 발병하거나 정신 지체를 일으킬 수도 있다. 이 질환에 걸린 대부분의 영유아는 처음에는 이렇다할 증상을 나타내지 않는다. 태어날 때 적절한 스크리닝함으로써 이러한 문제를 종종 발견할 수 있다. 조기 진단 및 치료에 의해, 대사성 질환은 효과적으로 관리될 수 있다.

[0294] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 대사성 질환의 치료용 약제를 제조하는데 있어서의 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 컨쥬게이트의 용도 뿐만 아니라, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 컨쥬게이트 또는 본 발명의 의약 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 대사성 질환의 치료 방법에도 관한 것이다.

[0295] 본 발명의 한가지 바람직한 실시 상태에서, 대사성 질환은 아밀로이드증, 비오틴다제, OMIM(인간에 있어서 온 라인 멘델 유전), 크리글러 나자르 증후군, 당뇨병, 패브리 서포트 μ 인포메이션 그룹, 지방산 산화 증상, 갈 락토스혈증, 글루코스-6-포스페이트 데히드로게나제 (G6PD) 결핍증, 글루타르산노증, 글루타르산혈증의 국제기 구, II형 글루타르산혈증, I형 글루타르산혈증, II형 글루타르산혈증, F-HYPDRR-가족성 저인산염혈증, 비타민 D 내성 구루병, 만노시도시스군, 단풍나무 시럽노 질환, 미토콘드리아성 질환, 뮤코다당류혈증 증후군: 니만 픽, 유기산혈증, PKU, 폼페병, 포르피린증, 대사성 증후군, 고지질혈증 및 유전성 지질 질환, 트리메틸아미뉴리아: 생선 구취 증후군, 및 요소 순환성 질환으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0296] **간 질환**

[0297] 또 다른 측면에서, 본 발명은 간 질환 치료용 약제를 제조하는데 있어서의 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 또 는 그의 컨주게이트의 용도 뿐만 아니라, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 또는 그의 컨주게이트 또는 본 발명 의 의약 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 간 질환 치료 방법이 제공된 다.

[0298] 본 발명의 한가지 바람직한 실시 상태에서, 간 질환은 담도폐쇄증, 알라길 증후군, 알파-1 안티트립신, 티로신 혈증, 신생아간염, 및 윌슨병으로 이루어진 군 중에서 선택된다.

[0299] **기타 용도**

[0300] 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 진단, 치료 및 예방을 위한 연구용 시약으로서 사용될 수 있다. 연구에 있어 서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 세포 및 실험용 동물에서 표적 유전자의 합성을 특이적으로 억제하는데 이용할 수 있기 때문에 표적의 기능 분석이나, 치료적 개제를 위한 표적으로서의 그의 유용성의 평가를 용이하 게 해준다. 진단학에 있어서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드는 노던 블라팅, 인시투 하이브리다이제이션 또는 이와 유사한 기술에 의해 세포와 조직에서의 표적의 발현을 검출 및 정량화하는데 이용될 수 있다. 치료에 있어 서는, 표적 발현을 조절함으로써 치료될 수 있는 어떤 질환이나 장애를 앓는 것으로 의심되는 동물이나 인간에 게 본 발명에 따른 올리고뉴클레오타이드 화합물 투여에 의해, 상기 질병이나 장애를 치료할 수 있다. 또한, 표 적 발현과 연관이 있는 질환이나 장애를 앓고 있거나 앓기 쉬운 것으로 의심되는 동물 특히 마우스와 래트 및 인간에게, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 화합물 1종 이상 또는 본 발명의 조성물의 치료학적 또는 예방학적 유효량을 투여함으로써 상기 질환을 치료하는 방법도 제공된다.

[0301] **miR-122a를 표적화하는 올리고뉴클레오타이드의 치료학적 용도**

[0302] 본 발명자들은 miR-122a를 표적화하는 LNA-항miR이 혈장의 콜레스테롤 수준을 저하시킴을 입증하였다. 따라서, 본 발명의 또 다른 구체에는 miR-122a를 표적화하는 전술한 올리고뉴클레오타이드의 의약으로서의 용도에 관한 다.

[0303] 본 발명의 또 다른 구체에는 혈장 콜레스테롤 수준의 증가 (또는 고콜레스테롤혈증 및 관련 질환)를 치료하기위 한 의약을 제조하는데 있어서의 miR-122a를 표적화하는 전술한 올리고뉴클레오타이드의 용도에 관한 것이다. 당 업자라면 혈장 콜레스테롤의 증가는 예컨대 죽상동맥경화증과 같은 여러가지 증상을 일으킬 위험이 크기 때문에 바람직하지 못하다는 것을 인지하고 있을 것이다.

[0304] 본 발명의 또 다른 구체에는 Nrdg3, Aldo A, Bckdk 또는 CD320의 mRNA 수준을 상향조절하기 위한 miR-122a를 표적화하는 전술한 올리고뉴클레오타이드의 용도에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0305] **도 1.** 완전히 LNA-변형 및 포스포로티올화된 LNA-항miR를 이용하여 표적화 부위를 나타낸 miR-21, miR-155 및 miR-122 8-mer LNA 항miR를 도시한 도면이다.

도 2. 루시페라제 센서 분석을 이용한 MCF-7 세포에 있어서의 SEQ ID # 3205 및 SEQ ID #3204 LNA-항miR에 의 한 miR-21 길항성을 분석한 도면. miR-21에 대해 완벽하게 맷치되는 표적 부위 또는 미스맷치 표적 부위 (.mm2) 및 LNA-항miR를 여러 가지 농도로 함유하는 루시페라제 센서 플라스미드로 MCF-7 세포를 공형질감염 (co-transfection)시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 3가지 서로 다른 별개 실험에 있어서 레닐라/파이어플라이 비율의 평균값을 도시하였으며 (막대=s.e.m.), 이들 값들은 모두 0 nM psiCHECK2 (=대조군)에 대해 정규화킨 값이다.

도 3. 루시페라제 센서 분석을 이용한 HeLa 세포에 있어서의 SEQ ID # 3205 및 SEQ ID #3204 LNA-항miR에 의한

miR-21 길항성을 분석한 도면. miR-21에 대해 완벽하게 맷치되는 표적 부위 (mir-21) 또는 미스맷치 표적 부위 (mm2) 및 LNA-항miR를 여러 가지 농도로 함유하는 루시페라제 센서 플라스미드로 HeLa 세포를 공형질감염 시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 3가지 서로 다른 별개 실험에 있어서 레닐라/파이어플라이 비율의 평균값을 도시하였으며 (막대=s.e.m.), 이들 값들은 모두 0 nM psiCHECK2 (=대조군)에 대해 정규화시킨 값이다.

도 4. 루시페라제 센서 분석을 이용한 LPS-처리된 마우스 RAW 세포에 있어서의 SEQ ID # 3206 및 SEQ ID #3207 LNA-항miR에 의한 miR-155 길항성을 분석한 도면. miR-21에 대해 완벽하게 맷치되는 표적 부위 또는 RAW 세포들을 여러 가지 농도의 miR-155 및 다른 LNA-항miR로 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 레닐라/파이어플라이 비율의 평균값을 도시하였으며, 이들 값들은 모두 0 nM psi CHECK2 (=대조군)에 대해 정규화시킨 값이다.

도 5. 루시페라제 센서 분석을 이용한 HuH-7 세포에 있어서의 SEQ ID # 3208 및 SEQ ID #4 LNA-항miR에 의한 miR-122 길항성을 분석한 도면. 완벽히 맷치되는 miR-122 표적 부위와 상이한 LNA-항miR를 여러 가지 농도로 함유하는 miR-122 루시페라제 센서로 HuH-7 세포를 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포를 수확하고, 루시페라제 활성을 측정하였다. 3가지 서로 다른 별개 실험에 있어서 레닐라/파이어플라이 비율의 평균값을 도시하였으며 (막대=s.e.m.), 이들 값들은 모두 0 nM psi CHECK2 (=대조군)에 대해 정규화시킨 값이다.

도 6. miR-21 루시페라제 리포터 구축물의 개략도.

도 7. 루시페라제 리포터 분석을 이용한 PC3 세포에 있어서의 8-mer LNA-항miR (SEQ ID # 3205) 대 15-mer LNA-항miR (SEQ ID #3204)에 의한 miR-21 길항성을 분석한 도면. miR-21에 대해 완벽히 맷치되는 표적 부위 또는 미스맷치 표적 부위 및 LNA-항miR를 여러 가지 농도로 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드로 PC3 세포를 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포를 수확하고, 루시페라제 활성을 측정하였다. 3가지 서로 다른 독립적인 실험에 있어서 레닐라/파이어플라이 비율의 평균값을 도시하였으며 (막대=s.e.m.), 이들 값들을 모두 표적 부위가 없는 0 nM 공백터 (empty vector) (=대조군)에 대해 정규화시켰다. 또한 miR-21 서열 및 LNA- 항miR의 디자인과 위치도 도식적으로 나타내었다. LNA 뉴클레오타이드는 타원형으로, DNA 잔기는 막대로 표시하였다.

도 8. 루시페라제 리포터 분석을 이용한 HeLa 세포에 있어서의 8-mer LNA-항miR에 의한 miR-21 길항성의 특이성 분석 도면. miR-21에 대해 완벽히 맷치되는 표적 부위 또는 미스맷치된 표적 부위 및 LNA-항miR (SEQ ID # 3205)를 여러 가지 농도로 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드로 HeLa 세포를 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하고 루시페라제 활성을 측정하였다. 3가지 서로 다른 독립적인 실험에 대하여 평균값을 도시하고 (막대=s.e.m.) 레닐라/파이어플라이 비율을 표적 부위가 없는 0 nM 공백터 (=대조군)에 대해 정규화시켰다. miR-21 서열과 LNA-항miR의 디자인 및 위치도 도식적으로 도시하였다. 미스맷치는 색칠한 타원형으로 나타내었다.

도 9. miR-21의 유효한 길항성을 매개하는 완전히 LNA-변형된 LNA-항miR의 가능한 최단 길이를 분석한 도면. miR-21에 대한 완벽한 맷치 표적 부위 또는 미스맷치 표적 부위 및 LNA-항miR를 여러가지 농도로 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드로 HeLa 세포를 공형질감염시켰다 (SEQ ID # 3209=6 mer 및 SEQ ID # 3207=7-mer). 24시간 후, 세포를 수확하고, 루시페라제 활성을 측정하였다. 3가지 서로 다른 독립적인 실험에 있어서 레닐라/파이어플라이 비율의 평균값을 도시하였으며 (막대=s.e.m.), 이들 값들을 모두 표적 부위가 없는 0 nM 공백터 (empty vector) (=대조군)에 대해 정규화시켰다. 또한 miR-21 서열 및 LNA- 항miR의 디자인과 위치도 도식적으로 나타내었다.

도 10. miR-21을 길항시키는 완전히 LNA-치환된 LNA-항miR의 길이 분석. miR-21에 대한 완벽한 맷치 표적 부위 또는 미스맷치 표적 부위 및 LNA-항miR를 여러가지 농도로 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드로 HeLa 세포를 공형질감염시켰다 (SEQ ID # 3211=9-mer, SEQ ID # 3212=10-mer, SEQ ID #3213=12-mer 및 SEQ ID # 3214=14-mer). 24시간 후, 세포를 수확하고, 루시페라제 활성을 측정하였다. 3가지 서로 다른 독립적인 실험의 평균값 (막대=s.e.m.)을 도시하였으며, 여기서 레닐라/파이어플라이 비율을 표적 부위가 없는 0 nM 공백터 (=대조군)에 대해 정규화시켰다. 또한 miR-21 서열 및 LNA-항miR의 디자인과 위치도 도식적으로 나타내었다.

도 11. miR 표적 인식 서열 중 8-mer LNA-항miR에 대한 최적 위치 결정. miR-21에 대한 완벽한 맷치 또는 미스맷치 표적 부위 및 LNA-항miR를 여러가지 농도로 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드로 HeLa 세포를 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포를 수확하고 루시페라제 활성을 측정하였다. 3가지 서로 다른 독립적인 실험의 평균값 (막대=s.e.m.)을 도시하였으며 여기서 레닐라/파이어플라이 비율을 표적 부위가 없는 0 nM 공백터 (=대조

군)에 대해 정규화시켰다. 또한 miR-21 서열 및 LNA-항miR의 디자인과 위치도 도식적으로 나타내었다.

도 12. 8-mer SEQ ID #3205 LNA-항miR에 의한 Pcd4-3'-UTR 및 miR-21의 상호반응 검증. HeLa 세포를 Pcd4 유전자의 3'UTR 부분과 LNA-항miR를 여러가지 농도로 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드 (SEQ ID #3205=8 mer, 완전한 맷치; SEQ ID #3218=8 mer, 미스맷치; SEQ ID #3204=15 mer, LNA/DNA 믹스; SEQ ID #3220=15 mer, gapmer)로 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하고 루시페라제 활성을 측정하였다. 레닐라/파이어플라이 비율을 0 nM에 대해 정규화시킨 결과를 나타내었다. 또한 miR-21 서열과 LNA-항miR의 디자인 및 위치도 도시하였다.

도 13. 마우스의 RAW 세포에서 miR-155를 길항시키는데 있어서의 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3207)와 15-mer LNA-항miR (SEQ ID #3206)의 비교 도면. 마우스 RAW 세포를 miR-155에 대한 완전 맷치 및 상이한 LNA-항miR를 여러 농도로 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드들로 공형질감염시켰다. 24 시간 후, 세포들을 수확하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 3번의 독립적 실험으로부터 얻은 평균값 (막대 = s.e.m)을 나타냈으며, 여기서 miR-155 표적 부위가 없는 0 nM 공백터 (=대조군)에 대하여 레닐라/파이어플라이 비율을 정규화시켰다. 또한, miR-155 서열을 도식적으로 표현하고 LNA-항miRs의 디자인과 위치도 도시하였다.

도 14. c/EBP의 평가 miR-155 마우스 RAW 세포를 길항하는데 있어서, c/EBP LNA-항miR (SEQ ID #3207)과 15-mer LNA-항miR (SEQ ID #3206)의 평가. 마우스 RAW 세포를 miR-155에 대한 완전 맷치를 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드로 공형질전환시키고, 20 시간, 세포들을 수확하여 RAW 세포로부터의 단백질 추출물에 대한 웨스턴 블랏 분석을 실시하였다. c/EBP β 의 여러가지 이소형태가 나타났으며, c/EBP β LIP 및 베타-튜블린에 대하여 산출된 비율을 아래에 나타내었다.

도 15. 완전히 LNA-변형된 8-mer (SEQ ID #3221) LNA-항miR 또는 15-mer 믹스머 (SEQ ID #3228) 항miR에 의한 miR-106b의 길항. HeLa 세포를 miR-106b에 대한 완전 맷치와 상이한 LNA-항miR들을 여러가지 농도로 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드로 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포를 수확하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 4가지 복제물에 대한 평균값 (막대 = s.e.m)을 나타냈으며, 여기서 miRNA 표적 부위가 없는 0 nM 공백터 (=대조군)에 대하여 레닐라/파이어플라이 비율을 정규화시켰다. 또한, miR-106b 서열을 도식적으로 표현하고 LNA-항miRs의 디자인과 위치도 도시하였다.

Figure 16. 완전히 LNA-변형된 8-mer (SEQ ID #3222) LNA-항miR 및 15-mer (SEQ ID #3229) 믹스머 항miR에 의한 miR-19b의 길항. HeLa 세포들을 miR-19a에 대한 완전 맷치 및 두가지 LNA-항miRs를 서로 다른 농도로 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드로 공형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 활성 측정을 위해 세포들을 수확하였다. 4가지 복제물에 대한 평균값 (막대 = s.e.m)을 나타냈으며, 여기서 miR-19a 표적 부위가 없는 0 nM 공백터 (=대조군)에 대하여 레닐라/파이어플라이 비율을 정규화시켰다. 또한, miR-19a 서열을 도식적으로 표현하고 LNA-항miRs의 디자인과 위치도 도시하였다.

도 17. 성숙한 인간의 miR-221 및 miR-222 서열을 도식적으로 나타낸 도면. 두가지 모두의 miRNA 서열에서 보존된 씨드 서열 (7-mer)을 네모 박스 안에 나타내었다.

도 18. 완전히 LNA-치환된 짧은 LNA-항miR을 이용한 마이크로RNA 패밀리의 표적화. PC3 세포들을 miR-221과 miR-222에 대한 루시페라제 리포터 플라스미드를 이용하여 개별적으로 또는 함께, 그리고, 농도를 달리하는 여러가지 LNA-항miR들을 이용하여 공형질감염시켰다. LNA-항miRs (15-mers) SEQ ID #3223 (miR-221에 대한 것) 및 SEQ ID #3224 (miR-222에 대한 것)으로 공형질감염시키는 경우, 총 농도는 2 nM (각각 1 nM)였으며, 세포를 SEQ ID #3225 (7-mer)로 형질감염시킨 경우의 농도는 0, 1, 5, 10 또는 25 nM였다. 24시간 후, 세포들을 수확하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 3번의 독립적 실험으로부터 얻은 평균값 (막대 = s.e.m)을 나타냈으며, 여기서 miRNA 표적 부위가 없는 0 nM 공백터 (=대조군)에 대하여 레닐라/파이어플라이 비율을 정규화시켰다. 또한, miR-221/222 서열을 도식적으로 표현하고 LNA-항miRs의 디자인과 위치도 도시하였다.

도 19. 7-mer SEQ ID #3225 LNA-항miR에 의한 miR-221/222 패밀리의 γ 길항성에 대한 기능적 판독값으로서의 p27 단백질 수준의 평가. PC3 세포들을 miR-221와 miR-222 두가지 모두를 표적으로 하는 7-mer LNA-항miR SEQ ID #3225를 이용하여 여러가지 농도로 형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하고 웨스턴 블랏으로 단백질 수준을 측정하였다. p27/튜블린 비율을 나타내었다.

도 20. HepG2 세포에 있어서, 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3205) 대 15-mer LNA-항miR (SEQ ID #3204) 및 2개의 미스맷치를 갖는 8-mer (SEQ ID #3218)에 의한 miR-21 길항성의 루시페라제 리포터 분석을 이용한 평가.

HepG2 세포들을 miR-21에 대한 완전 맷치 표적 부위 및 LNA-항miR들을 여러가지 농도로 함유하는 루시페라제 리

포터 플라스미드로 공형질감염시켰다. 24 시간 후, 세포들을 수확하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 3번의 독립적 실험으로부터 얻은 평균값 (막대 = s.e.m)을 나타냈으며, 여기서 표적 부위가 없는 0 nM 공벡터 (=대조군)에 대하여 레닐라/파이어플라이 비율을 정규화시켰다. 또한, miR-21 서열을 도식적으로 표현하고 LNA-항miRs의 디자인과 위치도 도시하였다.

도 21. 8-mer SEQ ID #3205 LNA-항miR 대 15-mer (SEQ ID #3204) 및 2개의 미스매치를 갖는 8-mer (SEQ ID #3218)에 의한 Pdc4 3'UTR 및 miR-21의 상호반응 검정.

Huh-7 세포들을 Pdc4 유전자의 3'UTR 부분, pre-miR-21 (10 nM) 및 LNA-항miR들을 여러가지 농도로 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드로 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포를 수확하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 3번의 독립적 실험으로부터 얻은 평균값 (막대 = s.e.m)을 나타냈으며, 여기서 표적 부위가 없는 0 nM 공벡터 (=대조군)에 대하여 레닐라/파이어플라이 비율을 정규화시켰다. 또한, miR-21 서열을 도식적으로 표현하고 LNA-항miRs의 디자인과 위치도 도시하였다.

도 22. SEQ ID #3205에 의한 miR-21의 길항성은 Pdc4 단백질 수준을 증가시킨다.

HeLa 세포들을 5 nM LNA-항miR SEQ ID #3205 (완전 매치), 또는 SEQ ID #3219 LNA 스크램블형 (8mer) 또는 SEQ ID #3218 (8-mer 미스매치)로 형질감염시켰다. 세포들을 24시간 후에 수확하고 Pdc4 항체를 이용하여 웨스턴 블랏을 실시하였다.

도 23. SEQ ID #3205 (완전 매치) 또는 SEQ ID #3218 (미스매치 대조군)으로 처리된 마우스에 있어서 ALT 및 AST 수준. 하루 걸러 25 mg/kg을 투여한 후 마우스들을 14일 후에 희생시켰다.

도 24. 짧은 LNA-항miR (SEQ ID #3207)에 의한 miR-155 길항성에 대한 기능적 관독값으로서의 PU.1 단백질 수준의 평가.

THP-1 세포들을 pre-miR-155 (5 nmol) 및 여러가지 LNA 올리고뉴클레오타이드 (5 nM)로 공형질감염시키고 100 ng/ml LPS를 첨가하였다. 24시간 후, 세포들을 수확하고 THP-1 세포로부터의 단백질 추출물에 대한 웨스턴 블랏 분석을 실시하였다. PU.1 및 튜블린을 표시하였다.

도 25. 7-mer SEQ ID #3225 LNA-항miR에 의한 miR-221/222 패밀리의 길항성에 대한 기능적 관독값으로서의 p27 단백질 수준의 평가.

PC3 세포들을, miR-221와 miR-222를 모두 표적화하는 7-mer LNA-항miR SEQ ID #3225 및 LNA 스크램블형 대조군으로 5 및 25 nM의 농도로 형질감염시켰다. 24시간 후, 세포를 수확하여 웨스턴 블랏법으로 단백질 수준을 측정하였다. p27/튜블린 비율을 나타내었다.

도 26. 7-mer SEQ ID #3225 (완전 매치)에 의한 miR-221/222의 녹-다운은 PC3 세포의 연결 한천 상에서의 콜로니 형성을 저감시킨다.

PC3 세포들을, miR-221와 miR-222 두가지 모두를 표적화하는 25 nM의 7-mer LNA-항miR SEQ ID #3225 또는 7-mer 스크램블형 대조군 (SEQ ID #3231)으로 형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하고 연결 한천 상에서 접종하였다. 12일 후, 콜로니들을 계수하였다. 하나의 실험을 삼중으로 실시하였다.

도 27. 인간의 let-7 패밀리 및 테스트된 안타고니스트에 대한 개요.

(상부 도면) 이 서열들은 각각의 멤버에 대한 성숙한 miRNA를 도시하며, 박스는 LNA-항miRs에 의해 전형적으로 길항되는 위치인 뉴클레오타이드 2-16을 나타낸다. 그 오른쪽의 컬럼들은 각각 씨드 (S: 위치 2-8), 확장된 씨드(ES: 위치 2-9), 및 LNA-항miRs에 의해 일반적으로 표적화되는 나머지 서열 (NE; 위치 9-16)에 있어서, let-7a와 비교할 때 상이한 뉴클레오타이드의 갯수를 나타낸다. 색깔이 칠해진 뉴클레오타이드들은 let-7a에 비하여 변형된 부분이다. (하부 도면) 디자인, 길이 및 완전히 상보적인 표적을 비롯하여, let-7 패밀리에 대한 테스트된 안타고니스트에 대한 요약 내용. 모든 화합물들은 완전히 포스포로티올화된 것이다.

도 28. Huh-7 세포에 있어서 6종의 서로 다른 LNA-항miR에 의한 let-7 길항성의 루시페라제 센서 분석을 이용한 평가.

Huh-7 세포들을 let-7a 전구체 존재 또는 부재 하 (각각 회색 및 흑색 막대)에 부분적인 HMGA2 3'UTR (4개의 let-7 결합 부위) 및 6종의 서로 다른 LNA-항miRs를 농도를 증가시키면서 함유하는 루시페라제 센서 플라스미드로 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 두번의 측정에서 얻은 레

닐라/파이어플라이 비율의 평균값과 각각의 분석에 있어서의 표준 교차편차를 나타냈다. let-7a 전구체를 함유하지 않는 웰 (흑색 막대)의 평균값에 대하여 각각의 LNA-항miR 군에서 모든 비율을 정규화시켰다.

도 29. let-7a (A), let-7d (B), let-7e (C), 및 let-7i (D)에 대한 pre-miRs 및 HMG2 3'UTR 센서 플라스미드, LNA-항miRs SEQ ID #3226 (왼쪽) 및 SEQ ID #3227 (오른쪽)에 의해 형질감염된 Huh-7 세포로부터의 루시페라제 결과. 회색 막대는 pre-mis 투입 후의 표적 탈억제를 나타내는 반면, 흑색 대조군 막대는 pre-miR 첨가 없는 경우 동등한 수준을 나타낸다. 각각의 비율은 4회 측정에 기초하며 각각의 처리군 중 전구체를 함유하지 않는 웰 (흑색 막대)의 평균값에 대하여 정규화시켰다.

도 30. 여러가지 농도의 LNA-항miR SEQ ID #3227 및 HMG2 3'UTR 센서 플라스미드 또는 대조군 벡터에 의해 형질감염된 HeLa 세포. 각각의 비율은 4회 측정에 기초하며, 미처리 (0 nM) 대조군 공벡터 (psi-CHECK-2; 회색 막대)에 대하여 정규화시켰다.

도 31. 루시페라제 센서 분석을 이용한 HCT116 세포에 있어서 8mer (#3205)에 의한 mir-21 길항성의 평가. HCT116 세포들을, miR-21에 대한 완전 매치 표적 부위 (회색 막대) 및 LNA-항miR 및 대조군 올리고뉴클레오타이드를 함유하는 루시페라제 센서 플라스미드로 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하고 루시페라제 활성을 측정하였다. 하나의 전형적인 예를 2회 실시하였으며, 여기서 레닐라/파이어플라이 비율을 0 nM 공벡터(=회색 막대)에 대하여 정규화시켰다.

도 32. 8-mer #3205 LNA-항miR에 의한 miR-21의 사일런싱은 PC3 세포에 있어서, 연결 한천 상의 콜로니 형성을 감소시킨다. PC3 세포들을 miR-21을 표적화하는 25 nM의 8-mer LNA-항miR #3205로 형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하고 연결 한천에 접종하였다. 12일 후, 콜로니들을 계수하였다. 3번의 별도 실험들의 평균값을 나타내었으며, 각 실험은 3번 실시하였고, 0 nM 대조군 (즉 LNA 없이 형질감염된 군)에 대하여 정규화시켰다. #3205에 대한 p=0.01898.

도 33. 8-mer #3205 LNA-항miR에 의한 miR-21의 녹-다운은 HepG2 세포에 있어서 연결 한천 상의 콜로니 형성을 감소시킨다. HepG2 세포들을 miR-21을 표적화하는 25 nM의 8-mer LNA-항miR #3205로 형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하여 연결 한천에 접종하였다. 17일 후, 콜로니 수를 세었다. 한가지 실험을 3회 반복한 평균값을 나타내었다 (막대=SEM).

도 34. Wound closure in the invasive human prostate 세포주 PC3 after treatment with #3205로 처리한 후 침습성 인간 전립선 세포주 PC3에 있어서의 상처 아픔. (A) PC3 세포들을 제3일에 LNA-항miR 및 25 nM의 대조군 올리고뉴클레오타이드, #3205 (8mer, 완전 매치) 및 #3219 (8mer, 미스매치)로 형질감염시키고 그 다음 날 스크래치를 만들었다. 세포 이동을 모니터링하기 위해 24시간 후에 사진을 찍었다. (B) 각 시점에서의 면적을 소프트웨어 프로그램 Image J를 이용하여 측정하고 각각의 0 h 시점에 대하여 정규화시켰다.

도 35. miR-155을 길항하는 완전히 LNA-치환된 LNA-항miR의 길이 평가.

RAW 세포들을 miR-155에 대한 완전 매치 표적 부위를 함유하는 루시페라제 리포터 플라스미드 및 LNA-항miR 올리고뉴클레오타이드를 함유하는 플라스미드로 여러 농도로 공형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하여 루시페라제 활성을 측정하였다. 3가지 독립적인 실험에 대한 평균값 (막대=s.e.m)을 나타내었으며, 여기서 레닐라/파이어플라이 비율을 표적 부위를 갖지 않는 0 nM 공벡터 (=모방체)에 대하여 정규화시켰다. 또한, miR 서열을 도식적으로 나타내고 LNA-항miRs의 디자인과 위치도 나타내었다.

도 36. 마우스 혈장 단백질에 대한 5'-FAM 표지된 LNA-항miR-21 (#3205)의 결합.

(A) 마우스 혈장 중 올리고뉴클레오타이드 농도의 함수로서의 % 미결합 LNA-항miR-21 화합물 올리고뉴클레오타이드. (B) 마우스 혈장 중 #3205 농도의 함수로서의 미결합 LNA-항miR-21 화합물 #3205의 농도.

도 37. 웨스턴 블랏 분석에 의한 Ras 단백질 수준의 정량.

A. 처리된 (항-let-7; 8-mer) 대 미처리된 (염수) 폐 및 신장 샘플에 있어서 Ras 및 튜블린 (내부 표준) 단백질을 나타내는 겔 영상. B. LNA-항miR-처리 마우스 (회색 막대)의 폐와 신장에 있어서의 각각의 단백질 수준의 정량화. 동량의 염수 대조군 (회색 막대)에 대하여 정규화시켰으며, 동등한 로딩 대조군으로서 튜블린을 이용하였다.

B. #3205에 의한 miR-21의 사일런싱은 생체내에서 Pcd4 단백질 수준의 증가를 초래한다.

C. 마우스에게 14일 동안 하루 걸러 염수 또는 25 mg/kg LNA-항miR (#3205)을 총 5회 주사하였다. 마우스들을

희생시키고 신장으로부터 단백질을 분리하여 Pdc4 항체를 이용하여 웨스턴 블랏 분석을 실시하였다. A. 처리된 (항miR-21; 8-mer) 신장 샘플 대 미처리 (염수) 신장 샘플에 있어서 Pdc4 및 Gapdh (내부 표준) 단백질을 나타내는 겔 영상 (M1, 마우스 1; M2, 마우스 2). B. LNA-항miR-처리된 마우스 (암회색 막대)의 신장에 있어서 Pdc4 단백질 수준의 정량화. 로딩 대조군으로서 Gapdh를 이용하여, 동등한 염수 대조군 (연회색 막대)에 대하여 정규화시켰다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0306] 실시 상태
- [0307] 본 발명의 다음의 실시 상태는 본 발명의 다른 실시 상태와 조합적으로 사용될 수 있다.
- [0308] 1. 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 뉴클레오타이드 유닛 등 총 6 - 12개의 뉴클레오타이드의 인접 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 길이가 6 - 12 뉴클레오타이드인 올리고머로서, 상기 올리고머의 뉴클레오타이드 중 적어도 50%는 고친화성 뉴클레오타이드 유사체 유닛인 올리고머 및 약학적으로 허용되는 희석제, 담체, 염 또는 아쥘란트를 포함하여 이루어지는 의약 조성물.
- [0309] 2. 실시 상태 1에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 포유동물, 인간 또는 바이러스의 마이크로RNA (miRNA) 서열의 대응하는 영역과 상보적인 것인 의약 조성물.
- [0310] 3. 실시 상태 2에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 표 3, 4, 또는 5 중 어느 하나에 기재된 miRNA들 중에서 선택된 miRNA 서열의 대응하는 영역과 상보적인 것인 의약 조성물.
- [0311] 4. 실시 상태 2 또는 3에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 상기 마이크로RNA의 씨드 서열과 상보적인 서열로(을) 구성되거나 포함하는 것인 의약 조성물.
- [0312] 5. 실시 상태 2 - 4 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 표 3 또는 4에 기재된 서열들 중에서 선택되던 서열로(을) 구성되거나 포함하는 것인 의약 조성물.
- [0313] 6. 실시 상태 4 또는 5에 있어서, 씨드머의 3' 뉴클레오타이드는 상기 인접 뉴클레오타이드 서열의 3' 최말단 뉴클레오타이드를 형성하며, 여기서 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 하나 또는 두개의 5' 뉴클레오타이드를 추가로 포함하여도 좋은 것인 의약 조성물.
- [0314] 7. 실시 상태 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 5' 말단으로부터 세어서 마이크로 RNA 서열 중에 존재하는 첫번째 뉴클레오타이드에 대응하는 뉴클레오타이드는 포함하지 않는 것인 의약 조성물.
- [0315] 8. 실시 상태 1 내지 7 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 표 3 또는 4 또는 5에 기재된 것들 중에서 선택된 miRNA 중에 존재하는 대응하는 뉴클레오타이드 서열과 상보적인 것인 의약 조성물.
- [0316] 9. 실시 상태 8에 있어서, 상기 miRNA는 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, 및 miR-375로 이루어진 군 중에서 선택되는 것인 의약 조성물.
- [0317] 10. 실시 상태 1 내지 9 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드 유닛의 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 모든 뉴클레오타이드 유닛은 뉴클레오타이드 유사체 유닛인 것인 의약 조성물.
- [0318] 11. 실시 상태 10에 있어서, 뉴클레오타이드 유사체 유닛은 2'-O-알킬-RNA 유닛, 2'-OMe-RNA 유닛, 2'-아미노-DNA 유닛, 2'-플루오로-DNA 유닛, LNA 유닛, PNA 유닛, HNA 유닛, INA 유닛, 및 2'MOE RNA 유닛으로 이루어진 군 중에서 선택된 것인 의약 조성물.
- [0319] 12. 실시 상태 10 또는 11에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드 유닛의 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 모든 뉴클레오타이드 유닛은 잠금 핵산 (LNA: Locked Nucleic Acid) 뉴클레오타이드 유닛인 것인 의약 조성물.
- [0320] 13. 실시 상태 12에 있어서, 인접 뉴클레오타이드 서열의 모든 뉴클레오타이드 유닛은 LNA 뉴클레오타이드 유닛인 것인 의약 조성물.
- [0321] 14. 실시 상태 1-13 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 7, 8, 9 또는 10개의, 바람직하

게는 인접하는 LNA 뉴클레오타이드 유닛을(으로) 포함하거나 구성된 것인 의약 조성물.

- [0322] 15. 실시 상태 1 -14 중 어느 하나에 있어서, 상기 올리고머는 7, 8, 9 또는 10개의 인접 뉴클레오타이드 유닛으로 구성되며 여기서 적어도 7개의 뉴클레오타이드 유닛은 뉴클레오타이드 유사체 유닛인 것인 의약 조성물.
- [0323] 16. 실시 상태 15에 있어서, 상기 뉴클레오타이드 유사체 유닛은 잠금 핵산 (LNA) 뉴클레오타이드 유닛인 것인 의약 조성물.
- [0324] 17. 실시 상태 15에 있어서, 분자 내의 뉴클레오타이드 유사체 유닛은 적어도 50% LNA 유닛과 최대 50%의 다른 뉴클레오타이드 유사체 유닛과의 혼합물로 이루어진 것인 의약 조성물.
- [0325] 18. 실시 상태 1 - 17 중 어느 하나에 있어서, 인접 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드 유닛들 사이에 존재하는 인터뉴클레오타이드 결합의 적어도 75%, 예컨대, 80% 또는 85% 또는 90% 또는 95% 또는 모두는 포스포로티오에이트 인터뉴클레오타이드 결합인 것인 의약 조성물.
- [0326] 19. 실시 상태 1 - 18 중 어느 하나에 있어서, 상기 올리고머는 하나 이상의 비뉴클레오타이드 화합물과 컨쥬게이트된 것인 의약 조성물.
- [0327] 20. 실시 상태 1 - 19 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 miRNA 서열과 같은 적어도 2개의 miRNA 서열의 대응하는 서열과 상보적인 것인 의약 조성물.
- [0328] 21. 실시 상태 1 - 20 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 miRNA 씨드 영역 서열과 같은 적어도 2개의 miRNA 씨드 영역 서열로 된 서열과 상보적인 서열로(을) 구성되거나 포함하는 것인 의약 조성물.
- [0329] 22. 실시 상태 20 또는 21에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 miR-221과 miR-222 두가지 모두의 대응하는 영역과 상보적인 것인 의약 조성물.
- [0330] 23. 실시 상태 22에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 5'GCUACAУ3'에 상보적인 서열로(을) 구성되거나 포함하는 것인 의약 조성물.
- [0331] 24. 실시 상태 1 - 23 중 어느 하나에 있어서, 상기 올리고머는 전구약물을 구성하는 것인 의약 조성물.
- [0332] 25. 실시 상태 1 - 24 중 어느 하나에 있어서, 상기 인접 뉴클레오타이드 서열은 has-miR-122의 대응하는 영역과 상보적인 것인 의약 조성물.
- [0333] 26. 실시 상태 25에 있어서, C형 간염 바이러스 간염 및 고콜레스테롤혈증 및 관련 질환으로 이루어진 군 중에서 선택된 질환 또는 의학적 장애의 치료를 위해 사용되는 것인 의약 조성물.
- [0334] 27. 실시 상태 25 또는 26에 있어서, 상기 조성물은 ApoB 억제제 또는 MTP 억제제와 같은 VLDL 어셈블리 경로의 억제제인 제2의 독립적인 활성 성분을 추가로 포함하는 것인 의약 조성물.
- [0335] 28. 실시 상태 25 또는 26에 따른 의약 조성물 및 ApoB 억제제 또는 MTP 억제제와 같은 VLDL 어셈블리 경로의 억제제인 제2의 독립적인 활성 성분을 포함하여 이루어지는 키트.
- [0336] 29. 실시 상태 1 - 28 중 어느 하나에 기재된 의약 조성물을, 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 관련이 있는 질환 또는 의학적 장애를 앓고 있거나 앓을 위험이 있는 환자에게 투여하는 단계를 포함하여 이루어지는 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 관련이 있는 질환 또는 의학적 장애의 치료 방법.
- [0337] 30. 실시 상태 1 - 25 중 어느 하나에 정의된 올리고머.
- [0338] 31. 실시 상태 30에 기재된 올리고머 및 적어도 1종의 비뉴클레오타이드 화합물을 포함하여 이루어지는 컨쥬게이트.
- [0339] 32. 마이크로RNA의 존재 또는 과발현과 관련이 있는 질환 또는 의학적 장애의 치료용 약제의 제조를 위한, 실시 상태 30 또는 31 중 어느 하나에 기재된 올리고머 또는 컨쥬게이트의 용도.
- [0340] 33. 전술한 실시 상태 중 어느 하나에 따른 올리고머, 컨쥬게이트 또는 의약 조성물을, miRNA를 발현시키는 세포에 투여함으로써, 상기 세포에서의 상기 miRNA의 양 또는 유효량을 감소시키기 위한 방법.
- [0341] 34. 세포 내에서 miRNA에 의해 그의 발현이 억제되는 mRNA를 탈억제하기 위한 방법으로서, 상기 mRNA의 발현을 탈억제하기 위하여, 전술한 실시 상태 중 어느 하나에 따른 올리고머, 컨쥬게이트 또는 의약 조성물을 상기

mRNA와 상기 miRNA의 두가지 모두를 발현시키는 세포에 투여하는 것을 포함하여 이루어지는 방법.

[0342] **참고자료:** 참고자료의 상세는 우선권 서류에 기재되어 있다.

[0343] **실시예**

[0344] 실시예

[0345] LNA Monomer 및 올리고뉴클레오타이드의 합성은 W02007/112754의 실시예 1 및 2에 개시된 방법에 따라 실시하였다. 인간 또는 래트의 혈장 중에서의 LNA 올리고뉴클레오타이드의 안정성을 W02007/112754의 실시예 4에 설명된 방법학에 따라 시험하였다. W02007/112754의 실시예 6에 설명된 방법학에 따라 LNA 항miR 안티센스 올리고뉴클레오타이드 (miR-122를 표적화함)를 이용하여 시험관내에서 세포들을 처리하였다. 시험관내 모델과 생체내 모델 모두에서 마이크로RNA 특이적인 정량적 PCR에 의한 miR 발현의 올리고뉴클레오타이드 억제 분석을 W02007/112754의 실시예 7에 설명된 방법에 따라 수행하였다. W02007/112754의 실시예 8에 설명된 방법에 따라, miRNA 마이크로어레이 발현 프로파일링을 이용하여 LNA 항miR 녹다운 특이성을 평가한다. W02007/112754의 실시예 9에 설명된 방법학에 따라, 인 시튜 하이브리다이제이션에 의한 마이크로RNA의 검출을 실시한다. W02007/112754의 실시예 10에 설명된 방법학을 이용하여 시험관내 모델과 생체내 모델 두가지 모두에 있어서의 mRNA 발현의 분리 및 분석 (mRNA 분석을 위한 총 RNA 분리 및 cDNA 합성)을 실시한다. W02007/112754의 실시예 11 - 27에 설명된 방법을 이용하여, 마이크로RNA-122를 표적화하는 본 발명의 올리고머를 이용한 생체내 실험 및 후속적인 분석을 실시한다. 전술한 W02007/112754의 실시예들은 본 발명에 참고로 통합된다.

[0346] **실시예 1: LNA 항miR 올리고뉴클레오타이드의 디자인 및 용접**

표 2 - 실시예 및 도면에서 사용된 올리고머들. SEQ#은 실시예와 도면에서 색인기능을 한다 - 서열 목록에서 사용된 SEQ ID NO 역시도 제공된다.

실시예/도면 SEQ #	SEQ ID NO	화합물 서열	비고
#3204	1	TcAGICTGaTaAgCT	
#3205	2	GATAAGCT	
#3206	3	TcAcAATtaGCAiTA	
#3207	4	TAGCATTa	
#4	5	CcAttGTcaCaCtCC	
#3208	6	CACACTCC	
#3209	7	TAAGCT	
#3210	8	ATAAGCT	
#3211	9	TGATAAGCT	
#3212	10	CTGATAAGCT	
#3213	11	GTCTGATAAGCT	
#2114	12	CAGTCTGATAAGCT	
#3215	13	TCTGATAA	
#3216	14	ATCAGTCT	
#3217	15	TCAACATC	
#3218/#3230	16	GGTAAACT	밑줄 = 미스매치
#3219	17	CGTAATGA	밑줄 = 미스매치
#3220	18	TCAgctgataaGCTa	5' 형광표지 (FAM)
#3221	19	AGCACTTT	
#3222	20	ATTTGCAC	
#3223	21	AgCagACaaTgTaGC	5' 형광표지 (FAM)
#3224	22	GtAgcCagaTgTaGC	5' 형광표지 (FAM)
#3225	23	ATGTAGC	
#3226	24	ACaAcCTacTaCcTC	
#3227	25	ACTACCTC	
#3228	26	CaCtgTCagCaCtTT	
#3229	27	TgCatAGatTtGcAC	

[0347]

#3231	28	GTAGACT	
#3232	29	TACCTC	
#3233	30	CTACCTC	
#3234	31	TNCTACCTC	N = 유니버설 염기.
#3235	32	TNCTACCTC	N = 유니버설 염기.
#3236	33	GCaAcCTacTaCcTC	
#3237	34	ACaAcCTccTaCcTC	
#3238	35	ACaAaCTacTaCcTC	
#3239	36	CTACCTC	
#3240	37	CTAACTC	
#3241	38	TTAGCATT A	
#3242	39	CGATTAGCATT A	
#3243	977	CACGATTAGCATT A	
#3244	978	GCATT A	
#3245	979	AGCATT A	
#3246	980	ATTAGCATT A	
<p>대문자 및 소문자는 각각 LNA 및 DNA를 나타낸다. LNA 시토신은 바람직하게는 메틸 시토신/5'-메-시토신*인 것이 좋다. 모든 인터뉴클레오사이드 결합은 바람직하게는 포스포로티오에이트*인 것이 좋다. 모든 LNA는 예컨대 베타-D-옥시 LNA*일 수 있다 *특정예에서 사용됨.</p>			

[0348]

[0349]

실시예 2: 시험관내 모델: 세포 배양

[0350]

표적 핵산 발현 (양)에 미치는 LNA 올리고뉴클레오타이드의 효과는, 그 표적 핵산이 측정가능한 수준으로 존재하기만 한다면, 어떤 종류의 세포에서든 테스트할 수 있다. 표적은 상기 핵산을 코딩하는 핵산을 임의로 또는 안정하게 형질감염시키거나 또는 내재적으로 발현될 수 있다.

[0351]

표적 핵산의 발현 수준은 예컨대, 노던 블랏 분석 (마이크로RNA 노던을 포함), 정량적 PCR (마이크로RNA qPCR을 포함) 리보뉴클레아제 보호 분석법을 비롯한 통상적인 방법으로 측정할 수 있다. 설명 목적 상 다음의 세포 종류들을 제시하였으나, 선택된 세포 종류에서 표적이 발현되지만 다른 종류의 세포들도 마찬가지로 사용가능하다.

[0352]

후술하는 바와 같이 적절한 매질에서 세포들을 배양하여, 37°C에서 95-98%의 습도 및 5% CO₂ 하에서 유지시킨다. 세포들을 보통 1주일에 2-3회 계대시킨다.

[0353]

15PC3: 인간의 전립선 암세포주 15PC3를 Dr. F. Baas (Neurozintuigen Laboratory, AMC, The Netherlands)에서 기증받아, DMEM (Sigma) + 10% 소태아 혈청 (FBS) + 글루타맥스 I + 젠타마이신 중에서 배양하였다.

[0354]

PC3: 인간의 전립선 암세포주 PC3를 ATCC에서 구입하여 글루타민 (Gibco) + 10% FBS + 젠타마이신과 함께 F12 Coon 배지에서 배양하였다.

[0355]

518A2: 인간의 흑색종 암세포주 518A2를 Dr. B. Jansen (비엔나 대학교, 임상약학부 분자약학과 발암실험 섹션)로부터 기증 받아 DMEM (Sigma) + 10% 소의 태아 혈청 (FBS) + 글루타맥스 I + 젠타마이신에서 배양하였다.

[0356]

HeLa: 자궁경부암종 세포주 HeLa를 10% 소의 태아_혈청 젠타마이신을 함유하는 MEM (Sigma)에서 37°C, 95% 습도 및 5% CO₂ 조건 하에서 배양하였다.

[0357]

MPC-11: 쥐의 다발성 골수종 세포주 MPC-11를 ATCC로부터 구입하여 DMEM 중에서 4mM 글루타맥스+ 10% 말의 혈청과 함께 배양하였다.

[0358]

DU-145: 인간의 전립선암 세포주 DU-145를 ATCC로부터 구입하여 글루타맥스 + 10% FBS와 함께 RPMI에서 배양하였다.

- [0359] RCC-4 +/- VHL: 인간의 신장암 세포주 RCC4를 VHL을 발현하는 플라스미드로 안정적으로 형질감염시키거나 또는 공플라스미드를 ECACC로부터 구입하여 제조자 지침에 따라 유지하였다.
- [0360] 786-0: 인간의 신장암종 세포주 786를 ATCC로부터 구입하여 제조자 지침에 따라 유지하였다.
- [0361] HUVEC: 인간의 체대 정맥 상피 세포주 HUVEC를 Camrex로부터 구입하여 EGM-2 배지에서 유지시켰다.
- [0362] K562: 인간의 만성 골수성 백혈병 세포주 K562를 ECACC로부터 구입하여 RPMI 에서 글루타맥스 + 10% FBS와 함께 배양하였다. U87MG: 인간의 아교모세포종 세포주 U87MG를 ATCC로부터 구입하여 제조자의 지침에 따라 유지시켰다.
- [0363] B16: 쥐의 흑색종 세포주 B16을 ATCC로부터 구입하여 제조자의 지침에 따라 유지시켰다.
- [0364] LNCap: 인간의 전립선암 세포주 LNCap를 ATCC로부터 구입하여 RPMI에서 글루타맥스 + 10% FBS와 함께 배양하였다.
- [0365] Huh-7: 인간의 간, 상피 유사 세포를 Eagles MEM에서 10 % FBS, 2mM 글루타맥스 I, 1x 비필수 아미노산, 젠타마이신 25 μ g/ml와 함께 배양하였다.
- [0366] L428: (Deutsche Sammlung fur Mikroorganismen (DSM, Braunschwig, Germany)): 인간의 B 세포 임파구를 10% FCS, L-글루타민 및 항생제가 보강된 RPMI 1640 배지에서 유지시켰다.
- [0367] L1236: (Deutsche Sammlung fur Mikroorganismen (DSM, Braunschwig, Germany)): 인간의 B 세포 임파종을 10% FCS, L-글루타민 및 항생제가 보강된 RPMI 1640 배지에서 유지시켰다.
- [0368] **실시예 3: miRBase 마이크로RNA 데이터베이스 중 모든 인간의 마이크로RNA 서열에 대한 LNA 항miR 라이브러리의 설계.**
- [0369] 사용된 miRBase 버전은 Griffiths-Jones, S., Grocock, R.J., van Dongen, S., Bateman, A., Enright, A.J. 2006. miRBase: microRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acids Res.* 34: D140-4에 보고된 바와 같은 버전 12였으며, 이것은 <http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/index.shtml>을 통해 입수가능하다.
- [0370] **표 1**에는 miRBase 마이크로 RNA 데이터베이스에 따른 마이크로RNA의 씨드머 서열을 포함하는 7, 8 및 9mer 뉴클레오타이드 서열들이 제시되어 있다. 이들 씨드머 서열은 마이크로RNA 씨드 영역의 역 상보물을 포함한다. 어떤 실시 상태에서 본 발명의 올리고머는 7mer, 8mer 또는 9mer 서열 중에서 선택된 인접 뉴클레오타이드 서열을 갖는다. 어떤 실시 상태에서, 7mer, 8mer 및 9mer 서열들과 관련하여 모든 인접뉴클레오사이드 결합은 포스포로티오에이트이다. 7mer, 8mer 및 9mer 뉴클레오타이드 서열은 LNA 뉴클레오타이드 유사체와 같은 본 발명에 설명된 뉴클레오타이드 유사체의 서열로 구성될 수 있다. LNA 시토신은 메틸-시토신 (5'-메틸-시토신)일 수 있다. 몇몇 구체예에서, LNA는 베타-D-옥시-LNA이다.
- [0371] **표 3**은 본 발명에 제공된 (표 1 참조) 7, 8 또는 9mer와 같은 동일한 씨드머 올리고머에 의해 표적화될 수 있는 것들로 그룹지어지는 마이크로RNA 리스트를 제공한다.

표 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

[0372]

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*

[0373]

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

[0374]

[0375]

본 발명자들은 miR-21, miR-155 및 miR-122 (본 발명에서 마이크로miR라 칭함)에 대한 8-mer LNA-항miR를 구축하였는데 이것은 완전히 LNA 변형되고 포스포로티올화된 것이다 (도 1 및 표 6 참조). miR-21, miR-155 및 miR-122에 대한 루시페라제 센서 플라스미드를 이용하여 MCF-7, HeLa, Raw 및 Huh-7 세포들로부터 얻은 본 발명자들의 결과는 완전히 LNA-변형된 짧은 LNA-항miRs가 마이크로RNA를 길항시키는데 대단히 강력하다는 것을 입증해준다.

[0376]

SEQ ID #	마이크로 RNA	서열	T _m (°C)
3204	miR-21	T c A G t C T G a T a A g C T	73
3205		G A T A A G C T	33
3206	miR-155	T c A c A A T t a G C A t T A	63
3207		T A G C A T T A	45
4	miR-122	C c A t t G T c a C a C t C C	73
3208		C A C A C T C C	62

대문자는 예컨대 베타-D-옥시 LNA 와 같은 LNA 유닛을 나타낸다. 소문자는 DNA 유닛을 나타낸다.
 인터뉴클레오사이드 결합은 바람직하게는 포스포로티오에이트인 것이 좋다. LNA 시토신은 바람직하게는 모두 메틸화된/5-메틸 시토신인 것이 좋다.

[0377]

합성 마이크로RNA 올리고뉴클레오타이드 (일반적으로 포스포디에스테르 백본과 RNA 뉴클레오타이드로 구성됨)를 이용하여, 성숙한 마이크로RNA 서열에 대한 용점을 평가할 수 있다. 전형적으로 측정된 T_m은 RNA 표적에 대하여 LNA 올리고머를 사용한 경우, 예측된 T_m 보다 높다.

[0378]

실시예 4: 루시페라제 센서 분석을 이용한, MCF-7 세포 중 SEQ ID #3205 LNA-항miR에 의한 miR-21 길항성 평가.

[0379]

완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3205) 올리고뉴클레오타이드가 miR-21을 표적화 및 길항화시키는 능력을 평가하기 위하여, 성숙한 miR-21에 대한 완전 매치 표적 부위와 대조군으로서, 씨드 중 두개의 돌연변이를 갖는 표적 부위를 함유하는 루시페라제 센서 구축물을 만들었다 (도 6). 마이크로RNA-21 억제를 모니터링하

기 위하여, 유방암종 세포주 MCF-7을 여러가지 농도의 miR-21 안타고니스트 SEQ ID #3205를 갖는 상이한 루시페라제 구축물들로 형질감염시키고, 이를 miR-21에 대한 15-mer LNA-항miR SEQ ID #3204의 경우와 비교하였다. 24시간 후, 루시페라제 활성을 측정하였다.

- [0380] **결과:** 도 2에서, 루시페라제 활성이 탈억제 (de-repression)된 것으로부터 에 알 수 있는 바와 같이, 새로운 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3205)는 SEQ ID #3204에 비해 2배 더 강력한 활성을 나타내었다. 이와 대조적으로, miR-21 씨드에 2개의 미스매치를 갖는 대조군 miR-21 센서 구축물은 파이어플라이 루시페라제 활성의 탈억제를 전혀 나타내지 않았기 때문에, 이는 세포에서 miR-21 활성을 모니터링하는데 있어서 완전히 매치된 miR-21 센서의 특이성을 입증하는 것이다. 8-mer LNA-항miR에 의한 루시페라제 활성의 탈억제는 명백히 투여량 의존적이었으며, 이는 SEQ ID #3204에서는 관찰되지 않았다. 뿐만 아니라, 이 새로운 8-mer는 SEQ ID #3204에 비해 더 낮은 투여량에서도 훨씬 더 강력하다.
- [0381] 결론적으로, 이 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3205)은 miR-21을 표적으로 하는 15-mer LNA-항miR SEQ ID #3204와 비교할 때 시험관 내에서 miR-21을 억제하는데 있어 현저히 향상된 강도를 보여주는 것이다.
- [0382] **재료 및 방법:**
- [0383] 세포주: 유방암종 세포주 MCF-7을 ATCC (#HTB-22TM)으로부터 구입하였다. MCF-7 세포들을, 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 강화된 EMEM 배지에서 배양하였다.
- [0384] 형질감염: 형질감염하기 전 날, 6-웰 플레이트에 웰 당 400,000 세포들을 접종하여 그 다음 날 50-70% 컨플루언시를 얻었다. 형질감염 당일, MCF-7 세포를 0.8 ug miR-21 완전 매치/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공백터 (SDS Promega)를 이용하여 1 ml 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께 제조자 지침에 따라 형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포들을 수확하였다.
- [0385] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS로 세척하고 세포 스크레이퍼를 이용하여 수확한 다음, 10,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상등액을 폐기하고, 50 μ l 1x 수동 용해 완충액 (Passive Lysis Buffer: Promega)를 세포 펠릿에 첨가한 다음, 세포들을 얼음 위에 30분간 정치시켰다. 용해된 세포들을 10,000 rpm에서 30분간 회전시킨 다음 20 μ l를 96 웰 플레이트에 옮기고 제조자 (Promega) 지침에 따라 루시페라제를 측정하였다.
- [0386] **실시예 5: 루시페라제 센서 분석을 이용한 HeLa 세포에서의 SEQ ID #3205 LNA-항miR에 의한 miR-21 길항성의 평가.**
- [0387] miR-21을 표적화하는데 있어서, 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR SEQ ID #3205의 효능을 더욱 평가하기 위해, 상기 섹션에 설명된 바와 같이, 자궁경부암종 세포주 HeLa 역시도, 여러 농도의 SEQ ID #3205와 함께 전술한 miR-21 루시페라제 센서 구축물로 형질감염시켰다 (도 3).
- [0388] **결과:** SEQ ID #3205는 5 nM에서도 HeLa 세포에서 miR-21 루시페라제 센서 구축물을 완전히 탈억제시켰는데, 이는 최고 농도 (50 nM)에서도 완전한 탈억제를 나타내지 않은 SEQ ID #3204와 대조되는 것이다. 또한, 8-mer SEQ ID #3205 LNA-항miR에 대한 miR-21의 길항성은 투여량-의존적이다. miR-21 루시페라제 센서 분석의 특이성을 입증하기 위해, 미스매치된 miR-21 표적 부위 (씨드 중 2개의 미스매치) 역시도 HeLa 세포 내로 형질감염시켰으나, 파이어플라이 루시페라제 활성을 전혀 탈억제시키지 않은 것으로 나타났다.
- [0389] 결론적으로, 완전히 LNA-변형된 SEQ ID #3205는 15-mer LNA-항miR SEQ ID #3204와는 대조적으로, MCF-7 및 HeLa 세포의 두가지 세포 모두에서 시험관내에서 miR-21을 억제하는데 있어서 유의적으로 증강된 활성을 나타내었다.
- [0390] **재료 및 방법:**
- [0391] 세포주: 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa를 ECACC (#93021013)로부터 구입하였다. HeLa 세포를 10% 소의 태아 혈청 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 강화된 EMEM 배지에서 배양하였다.
- [0392] 형질감염: 형질감염 전 날, 24 웰 플레이트에 웰 당 60,000개의 세포를 접종하여 다음 날 50-70% 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일에, HeLa 세포를 0.2 ug miR-21 완전 매치/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공백터를 이용하여, 0.7 μ l 리포펙타민 2000 (Invitrogen)과 함께 제조자 지침에 따라 형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포를 수확하였다.
- [0393] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS로 세척하고 100 ml 1x 수동 용해 완충액 (Promega)을 각각의 웰에 첨가한 다음 24 웰 플레이트를 오비탈 진탕기로 30분간 처리하였다. 세포들을 수집하고 에펜도르프 튜브에 넣은 다음 10,000

rpm에서 30분간 회전시킨 후, 10 μ l를 96 웰 플레이트에 넣고 제조자 (Promega) 지침에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.

[0394] **실시예 6: 루시페라제 센서 분석을 이용한 마우스 RAW 세포에서의 SEQ ID #3207 LNA-항miR에 의한 miR-155 길항성의 평가.**

[0395] 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR가 miR-155를 효과적으로 길항시킬 수 있는지 알아보기 위하여, miR-155에 대한 완전 매치 표적 부위를 동일한 루시페라제 벡터 (psiCHECK2) 내로 클로닝시키고 이를 마우스 백혈병 단핵구 대식세포인 RAW 세포주에 형질감염시켰다. RAW 세포주에서는 miR-155의 내인성 수준이 낮기 때문에, miR-155 축적을 유도하기 위해, 24시간에 걸쳐 세포들을 100 ng/ml LPS로 처리하였다.

[0396] **결과:** 루시페라제 측정 결과, miR-155를 표적화하는, 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR SEQ ID #3207은 15-mer LNA-항miR SEQ ID #3206와 비교할 때 miR-155를 길항하는데 있어 비슷하게 효과적인 것으로 나타났다 (도 4). 두가지 LNA-항miR 모두 0.25 nM 농도에서 miR-155 루시페라제 센서를 >50% 탈억제시켰으며 miR-155를 투여량 의존 방식으로 억제하였다.

[0397] **결론:** 이러한 데이터는 실시예 1 및 2에 나타난 바와 같은 miR-21 길항 시험 결과를 뒷받침 하는 것으로서, 완전히 티올화된 8-mer LNA-항miR가 마이크로RNA 표적화에 매우 효과적임을 입증하는 것이다.

[0398] **재료 및 방법:**

[0399] 세포주: 마우스 백혈병 단핵구 대식세포 RAW 264.7을 ATCC (TIB-71)로부터 구입하였다. RAW 세포를 10% 소의 태아 혈청, 4 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.

[0400] 형질감염: 형질감염 전 날, 6 웰 플레이트의 웰 당 500,000개의 세포를 접종하여 다음날 50% 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일, MCF-7 세포를 0.3 ug miR-155 또는 psiCHECK2 공벡터를 이용하여 제조자 지침에 따라 10 ml 리포펙타민 2000 (Invitrogen)과 함께 형질감염시켰다. miR-155 축적을 유도하기 위하여, 형질감염 콤플렉스와 함께 4시간 인큐베이션시킨 후, LPS (100 ng/ml)를 RAW 세포에 첨가하였다. 다시 24시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포들을 수확하였다.

[0401] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS로 세척하고 세포 스크레이퍼로 수확한 후, 세포들을 2,500 rpm에서 5분간 원심 분리하였다. 상등액을 폐기하고, 세포 펠릿에 50 μ l 1 x 수동 용해 완충액 (Promega)을 첨가한 후, 세포들을 얼음 위에서 30분간 유지시켰다. 용해된 세포들을 10,000에서 30분간 스핀시킨 후, 20 μ l를 96 웰 플레이트에 넣고 제조자 (Promega) 지침에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.

[0402] **실시예 7: 루시페라제 센서 분석을 이용한 HuH-7 세포에서의 SEQ ID #3208 LNA-항miR에 의한 miR-122 길항성의 평가.**

[0403] miR-122에 대한 완전히 변형된 8-mer LNA-항miR SEQ ID #3208의 효능을 인간의 간암종 세포주 HuH-7에서 평가 하였다. 완전 매치 miR-122 표적 부위를 함유하는 루시페라제 센서 구축물로 HuH-7 세포를 형질감염시켰다. 24 시간 후, 루시페라제 측정을 실시하였다 (도 5).

[0404] **결과:** miR-122 루시페라제 센서의 탈억제에 의해 입증되는 바와 같이,

[0405] 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR SEQ ID #3208은 저농도에서도 15-mer LNA-항miR SEQ ID #4는 보다 더 강력하다. 두가지 모두의 LNA-항miRs는 투여량 의존 방식으로 miR-122를 억제한다 (도 5).

[0406] **결론:** miR-122를 표적화하는, 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR SEQ ID #3208은 시험관 내에서 miR-122를 억제하는데 있어서 개선된 활성을 나타낸다.

[0407] **재료 및 방법:**

[0408] 세포주: 인간의 간암종 세포주 HuH-7를 R. Bartenschlager, Heidelberg로부터 기증받았다. Huh-7 세포들을 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.

[0409] 형질감염: 8,000 cells 형질감염 전 날, 96 웰 플레이트의 각 웰 당 8,000개의 세포를 접종하여 다음날 50-70%의 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일, HuH-7 세포를 1 μ l 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께 57 ng miR-122 또는 psiCHECK2 공벡터를 이용하여, 형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포들을 수확하였다.

[0410] 루시페라제 분석: 50 μ l 1 x 수동 용해 완충액 (Promega)을 각각의 웰에 첨가한 다음 96 웰 플레이트를 30분간

오비탈 진탕기로 처리하였다. 각각의 웰에 ㄷ듀얼-루시페라제 리포터 분석 시스템 (Promega)을 첨가하고 제조사 (Promega) 지침에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.

[0411] **실시예 8. 인간 전립선암종 세포 (PC3)에 있어서 8-mer (SEQ ID #3205) 대 15-mer (SEQ ID #3204) LNA-항miR의 비교에 의한 miR-21 길항성의 평가.**

[0412] 본 발명자들은 앞서 (특허출원 1051), 완전히 LNA-변형되고 포스포로티올화된 8-mer LNA-항miR이 인간의 자궁경 부암종 세포주 HeLa에서 miR-21 루시페라제 리포터 수준을 완전히 탈억제하고, 인간의 유방암종 세포주 MCF-7에 있어서는 miR-21 루시페라제 리포터 수준을 부분적으로 탈억제할 수 있음을 보여준 바 있다. 본 발명자들은 이러한 스크리닝 접근법을 인간의 전립선암 세포주 PC3에까지 연장하려는 시도를 하였다. miR-21에 대한 서로 다른 LNA-항miR 올리고뉴클레오타이드의 효능을 평가하기 위해, 씨드에 2개의 미스매치를 갖는 표적 부위와 성숙한 miR-21에 대한 완전 매치 표적 부위를 레닐라 루시페라제 유전자의 3'UTR에 클로닝시킨 루시페라제 리포터 구축물을 제작하였다 (도 7). miR-21 억제를 모니터링하기 위해, PC3 세포들을, miR-21 안타고니스트 SEQ ID #3205 (8-mer) 및 비교를 위해 15-mer LNA-항miR 완전 매치 SEQ ID #3204를 여러 농도로 함유하는 여러가지 루시페라제 구축물로 형질감염시켰다. 24 시간 후, 루시페라제 활성을 측정하였다.

[0413] **결과:** 이 루시페라제 리포터 실험은 miR-21에 대한 15-mer LNA-항miR (SEQ ID #3204)가 루시페라제 miR-21 리포터 활성을 투여량 의존 방식으로 탈억제하였음을 보여주었다. 그러나, 최고 농도에서도 루시페라제 리포터의 완전한 탈억제는 관찰되지 않았다 (도 7). 이와 대조적으로, 8-mer 완전히 LNA 치환된 LNA-항miR은 1 nM에서조차 완전한 탈억제를 나타내었는데, 이는 15-mer LNA-항miR보다 그 강도가 훨씬 증가되었음을 가리키는 것이다. miR-21에 대한 미스매치 표적 부위를 갖는 루시페라제 대조군 리포터는 어느 LNA-항miR에 의해서도 영향을 받지 않았으며, 이는 두가지 LNA-항miRs 모두의 높은 특이성을 입증하는 것이다.

[0414] **결론:** 이 마이크로머는 miR-21을 표적화시키는데 있어서 15-mer LNA-항miR보다 훨씬 더 강력하며, 전립선암종 세포에 대해 이제까지의 것들 중 가장 강력한 것이다.

[0415] **재료 및 방법:**

[0416] 세포주: 인간의 전립선 암종 PC3 세포주를 ECACC (#90112714)로부터 구입하였다. PC3 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이_보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.

[0417] 형질감염: 100,000 형질감염 전날 12-웰 플레이트의 각각의 웰 당 100,000개의 세포들을 접종하여, 다음 날 50% 컨플루언시를 얻도록 하였다. 형질감염 당일에, PC3 세포를, 제조사 지침에 따라 1.2 ml 리포펙타민 2000 (Invitrogen)과 함께 0.3 mg miR-21 또는 psiCHECK2 공백터를 이용하여 형질감염시켰다. LNA-항miRs의 농도를 변화시키면서 형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포들을 수확하였다.

[0418] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS로 세척하고 250 μ l 1 x 수동 용해 완충액 (Promega)을 웰에 첨가하였다. 플레이트를 30분간 진탕기 상에서 처리한 후, 세포 용해물을 에펜도르프 튜브에 넣었다. 세포 용해물을 2,500 rpm에서 10분간 원심분리시킨 후, 20 μ l를 96 웰 플레이트에 넣고 제조사 (Promega) 지침에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.

[0419] **실시예 9. 8-mer LNA-항miR에 의한 miR-21 길항성의 특이성 평가**

[0420] To investigate the specificity of miR-21을 표적화하는 본 발명의 짧은 LNA-항miR의 특이성을 조사하기 위하여, 본 발명자들은 씨드 인식 서열에 2개의 미스매치를 함유하는 8-mer 미스매치 대조군 LNA-항miR (SEQ ID #3218)을 설계하였다 (도 8 참조). 실시예 1에 설명된 루시페라제 리포터 구축물을 LNA 미스매치 대조군 올리고 SEQ ID # 3218과 함께 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa 내로 형질감염시키고 그의 효능을 miR-21을 표적화하는 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3205)와 비교하였다. 24시간 후, 루시페라제 활성을 측정하였다.

[0421] **결과:** 도 8에 도시된 바와 같이, HeLa 세포에서의 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR의 형질감염은 5 nMdptjeh 루시페라제 miR-21 리포터를 완전히 탈억제시켰다. 이와 대조적으로, 세포들을 8-mer LNA 미스매치 대조군 올리고는 miR-21 씨드에 2개의 미스매치를 갖는 대조군 miR-21 루시페라제 리포터를 이용한 결과와 조합할 때, 이들 데이터는 HeLa 세포에서 miR-21을 표적화하는데 있어서 완전히 LNA-치환된 8-mer LNA-항miR가 높은 특이성을 갖는다는 것을 보여준다.

[0422] miRBase 마이크로RNA 서열 데이터베이스를 분석한 결과, LNA-항miR SEQ ID #3205의 miR-21 인식 서열은 마이크로RNA-21에 대해 특이적인 것으로 나타났다. 그러나, 마이크로머 길이를 7 nt로 감소시키자, ath-miR-844, mmu-

miR-590-3p 및 has-miR-590-3p 역시도 표적화된 것으로 보아, 이 경우는 miR-21에 대해서만 특이적이지 않았다.

[0423] **결론:** 8-mer LNA-항miR 중 두개의 뉴클레오타이드 위치를 3개의 미스매칭 뉴클레오타이드로 교환시키자 miR-21에 대한 LNA-항miR의 길항 활성이 완전히 회피되었다.

[0424] **재료 및 방법:**

[0425] 세포주: 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa를 ECACC (#93021013)로부터 구입하였다. HeLa 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.

[0426] 형질감염: 형질감염 전 날, 24-웰 플레이트에 각 웰 당 60,000개의 세포를 접종하여, 다음날 50-70% 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일에, HeLa 세포를 제조자 지침에 따라 0.7 ml 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께, 0.2 ug miR-21 완전 매치/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공백터로 형질감염시켰다. LNA-항miRs의 농도를 달리하면서 형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 루시페라제 측정을 위해 수확하였다.

[0427] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS로 세척하고 100 ml 1 x 수동 용해 완충액(Promega)을 각각의 웰에 첨가한 다음, 24-웰 플레이트를 오비탈 진탕기 상에서 30분간 처리하였다. 세포들을 수집하고 에펜도르프 튜브에 넣은 다음 10,000 rpm 에서 30분간 스펀시킨 후 10 µl를 96-웰 플레이트에 넣고 제조자 (Promega) 지침에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.

[0428] **실시예 10. miR-21의 효과적인 길항성을 매개하는 완전히 LNA-변형된 LNA-항miR의 가능한 최단 길이 평가.**

[0429] LNA-항miR 길이와 관련된 요구성을 추가로 조사하기 위하여, 본 발명자들은 miR-21를 표적화하는 7-mer 및 6-mer LNA-항miR를 설계하였는데, 이들 두가지는 모두 완전히 LNA-변형되고 포스포로티올화된 올리고뉴클레오타이드이다. 이 miR-21 루시페라제 리포터 구축물을 여러 농도의 LNA-항miRs와 함께 HeLa 세포 내로 형질감염시켰다. 24시간 후 루시페라제 측정을 실시하였다.

[0430] **결과:** 도 9에 도시된 바와 같이, 7-mer LNA-항miR는 miR-21 루시페라제 리포터 플라스미드의 탈억제를 매개하지만, 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3205)에 비해 그 강도는 낮다. 그럼에도 불구하고, 투여량 의존 방식으로 기능한다는 것을 여전히 관찰할 수 있다. 이와 대조적으로, 6-mer LNA-항miR는 억제 활성을 나타내지 않았다.

[0431] **결론:** 결론적으로, miR-21 억제를 매개할 수 있는 LNA-항miR의 가능한 최단 길이는 7 뉴클레오타이드이다. 그러나, 7-mer LNA-항miR는 8-mer LNA-항miR에 비해 miR-21에 대해 효능이 낮다.

[0432] **재료 및 방법:**

[0433] 세포주: 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa를 ECACC (#93021013)로부터 구입하였다. HeLa 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.

[0434] 형질감염: 형질감염 전 날, 24 웰 플레이트의 각 웰 당 60,000개의 세포를 접종하여 그 다음날 50-70% 컨플루언시에 도달하도록 하였다. 형질감염 당일에, HeLa 세포들을 제조자 지침에 따라 (Invitrogen) 0.7 µl 리포펙타민2000과 함께, 0.2 ug miR-21 완전 매치/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공백터를 이용하여 형질감염시켰다. LNA-항miRs의 농도를 달리하여서도 형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위하여 세포들을 수확하였다.

[0435] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS로 세척하고 100 µl 1 x 수동 용해 완충액 (Promega)을 각각의 웰에 첨가한 다음, 24-웰 플레이트를 오비탈 진탕기에서 30분간 처리하였다. 세포들을 수집하고 에펜도르프 튜브에 넣은 다음 10,000 rpm에서 30분간 스펀시킨 후, 10 µl를 96-웰 플레이트에 넣고 제조자 (Promega) 지침에 따라 루시페라제 활성을 측정하였다.

[0436] **실시예 11. miR-21을 길항하는 완전히 LNA-치환된 LNA-항miRs의 길이 평가**

[0437] 이어서, 본 발명자들은 HeLa 세포 내에서 miR-21을 길항시키는데 있어서, 완전히 LNA 치환된 LNA-항miR의 길이를 9-mer에서 14-mer로 증가시키는데 따른 효과를 조사하였다. 결과적인 LNA-항miR를 miR-21 루시페라제 리포터 구축물과 함께 HeLa 세포 내로 형질감염시켰다 (도 10). 24시간 후 루시페라제 측정을 실시하였다.

[0438] **결과:** 9-mer LNA-항miR SEQ ID #3211 (9-mer)는 투여량 의존 방식으로 miR-21 루시페라제 리포터를 탈억제하였는데, 7-mer LNA-항miR (SEQ ID #3210)의 경우 입증된 바와 달리, 완전한 탈억제에 이르지 못하는 못하였다. 길이를 10-mer로부터 14-mer (SEQ ID #3212, SEQ ID #3213 및 SEQ ID #3214)로 증가시키자, miR-21 리포터의 탈억제 효과가 덜 효과적인 것으로부터 알 수 있는 바와 같이 그 효능이 감소하였다.

- [0439] **결론:** 도 10에 도시된 바와 같이, miR-21 억제를 매개할 수 있는, 완전히 LNA-변형되고 포스포로티올화된 최장의 LNA-항miR는 9-mer LNA-항miR SEQ ID #3211이다. 그러나, 이것은 7-mer 및 8-mer LNA-항miRs에 비해서 명백히 그 효능이 낮다.
- [0440] **재료 및 방법:** 세포주: 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa를 ECACC (#93021013)로부터 구입하였다. HeLa 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.
- [0441] 형질감염: 형질감염 전 날, 24-웰 플레이트 내의 각 웰 당 60,000개의 세포들을 접종하여 다음날 50-70% 컨플루언시에 도달하게 하였다. 형질감염 당일에, HeLa 세포들을 제조자 지침에 따라 0.7 µl 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께, 0.2 ug miR-21 퍼펙트 매트치/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 또는 표적 부위가 없다는 psiCHECK2 공백터 대조군으로 형질감염시켰다. 또한 LNA-항miRs의 농도를 변화시키면서도 형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 수확하여 루시페라제를 측정하였다.
- [0442] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS으로 세척하고 각각의 웰에 100 ml 1 x 수동 용해 완충액 (Promega)을 첨가한 다음, 24-웰 플레이트를 오비탈 진탕기에서 30분간 처리하였다. 세포들을 수집하고 에펜도르프 튜브에 넣은 다음 10,000 rpm에서 30분간 스피닝 후 10 µl를 96-웰 플레이트에 옮긴 후 제조자 (Promega) 지침에 따라, 루시페라제 측정을 실시하였다.
- [0443] **실시예 12. miR 표적 인식 서열 중에서의 8-mer LNA-항miR의 최적 위치 결정.**
- [0444] 본 발명자들의 실험 결과 완전히 LNA-변형되고 포스포로티올화된 LNA-항miR 중 가장 강력한 것은 그 길이가 8 뉴클레오타이드인 것으로 나타났다. miR 표적 인식 서열에서의 8-mer LNA-항miR의 최적 위치를 평가하기 위하여, 본 발명자들은 도 11에 도시된 바와 같이 성숙한 miR-21 서열에 타일된 (tiled) 네가지 서로 다른 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miRs를 설계하였다. 이들 서로 다른 LNA-항miR들을 miR-21 루시페라제 리포터 구축물을 이용하여 HeLa 세포 내로 형질감염시켰다. 루시페라제 측정은 24 시간 후에 실시하였다.
- [0445] **결과:** 루시페라제 리포터에 의해 측정된 바와 같이 miR-21의 효과적인 사일런싱을 매개한 유일한 LNA-항miR은 SEQ ID #3205였는데, 이것은 miR-21의 씨드 영역을 표적화하는 것이다. 씨드의 3' 말단을 커버하도록 설계된 (50% 씨드 표적화) SEQ ID #3215는 어떠한 효과도 나타내지 않았고, 성숙한 miR-21의 중심 영역과 3' 말단을 각각 표적화하도록 위치된, 다른 두개의 LNA-항miRs SEQ ID #3216 또는 SEQ ID #3217도 아무런 효과를 나타내지 않았다.
- [0446] **결론:** miR-21의 강력한 사일런싱을 매개하는 유일한 8-mer LNA-항miR는 miR-21의 씨드를 표적화하는 것이다.
- [0447] **재료 및 방법:**
- [0448] 세포주: 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa를 ECACC (#93021013)로부터 구입하였다. HeLa 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.
- [0449] 형질감염: 형질감염 전 날에 24-웰 플레이트 중 각각의 웰에 60,000개의 세포를 접종하여, 다음 날 50-70% 컨플루언시를 얻었다. 형질감염 당일에, HeLa 세포들을 제조자 지침 (Invitrogen)에 따라 0.7 µl 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께, 0.2 ug miR-21 퍼펙트 매트치/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공백터로 형질감염시켰다. 형질감염은 LNA-항miRs의 농도를 달리 하여서도 실시하였다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위하여 세포를 수확하였다.
- [0450] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS으로 세척하고 각각의 웰에 100 ml 1 x 수동 용해 완충액 (Promega)을 첨가한 다음, 24-웰 플레이트를 오비탈 진탕기에서 30분간 처리하였다. 세포들을 수집하고 에펜도르프 튜브에 넣은 다음 10,000 rpm에서 30분간 스피닝 후 10 µl를 96-웰 플레이트에 옮긴 후 제조자 (Promega) 지침에 따라, 루시페라제 측정을 실시하였다.
- [0451] **실시예 13. 8-mer SEQ ID #3205 LNA-항miR을 이용한 miR-21와 Pdc4-3'-UTR에 있어서 miR-21 표적 부위와의 상호반응의 검정**
- [0452] 종양 억제 단백질 Pdc4는 TPA-유도형 신생 형질전환, 종양 촉진 및 진행을 억제한다. Pdc4는 또한 여러가지 인두서들에 반응하여 세포자멸사에서 상향조절되는 것으로도 나타났다. 뿐만 아니라, 폐암과 직장결장암 중에서 Pdc4의 하향 조절은 환자의 예후가 나쁜 것과 연관이 있었다. 최근, Asangani 등과 Frankel 등은 Pdc4-3'-UTR이 miR-21에 대한 보존된 표적 부위를 함유하여 세포들을 항miR-21로 형질감염시킴으로써, Pdc4 단백질의 증가를 초래한다는 것을 보여주었다. 따라서 본 발명자들은 전술한 miR-21 표적 부위를 포괄하며 Pdc4의 3'UTR 영

역의 313 nt를 산생하는 루시페라제 리포터 플라스미드를 제작하고, 이를 여러가지 서로 다른 LNA-항miR와 함께 HeLa 세포 내로 공형질감염시켰다. 이들 여러가지 서로 다른 LNA-항miR들; SEQ ID #3205 (8-mer, 퍼펙트 매치) 또는 SEQ ID #3218 (8-mer, 미스매치)였다. 24시간 후 루시페라제 측정을 실시하였다.

[0453] **결과:** 도 12에 도시된 바와 같이, Pcdcd4 3'UTR 루시페라제 리포터 및 SEQ ID #3205dp 의해 형질감염된 세포들에 있어서는, 루시페라제 활성이 증가된 것으로 관찰되었는데, 이는 Pcdcd4 3'UTR과 miR-21 사이에 상호반응이 일어났음을 가리키는 것이다. 그러나, 미스매치 화합물인 SEQ ID #3218로 형질감염된 세포의 경우, 루시페라제 활성은 아무런 변화를 나타내지 않았는데, 이는 상기 미스매치 화합물이 miR-21을 길항하지 않았던 것으로부터 예상되었던 것이다. 8-mer LNA-항miR을 더 긴 길이를 갖도록 설계된 두개의 다른 LNA-항miR와 비교하자, 완전히 LNA-변형되고 포스포로티올화된 짧은 LNA-항miR이 훨씬 더 효과적이었는데, 이는 앞서의 루시페라제 분석 데이터를 확인해주는 것이다.

[0454] **결론:** 이들 데이터로부터 miR-21을 길항시키는 SEQ ID #3205는 Pcdcd4 3'UTR과 miR-21 사이의 상호반응을 조절할 수 있다고 결론지어진다.

[0455] **재료 및 방법:**

[0456] **세포주:** 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa를 ECACC (#93021013)로부터 구입하였다. HeLa 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.

[0457] **형질감염:** 형질감염 전 날에 24-웰 플레이트 중 각각의 웰에 60,000개의 세포를 접종하여, 다음 날 50-70% 컨플루언시를 얻었다. 형질감염 당일에, HeLa 세포들을 제조사 지침 (Invitrogn)에 따라 0.7 μ l 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께, 0.2 ug Pcdcd4-3'-UTR/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공백터로 형질감염시켰다. 형질감염은 LNA-항miR 올리고뉴클레오타이드의 농도를 달리 하여서도 실시하였다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위하여 세포를 수확하였다.

[0458] **루시페라제 분석:** 세포들을 PBS으로 세척하고 각각의 웰에 100 ml 1 x 수동 용해 완충액 (Promega)을 첨가한 다음, 24-웰 플레이트를 오비탈 진탕기에서 30분간 처리하였다. 세포들을 수집하고 에펜도르프 튜브에 넣은 다음 10,000 rpm에서 30분간 스펀시킨 후 10 μ l를 96-웰 플레이트에 옮긴 후 제조사 (Promega) 지침에 따라, 루시페라제 측정을 실시하였다.

[0459] **실시예 14. 마우스 RAW 세포에 있어서 miR-155를 길항시키는데 있어서의 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3207)와 15-mer LNA-항miR (SEQ ID #3206)와의 비교**

[0460] 짧은 LNA-항miR를 이용하는 본 발명자들의 접근법이 다른 miRNA를 표적화하는데도 적용될 수 있을지 조사하기 위하여, 본 발명자들은 마이크로RNA-155에 대한 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR를 설계하였다. miR-155에 대한 완전 매치 표적 부위를 리포터 플라스미드 psiCHECK2의 루시페라제 유전자 내의 3'-UTR 내로 클로닝시키고, 8-mer 또는 15-mer LNA-항miR과 함께 마우스 RAW 대식 세포주 내로 형질감염시켰다. miR-155의 내인성 수준은 RAW 세포주에서는 낮기 때문에, miR-155 축적을 유도하기 위하여, 이 세포들을 100 ng/ml LPS로 24 시간 동안 처리하였다. 24시간 후, 루시페라제 분석을 실시하였다.

[0461] **결과:** 루시페라제 측정 결과, miR-155를 표적화하는 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR SEQ ID #3207은 15-mer LNA-항miR SEQ ID #3206와 비교할 때 miR-155를 길항시키는데 있어서 비슷하게 효과적이었다 (도 13). 두가지 LNA-항miR는 모두 0.25 nM 농도에서 miR-155 루시페라제 센서를 >50% 탈억제시켰으며 투여량 의존 방식으로 miR-155를 억제하였다.

[0462] miRBase 마이크로RNA 서열 데이터베이스의 분석 결과 LNA-항miR SEQ ID #3207의 miR-155 인식 서열은 마이크로RNA-155에 대하여 특이적인 것으로 나타났다. 그러나, LNA-항miR 길이를 7 nt로 줄이자, miR-155에만 특이적이지 않고, mdv1-miR-M4 및 kshv-miR-K12-11 역시도 표적화되었다.

[0463] **결론:** 완전히 LNA-변형되어 포스포로티올화된 8-mer LNA-항miR는 miR-155를 길항시키는데 있어서, 혼합형 LNA/DNA 디자인의 15-mer LNA-항miR과 비교할때 동등한 효능을 갖는다. 따라서, 짧은 LNA-항miR를 이용한 본 발명자들의 접근법은 다른miRNA들을 표적화시키는데도 용이하게 적용시킬 수 있다.

[0464] **재료 및 방법:**

[0465] **세포주:** 마우스의 대식세포 RAW 264.7 세포주를 ATCC (TIB-71)로부터 구입하였다. RAW 세포를 10% 소의 태아 혈청, 4 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.

- [0466] **형질감염:** 형질감염 전 날에, 6-웰 플레이트의 각각의 웰에 500,000개의 세포를 접종하여, 다음 날 50% 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일에, RAW 264.7 세포들을 제조자 (Invetrogen) 지침에 따라 10 μ l 리포펙타민2000 과 함께 0.3 ug miR-155 완전 매트치/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공벡터를 이용하여 형질감염시켰다. 형질감염은 LNA-형miR의 농도를 변화시켜서도 수행하였다. miR-155 축적을 유도하기 위하여, 트랜스펙션 복합체와 4 시간 동안 인큐베이션시킨 후, LPS (100 ng/ml)를 RAW 세포에 첨가하였다. 다시 24시간 후, 루시페라제 측정을 위하여 세포들을 수확하였다.
- [0467] **루시페라제 분석:** 세포들을 PBS로 세척하고 세포 스크레이퍼로 수확한 다음, 세포들을 2,500 rpm으로 5분간 스펀시켰다. 상등액을 폐기하고 50 μ l 1x 수동 용해 완충액 (Promega)을 세포 펠릿에 첨가한 다음, 세포들을 얼음 위에서 30분간 유지시켰다. 용해된 세포들을 10,000 rpm에서 30분간 스펀시킨 후, 20 μ l를 96-웰 플레이트에 넣고 제조자 지침(Promega)에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.
- [0468] **실시예 15. 짧은 LNA-형miR (SEQ ID #3207)에 의한 miR-155 길항성의 기능적 관독값으로서의 c/EBP β 단백질 수준의 평가.**
- [0469] 짧은 LNA-형miR (SEQ ID #3207)에 의한 miR-155 길항성의 기능적 관독값으로서, 본 발명자들은 신규한 miR-155 표적, c/EBP β 의 단백질 수준을 측정하였다. 마우스 대식세포 RAW 세포주를 pre-miR-155의 존재 또는 부재 하에 8-mer (SEQ ID #3207) 또는 15-mer (SEQ ID #3206) LNA-형miR로 형질감염시켰다. 15-mer에 대한 미스매치 대조군으로는, miR-122를 표적화하는 SEQ ID #4를 사용하였고, 8-mer에 대한 미스매치 대조군으로는, miR-21를 표적화하는 SEQ ID #3205를 사용하였다. 이들 두가지 대조군 miRNA는 c/EBP β 발현 수준을 조절하지 않는다. LPS를 사용하여miR-155 축적을 유도시키고 세포들을 16 시간 후에 LPS와 함께 수확하였다. c/EBP β 는 웨스턴 블랏 분석에 의해검출가능한 3종의 이소형, 즉: LIP, LAP 및 LAP*를 가지며, 동일한 막들을 로딩 대조군으로서 베타-튜불린으로 다시 프로빙시켰다
- [0470] **결과:** 도 14에 도시된 바와 같이, c/EBP β LIP 및 베타-튜불린에 대한 비율을 산출하였다. 15-mer LNA-형miR에 의해 형질감염되고 pre-miR-155를 갖지 않는 RAW 세포들은 모두 동등한 c/EBP β LIP/베타-튜불린 비율을 나타내었는데, 이는 miR-155의 억제제가 c/EBP β LIP 수준을 증가시키는데 기인한다 (도 14, 왼쪽 패널). 이와 대조적으로 LNA 또는 미스매치로 처리되지 않은 RAW 세포로부터의 단백질 추출물을 이용한 레인에 도시된 바와 같이, 만일 c/EBP β 가 miR-155 표적이면, 예상된 바와 같이 RAW 세포에서의 pre-miR-155의 형질감염은 c/EBP β LIP 수준을 증가시켰다. 그러나, miR-155에 대한 LNA-형miR로 형질감염된 RAW 세포로부터의 단백질 추출물, c/EBP β LIP 수준을 증가시켰다. 동일한 실험을 8-mer LNA-형miR-155 (SEQ ID #3207)에 대하여도 실시하였으며 도 14 (오른쪽 패널)에 도시된 바와 같이, 15-mer LNA-형miR SEQ ID #3206의 경우에 필적할만한 결과가 관찰되었다.
- [0471] **결론:** 8-mer 또는15-mer LNA-형miR를 이용한 miR-155의 길항은 직접 표적c/EBP β 의 탈억제를 일으킨다.
- [0472] **재료 및 방법:**
- [0473] **세포주:** 마우스 대식세포 RAW 264.7 세포주를 ATCC (TIB-71)로부터 구입하였다. RAW 세포들을 10% 소의 태아 혈청, 4 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.
- [0474] **형질감염:** 형질감염 전 날에 6-웰 플레이트의 각 웰마다 500,000개의 세포를 접종하여, 다음 날 50% 컨플루언시를 얻었다. 형질감염 당일에, RAW 264.7 세포들을 제조자 지침에 따라 10 μ l 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께 5 nmol pre-miR-155 (Ambion) 및/또는 5 nM LNA-형miR과 함께 형질감염시켰다. 형질감염은 LNA-형miR의 농도를 변화시키면서도 실시하였다. miR-155 축적을 유도하기 위하여, 형질감염 복합체와 함께 4 시간 인큐베이션시킨 후, LPS (100 ng/ml)를 RAW 세포에 첨가하였다. 16 시간 후, 세포들을 단백질 추출을 위해 수확하고 웨스턴 블랏으로 분석하였다.
- [0475] **웨스턴 블랏:** 세포들을 PBS로 세척하고, 트립신화시킨 다음 에펜도르프 튜브에 넣고 250 μ l 용해 완충액 (1xRIPA)을 첨가하였다. 세포 용해물을 얼음 위에 20분간 유지시키고, 10,000 rpm에서 10분간 스펀시켰다. 제조자 지침에 따라 쿠마씨 플러스를 이용하여 단백질 농도를 측정하고 80 ug을 4-12% BIS-TRIS 젤 상에 로딩시켰다. 막을 4 $^{\circ}$ C에서 일차 모노클로날 마우스 항체 C/EBP b (Santa Cruz)와 함께 1:100 농도로 인큐베이션시켰다. 면역반응 밴드를 ECL 플러스 (Amersham)로 가시화시켰다.
- [0476] **실시예 16. 완전히 LNA-변형된 8-mer (SEQ ID #3221) LNA-형miR에 의한 miR-106b의 길항성**
- [0477] 짧은 LNA-형miRs를 이용한 본 발명자들의 접근법을 다른 miRNA들에 대해서도 적용시킬 수 있는지 확인하기 위하여, 본 발명자들은 마이크로RNA-106b에 대하여 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-형miR를 설계하였다. miR-106b에

대한 완전 매치 표적 부위를 벡터 (psiCHECK2) 중의 루시페라제 유전자의 3'-UTR 내로 클로닝시키고 여러가지 농도의 짧은 LNA-항miR (SEQ ID #3221) 또는 15-mer LNA-항miR (SEQ ID #3228)와 함께 인간 자궁경부암종 HeLa 세포주 내로 트랜스팩션시켰다.

- [0478] **결과:** 루시페라제 리포터의 탈억제로부터 알 수 있는 바와 같이 (1 nM LNA-항miR 농도에서 완전히 탈억제되었음), miR-106b에 대한 8-mer LNA-항miR SEQ ID #3221의 형질감염은 투여량 의존 방식으로 miR-106b를 억제시켰다 (도 15). 15-mer LNA-항miR SEQ ID #3228을 이용하자 이와 필적할만한 결과가 얻어졌는데, 이는 8-mer LNA-항miR가 15-mer와 유사한 정도로 효능이 있음을 입증하는 것이다.
- [0479] **결론:** HeLa 세포에서의 miR-106b의 표적화로부터, 완전히 LNA-변형되고 포스포로티올화된 8 mer LNA-항miR는 15-mer LNA/DNA 믹스머 LNA-항miR와 비교할 때 유사한 효능을 갖는다는 것을 알 수 있다.
- [0480] **재료 및 방법:**
- [0481] 세포주: 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa를 ECACC (#93021013)로부터 구입하였다. HeLa 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.
- [0482] 형질감염: 형질감염 전 날에, 96-웰 플레이트의 각각의 웰에 5,200개의 세포를 접종하여, 다음 날 50-70% 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일, HeLa 세포들을 제조자 (Invetrogen) 지침에 따라 0.14 µl 리포펙타민2000과 함께 57 ng miR-21 완전 매치/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공벡터를 이용하여 형질감염시켰다. 형질감염은 LNA-항miR의 농도를 변화시켜서도 수행하였다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위하여 세포들을 수확하였다.
- [0483] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS로 세척하고 30 µl 1 x 수동 용해 완충액 (Promega)을 각각의 웰에 첨가한 다음, 24-웰 플레이트를 오비탈 진탕기 상에서 30분간 처리하였다. 세포들을 수집하고 에펜도르프 튜브에 넣은 다음 10,000 rpm에서 30분간 스피닝 후, 제조자 지침(Promega)에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.
- [0484] **실시예 17. 완전히 LNA-변형된 8-mer (SEQ ID #3222) LNA-항miR에 의한 miR-19a의 길항**
- [0485] 짧은 LNA-항miR를 이용한 본 발명자들의 접근법을 다른 miRNAs에도 적용시킬 수 있는지 더 확인해보기 위하여, 본 발명자들은 마이크로RNA-19a에 대하여 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR를 설계하였다. miR-19a에 대한 완전 매치 표적 부위를 psiCHECK2 벡터 내 루시페라제 유전자의 3'-UTR 내로 클로닝시켰다. 이 리포터 플라스미드를 miR-19a를 표적화하는 여러가지 농도의 15-mer LNA-항miR (SEQ ID #3229) 또는 짧은 LNA-항miR (SEQ ID #3222)와 함께 인간의 자궁경부암종 HeLa 세포주 내로 형질감염시켰다. 24시간 후에 루시페라제 측정을 수행하였다.
- [0486] **결과:** 도 16에 도시된 바와 같이, HeLa 내로의 15-mer LNA-항miR SEQ ID #3229의 형질감염은 miR-19a를 효과적으로 길항시키는데, 이는 1 nM LNA-항miR 농도에서도 완전한 탈억제가 일어난 것에 의해서 입증된다. 이와 대조적으로, 8-mer LNA-항miR SEQ ID #3222에 의한 형질감염은 0.5 nM 농도에서도 효과적인 miR-19a 길항을 초래하였는데, 이는 이 8-mer LNA-항miR가 HeLa 세포에서 15-mer LNA-항miR와 적어도 동등한 효능을 갖는다는 것을 나타내는 것이다.
- [0487] **결론:** HeLa 세포에서의 miR-19a 표적화 결과, 완전히 LNA-변형되고 포스포로티올화된 8-mer LNA-항miR가 15-mer LNA/DNA 믹스머 LNA-항miR와 비교할 때 적어도 동등한 효능을 나타냄을 보여준다.
- [0488] **재료 및 방법:** 세포주: 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa를 ECACC (#93021013)로부터 구입하였다. HeLa 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.
- [0489] 형질감염: 형질감염 전 날에, 96-웰 플레이트의 각각의 웰에 5,200개의 세포를 접종하여, 다음 날 50-70% 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일, HeLa 세포들을 제조자 (Invetrogen) 지침에 따라 0.14 µl 리포펙타민2000 과 함께 57 ng miR-21 완전 매치/psiCHECK2, miR-21.mm2/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공벡터를 이용하여 형질감염시켰다. 형질감염은 LNA-항miR의 농도를 변화시켜서도 수행하였다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위하여 세포들을 수확하였다.
- [0490] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS로 세척하고 30 µl 1 x 수동 용해 완충액 (Promega)을 각각의 웰에 첨가한 다음, 24-웰 플레이트를 오비탈 진탕기 상에서 30분간 처리하였다. 세포들을 수집하고 에펜도르프 튜브에 넣은 다음 10,000 rpm에서 30분간 스피닝 후, 제조자 지침(Promega)에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.
- [0491] **실시예 18. 완전히 LNA-치환된 짧은 LNA-항miR을 이용한 마이크로RNA 패밀리 표적화.**

[0492] 다음으로, 본 발명자들은 모든 패밀리 멤버에 공통적인 씨드 서열과 상보적인 단일의 짧은 7-mer LNA-항miR를 이용함으로써 마이크로RNA 패밀리를 표적화하는 것이 가능한지를 조사하였다 (도 17 참조). 이 실험에서, 본 발명자들은 결장, 췌장, 전립선 및 위장의 고체 종양에서 과발현되는 R-221 및 miR-222에 초점을 맞추었다. miR-221 및 miR-222는 다형성 교모세포종에서 가장 현저하게 상향조절되는 마이크로RNA들이라는 것이 이미 알려져 있다. 뿐만 아니라, miR-221과 miR-222의 과발현은 적어도 부분적으로 종양 억제 단백질 p27을 차단함으로써, 전립선 암종의 성장 및 진행에 기여하는 듯 하다. miR-221 및 miR-222 두가지 모두에 대한 각각의 완전한 맷치 표적 부위를 루시페라제 유전자의 3'UTR 내로 클로닝시켜 2개의 리포터 구축물을 만들었다. 이어서, 이 구축물들을 각각 별도로 또는 조합하여, 전립선 암종 세포주인 PC3 내로 형질감염시켰다. miR-221 및 miR-222의 두가지 모두를 표적화하는 7-mer에 더하여, 본 발명자들은 miR-221 (SEQ ID #3223) 또는 miR-222 (SEQ ID #3224)를 표적화하는 15-mer LNA-항miR (15mer) 역시도 공형질전환시켰는데, 이들 각각은 단독으로 또는 함께 형질전환된다 (도 18 좌측 참고).

[0493] **결과:** 도 18로부터 알 수 있는 바와 같이, PC3 세포를 miR-221에 대한 LNA-항miR SEQ ID #3223으로 형질감염시키자 1 nM LNA-항miR 농도에서도 miR-221이 효과적으로 억제되었다. 또한, miR-222에 대한 루시페라제 리포터 플라스미드를 사용한 경우 뿐만 아니라, miR-221 및 miR-222에 대한 루시페라제 리포터 두가지 모두를 PC3 세포 내로 동시에 공형질감염시킨 경우에도 억제 효과가 관찰되었다. 이러한 억제 효과는 miR-221과 miR-222 간에 공통적인 씨드 서열에 기인하는 것일 가능성이 가장 크다. 마찬가지로, miR-222에 대한 루시페라제 리포터의 완전한 탈억제에 의해 나타나는 바와 같이, PC3 세포를 miR-222에 대한 LNA-항miR SEQ ID #3224로 형질감염시키자 1 nM LNA-항miR 농도에서도 miR-222가 효과적으로 억제되었다. 억제 효과는 miR-222에 대한 루시페라제 리포터 플라스미드를 사용한 경우 뿐만 아니라, miR-221과 miR-222에 대한 루시페라제 리포터 두가지 모두를 PC3 세포 내로 동시에 공형질감염시킨 경우에도 관찰되었다. miR-221과 miR-222 각각에 대한 LNA-항miR 화합물들인 SEQ ID #3223 및 SEQ ID #3224 두가지 모두를 이용한 공형질감염은, 두가지 모두의 miRNA를 효과적으로 억제하는 결과를 초래하였는데, 이는, PC3 세포내로 개별적으로 형질감염되거나 또는 공형질감염되는 두가지 모두의 경우에서 루시페라제 리포터 유전자의 완전한 탈억제가 일어나는 것으로부터 입증되는 바와 같다. 흥미롭게도, PC3 세포 내로 개별적으로 형질감염될 때 및 공형질감염될 때의 두가지 모든 경우에서 루시페라제 리포터 플라스미드가 완전히 탈억제되는 것에 의해 나타나는 바와 같이, miR-221과 miR-222의 씨드 서열을 표적화하는 단일의 완전히 LNA-변형된 7-mer LNA-항miR (SEQ ID #3225)을 PC3 세포 내로 형질감염시키자 투여량 의존 방식으로 효과적으로 miR-221과 miR-222를 길항시키는 것으로 나타났다. 이는, 단일의 짧은 LNA-치환된 LNA-항miR가 표적 씨드 서열을 효과적으로 표적화시킬 수 있음으로 해서, 마이크로RNA 패밀리 전체를 동시에 길항시킬 수 있음을 입증하는 것이다. miRBase 마이크로RNA 서열 데이터베이스의 분석 결과, LNA-항miR SEQ ID #3225의 miR-221/222 씨드 인식 서열은 두가지 miRNA 모두에 대하여 특이적인 것으로 나타났다.

[0494] **결론:** 본 발명자들의 상기 결과는 LNA를 이용함으로써 마이크로RNA 씨드 서열을 효과적으로 표적화할 수 있는, 완전히 LNA-치환된 짧은 LNA-항miR 올리고뉴클레오타이드를 디자인 합성할 수 있음으로 해서, 마이크로RNA 패밀리 전체를 동시에 길항시키는 것이 가능함을 입증하는 것이다.

[0495] **재료 및 방법:**

[0496] **세포주:** 인간의 전립선 암종 PC3 세포주를 ECACC (#90112714)로부터 구입하였다. PC3 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.

[0497] **형질감염:** 100,000 형질감염 전 날에 12-웰 플레이트의 각 웰 당 100,000개의 세포를 접종하여, 다음 날 50% 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일에, PC3 세포를 제조사 지침에 따라 (Invitrogen) 1.2 µl 리포펙타민 2000와 함께, miR-221 또는 miR-222에 대한 0.3 ug의 루시페라제 리포터 플라스미드 또는 대조군으로서 miRNA 표적 부위가 없는 psiCHECK2 공백터를 이용하여 형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 루시페라제 측정을 위해 수확하였다.

[0498] **실시예 19. 7-mer SEQ ID #3225 LNA-항miR에 의한 miR-221/222 패밀리의 길항성을 위한 기능성 판독값으로서의 p27 단백질 수준의 평가.**

[0499] 이전의 연구 결과 (le Sage 외 2007, Galardi 외 2007)로부터, miR-221 및 miR-222가 세포 순환 조절에 관여하는 종양 억제 유전자 p27를 전사후 (post-transcriptionally)적으로 조절하는 것으로 나타났다. 이러한 연구 결과, miR-221 및 miR-222를 하향 조절하면 p27의 발현 수준이 증가하는 것으로 나타났다. 따라서, 7-mer SEQ ID #3225 LNA-항miR에 의한 miR-221/222 패밀리의 길항성에 대한 기능성 판독값으로서, 본 발명자들은 8-mer LNA 미스맷치 대조군과 비교하여, PC3 세포 내로의 LNA-항miR SEQ ID #3225의 형질감염 후 p27의 단백질 수준을 측

정하였다. 24시간 후, 웨스턴 블랏 분석을 위해 세포들을 수확하였다 (도 19).

[0500] **결과:** 도 19에 도시된 바와 같이, miR-221 및 miR-222 중 씨드 서열을 표적화하는 7-mer LNA-항miR SEQ ID #3225을 형질감염하면 형질감염되지 않거나 또는 LNA 미스매치 대조군에 의해 형질감염된 PC3 세포에 비해 p27 단백질 수준이 투여량 의존적으로 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 7-mer LNA-항miR이 miR-221/222 패밀리를 효과적으로 길항함으로써, 직접 표적인 p27을 단백질 수준에서 탈억제함을 명백히 입증해주는 것이다.

[0501] **결론:** miR-221/222 패밀리 중 씨드 서열을 표적으로 하는 완전히 변형된 7-mer LNA-항miR는 상기한 miRNA 두가지 모두를 효과적으로 길항시켜 직접 표적 p27를 단백질 수준에서 탈억제시켰다.

[0502] **재료 및 방법:**

[0503] **세포주:** 인간의 전립선 암종 PC3 세포주를 ECACC (#90112714)로부터 구입하였다. PC3 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.

[0504] **형질감염:** 형질감염 전 날에 6-웰 플레이트의 각각의 웰에 250,000개의 세포를 접종하여 다음 날 50% 컨플루언시에 도달하게 하였다. 형질감염 당일에, PC3 세포들을 리포펙타민2000과 함께 여러가지 농도의 LNA-항miR들로 형질감염시켰다. 24시간 후 단백질 추출 및 웨스턴 블랏 분석을 위해 세포들을 수확하였다.

[0505] **웨스턴 블랏:** 세포들을 PBS로 세척하고 트립신화 한 다음, 에펜도르프 튜브에 넣고 250 µl 용해 완충액 (1xRIPA)을 첨가하였다. 세포 용해물을 얼음 위에서 20 분간 유지시킨 다음, 10,000 rpm에서 10분간 스피닝시켰다. 제조사 지침에 따라 쿠마씨 플러스를 이용하여 단백질 농도를 측정하고 100 ug을 4-12% BIS-TRIS 젤 상에 로딩시켰다. 막을 4°C에서 일차 모노클로날 마우스 항체 p27 (BD Biosciences)과 함께 1:1000의 희석 비율로 인큐베이션시켰다. 면역반응성 밴드를 ECL Plus (Amersham)을 이용하여 시각화시켰다.

[0506] **실시예 20. LNA-항miR의 듀플렉스 용점 (T_m).**

[0507] 표 5에 나타난 바와 같이, T_m 값은 완전히 변형된 짧은 LNA-항miR의 길이가 증가함에 따라 같이 증가한다 (표 7의 SEQ ID #3205, SEQ ID #3209-3214에 대한 T_m 값 참조). 대부분의 최적 억제 효과는 miR-21에 대한 8-mer LNA-항miR SEQ ID #3205의 경우 획득된 반면, 6-mer SEQ ID #3209의 극히 낮은 T_m은 miR-21 표적의 길항을 매개시키기에 가장 불충분한 것으로 보인다. 한편, 길이를 10-mer (SEQ ID #3212) 이상 증가시키자 T_m이 크게 증가하는 반면, 루시페라제 miR-21 리포터를 이용하여 측정되는 바와 같이 억제 활성은 크게 감소하였는데, 이는 완전히 변형된 12- 및 14-mer LNA-항miR들이 호모다이머를 형성하려는 강한 성향에 기인하는 것일 가능성이 가장 크다. miR-21 인식 서열에 걸친 완전히 변형된 8-mer LNA-항miR의 슬라이딩 창을 이용한 실험 결과는 LNA-항miR의 적절한 T_m 값에 더해서, 씨드 영역이 miRNA 기능에 가장 중요하다는 것과, 그에 따라 씨드 영역이 LNA-항miR에 의해 표적화되는데 최적의 영역이라는 것을 명백히 입증해준다.

표 5: 상보적인 RNA 올리고뉴클레오타이드에 대하여 측정된, miR-21 LNA-항 miR 에 대한 T_m 값

SEQ ID #	마이크로 RNA	길이 (bp)	서열	측정된 T _m (RNA) °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

[0508]

- [0509] **결론:** T_m 값은, 루시페라제 리포터를 이용하여 얻은 실험 결과와 더불어서 along with experimental data obtained with s show that potent antagonism by LNA-항miR에 의한 강력한 길항성은 T_m 에 의존할 뿐만 아니라, 마이크로RNA 인식 서열 내에서의 LNA-항miR의 위치 선정에도 의존함을 보여준다.
- [0510] **재료 및 방법:**
- [0511] T_m 측정: 올리고뉴클레오타이드:miR-21 RNA 듀플렉스를 500 μ l RNase 유리 H_2O 중에서 3 μ M이 되도록 희석하고 500 μ l 2x T_m -완충액 (200 mM NaCl, 0.2 mM EDTA, 20 mM Na-포스페이트, pH 7.0)과 함께 혼합하였다. 이 용액을 95°C에서 3분간 가열한 다음 RT에서 30분간 어닐링시켰다. 이 듀플렉스의 용점 (T_m)을 PE Templab 소프트웨어 (Perkin Elmer)를 이용하여 펠티에 온도 프로그래머 PTP6이 구비된 Lambda 40 UV/VIS 스펙트로포토미터 상에서 측정하였다. 온도를 20°C에서 95°C로 승온시킨 다음 25°C로 내리고, 260 nm에서의 흡수도를 기록하였다. 멜팅 및 어닐링 두가지 모두의 제1 편차 및 국소 최대치를 이용하여 듀플렉스 용점을 평가하였다.
- [0512] **실시예 21. 인간 간세포 세포주 HepG2에 있어서의 8-mer (SEQ ID #3205) 대 15-mer (SEQ ID #3204) LNA-항miR 비교에 의한 miR-21 길항성의 평가.**
- [0513] 본 발명자들은 본 출원에서 완전히 LNA-변형되고 포스포로티올화된 8-mer LNA-항miR이 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa, 인간의 유방암종 세포주 MCF-7 및 인간 전립선암 세포주 PC3에서 miR-21을 효과적으로 길항시킨다는 것을 앞서 설명한 바 있다. 본 발명자들은 이러한 스크리닝 접근법을 인간 간세포 암세포주 HepG2로 연장하였다. miR-21에 대한 8-mer LNA-항miR 올리고뉴클레오타이드의 효능을 평가하기 위하여, 성숙한 miR-21에 대한 완전 매트치 표적 부위가 레닐라 루시페라제 유전자의 3'UTR 내로 클로닝된, 루시페라제 리포터 구축물을 제작하였다. miR-21 억제를 모니터링하기 위해, HepG2 세포들을 miR-21 안타고니스트 SEQ ID #3205 (8-mer)와 함께 루시페라제 구축물로 형질감염시키고, 특이성 비교를 위해 8-mer LNA-항miR 미스매치 (SEQ ID #3218)와 함께, 그리고 효능 비교를 위해, 15-mer (SEQ ID #3204)와 함께 이들의 농도를 달리하면서 형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 활성을 측정하였다.
- [0514] **결과:** 루시페라제 리포터 실험 결과, miR-21에 대한 15-mer LNA-항miR (SEQ ID #3204)의 경우 투여량 의존 방식으로 루시페라제 miR-21 리포터 활성이 탈억제되는 것으로 나타났다. 그러나, 최고 농도에서조차 루시페라제 리포터의 완전한 트탈억제는 관찰되지 않았다 (도 20). 이와 대조적으로, 8-mer 완전히 LNA 변형된LNA-항miR (SEQ ID #3205)는 5 nM에서도 완전한 탈억제를 보였는데, 이는, 15-mer LNA-항miR와 비교할 때 현저한 강도 향상을 가리키는 것이다. 8-mer 완전 매트치를 8-mer 미스매치와 비교하면, 미스매치 LNA-항miR (SEQ ID #3218)은 탈억제를 전혀 나타내지 않았는데, 이는 miR-21에 대한 LNA-항miR 화합물의 높은 특이성을 입증하는 것이다.
- [0515] **결론:** miR-21을 표적화하는데 있어서, 8-mer (SEQ ID #3205)는 15-mer LNA-항miR보다 더 강력하고, SEQ ID #3205에 의한 miR-21의 길항성은 특이적이다.
- [0516] **재료 및 방법:**
- [0517] 세포주: 인간의 간세포 HepG2 세포주를 ECACC (#85011430)로부터 구입하였다. HepG2 세포들을 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.
- [0518] 형질감염: 6-웰 플레이트의 각 웰마다 650,000개의 세포들을 접종하고, 역형질감염 (reverse transfection)을 실시하였다. HepG2 세포를 제조자 (Invetrogen) 지침에 따라, 2.55 μ l 리포펙타민2000과 함께, 0.6 μ g miR-21 또는 psiCHECK2 공백터로 형질감염시켰다. LNA-항miR의 농도를 달리하면서 형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포들을 수확하였다.
- [0519] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS로 세척하고 300 μ l 1x 수동 용해 완충액 (Promega)을 웰에 첨가하였다. 플레이트를 진탕기 상에서 30분간 진탕시킨 다음, 세포 용해물을 에펜도르프 튜브에 담았다. 세포 용해물을 2,500 rpm에서 10분간 원심분리시킨 후, 50 μ l를 96 웰 플레이트에 넣고 제조자 (Promega) 지침에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.
- [0520] **실시예 22. 인간의 간암세포 세포주 Huh-7에 있어서 8-mer SEQ ID #3205 LNA-항miR를 이용함에 따른, Pdc4 3'UTR 중의 miR-21 표적 부위와 miR-21과의 상호반응 검정.**
- [0521] 중앙 억제자 단백질 Pdc4는 중앙 성장 및 진행을 억제한다. 나아가, 폐암과 직장결장암에서의 Pdc4의 하향 조절은 환자의 나쁜 예후와 연관이 있다. 최근, Asangani 등 (Oncogene 2007) 및 Frankel 등 (J Biol Chem 200

8)은 Pdc4 3'UTR이 miR-21에 대한 보존된 표적 부위를 함유함으로써, 항miR-21로 세포를 형질감염시킬 경우 Pdc4 단백질이 증가한다는 것을 보여준 바 있다. 본 발명자들은 따라서 전술한 miR-21 표적 부위를 포괄하는 Pdc4의 3'UTR 영역의 313 nt를 산생하는, 루시페라제 리포터 플라스미드를 구축하고, 이를 여러가지 LNA-항miRs 및 pre-miR-21 (10 nM)와 함께 Huh-7 세포 내로 공형질감염시켰다. 이들 여러가지 LNA-항miR들은: SEQ ID #3205 (8-mer, 퍼펙트 매치), SEQ ID #3218 (8-mer, 미스매치) 및 SEQ ID #3204 (15-mer, DNA/LNA 믹스머)였다. 루시페라제 측정은 24시간 후에 실시하였다.

[0522] **결과:** 도 21에 도시된 바와 같이, Pdc4 3'UTR 루시페라제 리포터 및 SEQ ID #3205로 형질감염된 세포의 경우, 루시페라제 활성이 증가된 것으로 관찰되었는데, 이는 Pdc4 3'UTR과 miR-21 간의 상호반응을 가리키는 것이다. 그러나, 세포를 미스매치 화합물인 SEQ ID #3218로 형질감염시킨 경우에는, 루시페라제 활성에 아무런 변화도 관찰되지 않았으며, 이는, 이 화합물이 miR-21을 길항하지 않은 사실로부터도 예견된 것이었다. 8-mer LNA-항miR를 15-mer LNA-항miR (SEQ ID #3204)와 비교하면, 완전히 LNA-변형되고 포스포로티올화된 짧은 LNA-항miR이 훨씬 더 강한 활성을 나타내는 것으로 나타나서, 전술한 데이터를 뒷받침하였다.

[0523] **재료 및 방법:**

[0524] **세포주:** 인간의 간암종 세포주 Huh-7를 R. Bartinschlager (Dept Mol Virology, University of Heidelberg)로부터 기증받았다. 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 Huh-7 세포를 배양하였다.

[0525] **형질감염:** 형질감염 전 날에 96-웰 플레이트의 각 웰 당 11,000개의 세포를 접종하여 다음 날 50-70% 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일에, Huh-7 세포를, 제조자 지침에 따라 (Invitrogen) 0.14 μ l 리포펙타민 2000과 함께 20 ng Pdc4 3'UTR/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공백터로 형질감염시켰다. LNA-항miR 올리고뉴클레오타이드를 변화시키면서도 형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포들을 수확하였다.

[0526] **루시페라제 분석:** 세포들을 세척하고 30 μ l 1 x 수동 용해 완충액 (Promega)을 각각의 웰에 첨가한 후, 96-웰 플레이트를 오비탈 진탕기에서 진탕시켰다. 30분 후, 루시페라제 분석용 완충액 II (Dual-루시페라제 리포터 분석 시스템, Promega, Cat# E1910)에 용해시킨 50 μ l 루시페라제 기질을, 용해된 세포들과 함께 α 우웨웰at에 첨가하고 제조자 지침에 따라 (Promega) 루시페라제 측정을 수행하였다.

[0527] **실시예 23. 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3205)에 의한 miR-21 길항성의 기능적 판독값으로서의 Pdc4 단백질 수준의 평가.**

[0528] 또한, 본 발명자들은 HeLa 세포를 SEQ ID #3205 (퍼펙트 매치), SEQ ID #3218 (미스매치), SEQ ID #3219 (스크램블형)으로 형질감염시키고, 24 시간 후, 웨스턴 블랏을 이용하여 Pdc4 단백질 수준을 분석하였다 (도 22). 도시된 바와 같이, SEQ ID #3205가 첨가된 세포로부터의 단백질 추출물에서는 두개의 대조군 LNA 올리고뉴클레오타이드와는 대조적으로 SEQ ID #3205에 의한 miR-21의 길항성으로 인하여, Pdc4 단백질 수준이 증가한다.

[0529] **결론:** 8-mer (SEQ ID #3205)를 이용한 miR-21의 길항성은 miR-21의 직접 표적 Pdc4 길항성의 탈억제를 초래한다.

[0530] **재료 및 방법:**

[0531] **세포주:** 인간의 자궁경부암종 세포주 HeLa를 ECACC (#93021013)로부터 구입하였다. HeLa 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.

[0532] **형질감염:** 형질감염 전 날에 6-웰 플레이트의 각 웰에 200,000개의 세포들을 접종하여 그 다음 날 50-70% 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일, HeLa 세포들을 제조자 지침에 따라, 5 nM LNA 올리고뉴클레오타이드와 2.5 μ g/ml 리포펙타민 2000 (Invitrogen)으로 형질감염시켰다. 24시간 후, 세포들을 웨스턴 블랏 분석법을 실시하기 위해 수확하였다.

[0533] **웨스턴 블랏:** 세포들을 PBS로 세척하고, 트립신화시킨 다음, 에펜도르프 튜브에 넣고 50 ml 용해 완충액 (1xRIPA)을 첨가하였다. 세포 용해물을 얼음 위에 20분간 정치시킨 다음, 10,000에서 10분간 원심분리시켰다. 동량 (15 ml 세포 용해물)을 4-12% BIS-TRIS 겔 상에 로딩시켰다. 제조자 지침에 따라, iBlot (Invitrogen)을 이용하여 단백질을 니트로셀룰로소막에 이동시켰다. 상기 막을 4°C에서 일차 친화 정제된 토끼의 혈청 항체 Pdc4 (Rockland)와 함께 1:2000 농도로 밤새 인큐베이션시켰다. 대조군으로서, 항베타 튜블린 항체 (Thermo Scientific)를 1:5000배로 희석한 것을 사용하였다. 면역반응성 밴드를 ECL Plus (Amersham)를 이용하여 시각

화시켰다.

[0534] 실시예 24. 8-mer 퍼펙트 매치 LNA-항miR SEQ ID #3205 및 LNA 미스매치 대조군 SEQ ID #3218의 잠재적인 간독성 평가.

[0535] 각각의 화합물을 2주일 동안 하루 걸러, 25 mg/kg, 5 mg/kg 및 1 mg/kg의 투여량으로 암컷 NMRI 마우스에게 주사하였다. ALT 및 AST 분석을 위해 이 동물들을 희생시켜서 전혈로부터 혈청을 수집하였다. 도 23에 도시된 바와 같이, ALT 및 AST 수준은 염수나 또는 SEQ ID #3218 (미스매치 대조군)과 비교할 때, SEQ ID #3205의 경우 상승하지 않았다. 그러나, 마우스들중 한마리에서는 그 수준이 증가되었는데, 이는, 혈장에 비해 ALT와 AST를 6-8배 더 고농도로 함유하는 적혈구 세포에 의해 그 혈청 샘플이 오염되었기 때문이었다. 5 mg/kg 및 1 mg/kg의 양을 투여받은 마우스들에 대해서도 ALT 및 AST 수준을 분석하였는데, 염수처리 대조군 동물과 비교할 때 아무런 변화도 나타내지 않았다 (데이터 제시하지 않음).

[0536] 재료 및 방법:

[0537] 실험 디자인:

실험 디자인:

Gr. no.	동물 IDno.	마우스의 No.	화합물 1일 투여량	투여용량 당 농도. 10 ml/ kg	투여 경로	투여
1	1 - 10	10	NaCl 0.9%	-	i.v	0, 2, 4, 7, 9
2	11-15	5	SEQ ID # 3205 25mg/kg	2.5mg/ml	i.v	0, 2, 4, 7, 9
3	16-20	5	SEQ ID # 3205 5mg/kg	0.5mg/ml	i.v	0, 2, 4, 7, 9
4	21-25	5	SEQ ID # 3205 1mg/kg	0.1mg/ml	i.v	0, 2, 4, 7, 9
5	26-30	5	SEQ ID # 3230 25mg/kg	2.5mg/ml	i.v	0, 2, 4, 7, 9
6	31-35	5	SEQ ID # 3230 5mg/kg	0.5mg/ml	i.v	0, 2, 4, 7, 9

[0538]

[0539] 희생: 동물은 경부 탈구에 의해 희생시켰다.

[0540] ALT/AST용 혈청 채취: 동물들을 70% CO₂-30% O₂로 마취시킨 다음 눈뒤굴 혈액 (retro orbital sinus blood)을 채취하였다. 혈액을 S-모노벳 혈청-젤- 바이알 내로 수집하였다. 혈청 샘플을 수확하고 각각의 개별적인 마우스로부터 저장하였다. 혈액 샘플을 실온에서 2시간 보관한 후 실온에서 10분간, 3,000 rpm에서 원심분리시켰다. 혈청 분획을 젖은 얼음 상에서 에펜도르프 튜브 내로 수확하였다.

[0541] ALT 및 AST 측정: 제조사 지침에 따라, ABX Pentra (A11A01627-ALT, A11A01629-AST)사의 ALT 및 AST 시약을 이용하여 96-웰 플레이트에서 ALT 및 AST 측정을 실시하였다. 요약하면, 혈청 샘플을 H₂O를 이용하여 2.5배로 희석하고 각각의 샘플을 두번씩 분석하였다. 각각의 웰에 50 µl의 희석 샘플 또는 표준품 (ABX Pentra사의 멀티칼 - A11A01652)을 첨가한 후, 37°C에서 200 µl의 AST 또는 ALT 시약 혼합물을 각각의 웰에 첨가하였다. 37°C, 340 nm에서 30초 간격으로 동력학을 5분간 측정하였다.

[0542] 실시예 25. 짧은 LNA-항miR (SEQ ID #3207)에 의한 miR-155 길항성에 대한 기능 관독값으로서의 PU.1 단백질 수준의 평가.

[0543] 본 발명자들은 miR-155를 길항하는 8-mer (SEQ ID #3207)가 마우스의 대식세포 RAW 세포에서 miR-155 표적 c/EBP베타를 탈억제한다는 것을 설명한 바 있다. SEQ ID #3207의 효능을 추가로 입증하기 위해, 본 발명자들은 또 다른 miR-155 표적인 PU.1의 단백질 수준을 측정하였다. 짧은 LNA-항miR (SEQ ID #3207)에 의한 miR-155 길항성의 기능적 관독을 위해, 본 발명자들은 웨스턴 블랏을 실시하였다. pre-miR-155의 존재 또는 부재 하에, 8-mer (SEQ ID #3207) 완전 매치 또는 8-mer 대조군 LNA 중 어느 하나로 형질감염된 인간의 단핵구 THP-1 세포주에서 길항성을 확인하였다. LPS를 이용하여 miR-155 축적을 유도하고 세포들을 24시간 후에 수확하였다.

- [0544] **결과:** pre-miR-155로 형질감염된 THP-1 세포들은 PU.1 수준이 감소된 것으로 나타났다 (도 24). 완전히 LNA-변형되고 포스포포티올화된 SEQ ID #3207에 의해 세포를 형질감염시킬 경우 miR-155를 효과적으로 길항시킴으로써, PU.1 단백질 수준이 비변하지 않는 것으로 나타났다. 비교를 위해, 세포들을 8-mer LNA 대조구으로 형질감염시키자, PU.1 수준이 감소하였는데, 이는, SEQ ID #3207 LNA-항miR에 의한 miR-155의 길항성이 특이적임을 가리키는 것이다.
- [0545] **결론:** Antagonism 8-mer를 이용한 miR-155의 길항성은 인간 THP-1 세포에 있어서, 직접 표적 PU.1의 탈억제를 결과시킨다.
- [0546] **재료 및 방법:**
- [0547] **세포주:** 인간의 단핵구 THP-1 세포주를 ECACC (#88081201)로부터 구입하였다. THP-1 세포들을 L-글루타민, 10% 소의 태아 혈청이 보강된 RPMI에서 배양하였다.
- [0548] **형질감염:** 형질감염 전 날, 12-웰 플레이트의 각 웰에 200,000개의 세포를 접종하였다. 형질감염 당일, 제조자 지침에 따라 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께, THP-1 세포들을 5 nmol pre-miR-155 (Ambion) 및/또는 5 nM LNA-항miR을 이용하여 형질감염시켰다. 형질감염 복합체와 함께 4 시간 인큐베이션시킨 후, LPS (100 ng/ml)를 세포에 첨가하였다. 24시간 후, 단백질 추출 및 웨스턴 블랏 분석을 위하여 세포들을 수확하였다.
- [0549] **웨스턴 블랏:** 세포를 PBS로 세척하고, 트립신화시킨 다음 에펜도르프 튜브에 넣고 50 μ l 용해 완충액 (1xRIPA A)을 첨가하였다. 세포 용해물을 얼음 상에서 20분간 유지시키고 10,000 rpm에서 10분간 스피닝시켰다. 동량 (15 ml 세포 용해물)을 4-12% BIS-TRIS 겔 상에 로딩시켰다. 단백질을 제조자 지침에 따라 iBlot (Invitrogen)을 이용하여 니트로셀룰로스 막에 옮겼다. 이 막을 4°C에서 토끼의 모노클로날 PU.1 항체 (Cell Signaling)와 함께 1:2000 농도로 인큐베이션시켰다. 동량의 튜블린 (Thermo Scientific)을 1:5000 희석액으로서 로딩시켰다. 면역 반응성 밴드를 ECL Plus (Amersham)를 이용하여 시각화시켰다.
- [0550] **실시예 26. 7-mer SEQ ID #3225 LNA-항miR에 의한 miR-221/222 패밀리의 길항성에 대한 기능적 판독값으로서의 p27 단백질 수준의 평가**
- [0551] 이전의 연구 결과 (Le Sage 외 2007, Galardi 외 2007)로부터, miR-221 및 miR-222가 세포 순환 조절에 관여하는 종양 억제 유전자 p27를 전사후 (post-transcriptionally)적으로 조절하는 것으로 나타났다. 이러한 연구 결과, miR-221 및 miR-222를 하향 조절하면 p27의 발현 수준이 증가하는 것으로 나타났다. 따라서, 7-mer SEQ ID #3225 LNA-항miR에 의한 miR-221/222 패밀리의 길항성에 대한 기능성 판독값으로서, 본 발명자들은 PC3 세포 내로의 LNA-항miR SEQ ID #3225의 형질감염 후 p27의 단백질 수준을 측정하였다.
- [0552] **결과:** 도 25에 도시된 바와 같이, miR-221 및 miR-222의 씨드 서열을 표적화하는 7-mer LNA-항miR SEQ ID #3225을 형질감염하면, 형질감염되지 않거나 또는 본 발명자들의 LNA 스크램블형 대조군에 의해 형질감염된 PC3 세포에 비해 p27 단백질 수준이 투여량 의존적으로 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 7-mer LNA-항miR이 miR-221/222 패밀리를 효과적으로 길항함으로써, 5 nM의 적은 농도에서도, 직접 표적인 p27을 단백질 수준에서 탈억제함을 명백히 입증해주는 것이다.
- [0553] **결론:** miR-221/222 패밀리를 씨드 서열을 표적으로 하는 완전히 LNA-변형된 7-mer LNA-항miR는 5 nM에서도, 두가지 모두의 miRNA를 효과적으로 길항시켜 직접 표적 p27를 단백질 수준에서 탈억제시켰다.
- [0554] **재료 및 방법:**
- [0555] **세포주:** 인간의 전립선 암종 PC3 세포주를 ECACC (#90112714)로부터 구입하였다. PC3 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타민 및 25 μ g/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.
- [0556] **형질감염:** 형질감염 전 날에 6-웰 플레이트의 각각의 웰에 250,000개의 세포를 접종하여 다음 날 50% 컨플루언시에 도달하게 하였다. 형질감염 당일에, PC3 세포들을 리포펙타민2000과 함께 여러가지 농도의 LNA-올리고뉴클레오타이드들로 형질감염시켰다. 24시간 후 단백질 추출 및 웨스턴 블랏 분석을 위해 세포들을 수확하였다.
- [0557] **웨스턴 블랏:** 세포들을 PBS로 세척하고 트립신화 한 다음, 에펜도르프 튜브에 넣고 50 μ l 용해 완충액 (1xRIPA)을 첨가하였다. 세포 용해물을 얼음 위에서 20 분간 유지시킨 다음, 10,000 rpm에서 10분간 스피닝시켰다. 동량 (15 μ l 세포 용해물)을 4-12% BIS-TRIS 겔 상에 로딩시켰다. 제조자 지침에 따라 iBlot (Invitrogen)을 이용하여 니트로셀룰로스 막에 단백질을 옮겼다. 막을 4°C에서 일차 모노클로날 마우스 항체 p27 (BD Biosciences)과 함께 1:1000의 희석 비율로 인큐베이션시켰다. 로딩 대조군으로서, 튜블린 (Thermo

Scientific)을 1:50000 희석 배수로 이용하였다. 면역반응성 밴드를 ECL Plus (Amersham)을 이용하여 시각화시켰다.

[0558] **실시예 27. 7-mer SEQ ID #3225 LNA-항miR에 의한 miR-221/222의 녹-다운은 PC3 세포의 콜로니 형성을 감소시킨다.**

[0559] 종양 세포가 반고체 배지에서 비부착증식 방식으로 증식하면 세포의 형질전환이 잘 일어났다는 증거이다. 본 발명자들은 따라서 암에 적합한 표현형 분석인 연결 한천 분석을 실시하였다 (이 방법이 종양 세포 감소를 측정함을 전체로 함). 본 발명자들은 SEQ ID #3225 (완전 매트) 및 SEQ ID #3231 (스크램블형)을 PC3 세포 내로 형질감염시키고 24시간 후 세포를 연결 한천 상에 도말하였다. 12일 후 콜로니 수를 세었다. 본 발명자들은 도 26에서 SEQ ID #3225에 의한 miR-221 및 miR-222의 억제에 대조군 LNA-항miR에 비해 연결 한천에서 증식하는 콜로니 갯수를 감소시킬 수 있음을 입증하였는데, 이는, 종양 세포가 감소하였음을 가리키는 것이다..

[0560] **결론:** miR-221/222 패밀리를 표적으로 하는 7-mer (SEQ ID #3225)는 연결 한천 상에서 콜로니 수를 감소시키는 데, 이는 PC3 세포의 증식 억제를 가리키는 것이다.

[0561] **재료 및 방법:**

[0562] 세포주: 인간 전립선암종 PC3 세포주를 ECACC (#90112714)로부터 구입하였다. PC3 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.

[0563] 형질감염: 형질감염 전 날에 6-웰 플레이트의 각각의 웰에 250,000개의 세포를 접종하여 다음 날 50% 컨플루언시에 도달하게 하였다. 형질감염 당일에, PC3 세포들을 리포펙타민2000과 함께 25 nM의 상이한 LNA-올리고뉴클레오타이드들로 형질감염시켰다.

[0564] 연결 한천 상에서의 클론 성장: 0.5% 한천을 함유하는 기저층 상부의 0.35% 한천에 2.5×10^3 개의 PC3 세포를 접종하였다. 형질감염 24시간 후에 세포를 도말하였다. 플레이트를 가슴 인큐베이터 중 37°C, 5% CO₂에서 12일간 인큐베이션시킨 다음 0.005% 크리스탈 바이올렛으로 1시간 염색시킨 후, 세포를 계수하였다. 분석은 3번 실시하였다.

[0565] **실시예 28: let-7a 전구체 miRNA으로 형질감염된 Huh-7 세포에 있어서의 6-9-mer LNA-항miRs에 의한 let-7 길항성 평가 및 루시페라제 센서 분석.**

[0566] 완전히 LNA-변형된 6-9-mer 올리고뉴클레오타이드가 miRNA의 let-7 패밀리를 표적화 및 길항시키는 능력을 평가하기 위하여, HMG2 3'UTR의 800 bp를 함유하는 루시페라제 센서 구축물을 제작하였다. 벡터 내로 클로닝된 서열은 Mayr 등과 (Science, 2007) Lee 및 Dutta (Genes Dev, 2007)에 의해 이미 입증된 바와 같이, 7개의 기능성 let-7 결합 부위 (부위 2-5) 중 4개를 함유한다. let-7 억제를 모니터링하기 위해, 간세포 암종 세포주 Huh-7 (내인성 let-7이 거의 또는 전혀 존재하지 않음)를 루시페라제 센서 구축물, let-7a 전구체 miRNA, 및 6-9 mer let-7 안타고니스트 SEQ ID #3232, -3233, -3227, -3234, -3235; 도 27 참조)로 농도를 증가시키면서 형질감염시켰다. 6-9-mer LNA-항miR는 SEQ ID #3226와 대조하고, 15-mer는 양성 대조군으로서 let-7a와 비교하였다. 24시간 후, 루시페라제 활성을 측정하였다.

[0567] **결과:** 도 28에 도시된 바와 같이, 완전히 LNA-변형된 8- 및 9-mer LNA-항miRs (SEQ ID #3227, SEQ ID #3234, 및 SEQ ID #3235)는 루시페라제 센서 분석에서 let-7 표적을 탈억제시키는데 있어서, 양성 대조군인 15-mer SEQ ID #3226과 유사한 효능을 나타내었다. 이들 고강도 화합물의 완전한 표적 탈억제는 1-5 nM의 저농도에서 달성된 반면, 7-mer SEQ ID #3233은 동일한 효과를 달성하기 위해서는 좀 더 높은 농도 (10 nM)를 필요로 하였다. 그러나, 6-mer SEQ ID #3232는 50 nM라는 고농도에서도 효과를 보이지 않았다. 7-9- 및 15-mer LNA-항miR에 의한 루시페라제 활성의 탈억제는 투여량 의존적이며, 이는, 특히 강도가 좀 낮은 SEQ ID #3233에서 더욱 자명하다.

[0568] **결론:** 결론적으로, 8-9-mer LNA-항miRs (SEQ ID #3227, SEQ ID #3234, 및 SEQ ID #3235)은 let-7a를 표적화하는 15-mer LNA-항miR SEQ ID #3226와 비교할 때, 시험관 내에서 let-7a를 억제하는데 있어서 동등한 길항 효능을 나타낸다. 7-mer SEQ ID #3233의 경우 약간 높은 농도에서 강력한 효과가 나타난 반면 6-mer는 시험 농도에서 전혀 효과를 나타내지 않는다.

[0569] **재료 및 방법:**

[0570] 세포주: 간세포암종 세포주 Huh-7를 R. Bartinschlager (Dept Mol Virology, University of Heidelberg)로부

터 기증받았다. Huh-7 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.

- [0571] 형질감염: 형질감염 전 날에 96-웰 플레이트의 각각의 웰에 8,000개의 세포를 접종하여 다음 날 60-80%의 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일, 각각의 웰에 들어 있는 Huh-7 세포들을 제조자 지침에 따라 0.17 μ l 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께, 20 ng HMG2 3'UTR/psiCHECK2 플라스미드, let-7a 전구체 miRNA (Dharmacon; 10 nM 최종 농도), LNA-항miRs SEQ ID #3232, -3233, -3227, -3234, -3235, -3226; 0-50 nM 최종 농도)로 형질감염시켰다. 24 시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포들을 수확하였다.
- [0572] 루시페라제 분석: 증식용 배지를 폐기하고 30 μ l 1x 수동 용해 완충액 (Promega)을 각 웰에 첨가하였다. 오비탈 진탕기 상에서 15-30분간 인큐베이션시킨 후, 제조자 지침에 따라 (Promega) 레닐라 및 파이어플라이 루시페라제를 측정하였다.
- [0573] **실시예 29: 형질감염된 Huh-7 세포에 있어서 8-, 및 15-mer LNA-항miR에 의한 전체 let-7 패밀리 길항성의 루시페라제 센서 분석을 이용한 평가**
- [0574] miRNA의 전체 let-7 패밀리를 길항하는데 있어서의 완전히 LNA-변형된 8-mer 올리고뉴클레오타이드의 효능을 평가하기 위하여, 전술한 실시예에서 설명된 것과 동일한 루시페라제 센서 구축물을 사용하였다. 이 실시예에서도, Huh-7 세포 (내인성 let-7을 거의 또는 전혀 갖지 않음)를 센서 구축물, 패밀리를 대표하는 let-7a, let-7d, let-7e, 또는 let-7i 전구체들 중 하나, 및 안타고니스트 SEQ ID #3227를 사용하여 이들의 농도를 증가시키면서 형질감염시켰다. 양성 및 강력 대조군으로서 8-mer LNA-항miR은 SEQ ID #3226와 비교하고, 15-mer는 let-7a와 비교하였다. 24시간 후, 루시페라제 활성을 측정하였다.
- [0575] **결과**: 도 29에 도시된 바와 같이, 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miRs (SEQ ID #3227)은 루시페라제 센서 분석에 있어서 다양한 let-7 표적을 탈억제시키는데 있어서 양성 대조군인 15-mer SEQ ID #3226와 유사한 강도를 나타내었다. SEQ ID #3227의 8개의 뉴클레오타이드 중 7개만이 표적에 하이브리다이징한 let-7e premiR (도 29C)의 경우를 제외하고, 8-mer의 경우 0.5-1 nM의 저농도에서 거의 완전한 표적의 탈억제가 달성된다. 그러나, 이 경우 말단 미스매치에도 불구하고, SEQ ID #3227은 5 nM에서도 완전한 표적 탈억제를 나타낸다. 양성 대조군 15-mer는 모든 전구체를 강력하게 길항시키며 0.5 nM에서도 표적을 완전히 탈억제시킨다. 4개의 패밀 모두로부터 알 수 있는 바와 같이 (도 29A-D), 8- 및 15-mer LNA-항miR의 두가지 모두에 의한 루시페라제 활성의 탈억제는 명백히 투여량 의존적이다.
- [0576] **결론**: 결론적으로, 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3227)은 시험관내에서 4개의 대표적인 let-7 패밀리 멤버에 대한 강한 안타고니스트이며, 따라서, 패밀리 전체에 대하여도 길항 작용을 나타낼 것으로 여겨진다. 15-mer 양성 대조군 안타고니스트 SEQ ID #3226와 비교할 때, 8-mer인 SEQ ID #3226은 4개의 표적 중 3개에 대해서는 동등한 강도를 나타내나 4번째 표적인 let-7e에 대하여는 강도가 덜한데, 이는 말단 미스매치에 의해 설명된다.
- [0577] **재료 및 방법**:
- [0578] 세포주: 간암종 세포주 Huh-7를 R. Bartinschlager (Dept Mol Virology, University of Heidelberg)로부터 기증받았다. Huh-7 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.
- [0579] 형질감염: 형질감염 전 날에 96-웰 플레이트의 각각의 웰에 8,000개의 세포를 접종하여 다음 날 60-80%의 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일, 각각의 웰에 들어 있는 Huh-7 세포들을 제조자 지침에 따라 0.17 μ l 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께, 20 ng HMG2 3'UTR/psiCHECK2 플라스미드, let-7a, -7d, -7e, 또는 -7i 전구체 miRNA (Dharmacon; 10 nM 최종 농도) 및 LNA-항miRs SEQ ID #3227 및 SEQ ID#3226 (0-50 nM 최종 농도)로 형질감염시켰다. 24 시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포들을 수확하였다.
- [0580] 루시페라제 분석: 증식용 배지를 폐기하고 30 μ l 1x 수동 용해 완충액 (Promega)을 각 웰에 첨가하였다. 오비탈 진탕기 상에서 15-30분간 인큐베이션시킨 후, 제조자 지침에 따라 (Promega) 레닐라 및 파이어플라이 루시페라제를 측정하였다.
- [0581] **실시예 30. 형질감염된 HeLa 세포에 있어서, SEQ ID #3227, 8-mer LNA-항miRs에 의한 내인성 let-7 길항성의 루시페라제 센서 분석에 의한 평가.**
- [0582] let-7을 표적화 및 길항시키는데 있어서, 완전히 LNA-변형된 8-mer 올리고뉴클레오타이드의 효능을 평가하기 위하여, 전술한 두개의 실시예에 설명된 바와 같은 동일한 루시페라제 센서 구축물을 자궁경부암 세포주 HeLa (Q-

PCR에 의하여 측정시, let-7을 중간 내지 높은 수준으로 발현시킴: 데이터 표시하지 않음) 내로 SEQ ID #3227로 형질전환시켰다.

[0583] **결과:** 도 30에 도시된 바와 같이, 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR SEQ ID #3227은 내인성 let-7을 완전히 길항시키고, 5-10 nM의 농도에서도 완전한 표적 탈억제를 나타낸다. 루시페라제 활성의 탈억제는 약 1 nM에서 시작되어 약 10 nM에 일정수준 (plateau)에 도달하는 방식으로 투여량 의존적이었다.

[0584] **결론:** 결론적으로, 8-mer LNA-항miR (SEQ ID #3227)은 시험관내에서 내인성 let-7에 대하여도 강력한 안타고니스트이므로, 이는 전체 miRNA 패밀리가 짧고 완전히LNA-변형된 안타고니스트에 의해 성공적으로 표적화될 수 있음을 나타내는 명백한 증거이다.

[0585] **재료 및 방법:**

[0586] **세포주:** 자궁경부암 세포주 HeLa를 ATCC (#CCL-2TM)으로부터 구입하였다. HeLa 세포들을 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스, 1x NEAA 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 Eagle MEM 배지에서 배양하였다.

[0587] **형질감염:** 형질감염 전 날에 96-웰 플레이트의 각각의 웰에 8,000개의 세포를 접종하여 다음 날 60-80%의 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 당일, 각각의 웰에 들어 있는 HeLa 세포들을 제조자 지침에 따라 0.17 µl 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께, 20 ng HMG2 3'UTR/psiCHECK2 플라스미드, 또는 psiCHECK-2 (공백터) 및 LNA-항miRs SEQ ID #3227 (0-50 nM 최종 농도)로 형질감염시켰다. 24 시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포들을 수확하였다.

[0588] **루시페라제 분석:** 증식용 배지를 폐기하고 30 µl 1x 수동 용해 완충액 (Promega)을 각 웰에 첨가하였다. 오비탈 진탕기 상에서 15-30분간 인큐베이션시킨 후, 제조자 지침에 따라 (Promega) 레닐라 및 파이어플라이 루시페라제를 측정하였다.

[0589] **실시예 31. 인간 결장암종 세포주 HCT116에 있어서, 8-mer LNA-항miR-21 (#3205) 대 8-mer (#3219) 스크램블형 대조군 LNA에 의한 miR-21 길항성의 평가.**

[0590] 본 발명자들은 본 출원 발명의 앞부분에서, 완전히 LNA-변형되고 포스포로티올화된 8-mer LNA-항miR가, 인간 자궁경부암종 세포주 HeLa, 인간 유방암종 세포주 MCF-7, 인간 전립선암 세포주 PC3 및 인간 간세포암종 HepG2 세포주에서 miR-21을 효과적으로 길항시킨다는 것을 입증한 바 있다. 본 발명자들은 이 스크리닝 접근법을 인간 결장암종 세포주 HCT116으로 연장하였다. miR-21에 대한 8-mer LNA-항miR 올리고뉴클레오타이드의 효능을 평가하기 위하여, 성숙한 miR-21에 대한 완전 매치 표적 부위가 레닐라 루시페라제 유전자의 3'UTR 내로 클로닝된 루시페라제 리포터 구축물을 제작하였다. miR-21 억제제를 모니터링하기 위해, HCT116 세포를 miR-21 안타고니스트 #3205 (8-mer)와 함께 루시페라제 구축물로 형질감염시키고, 특이성 비교를 위해, 8-mer LNA 스크램블형 대조군 (#3219)으로 형질감염시켰다. 24 시간 후, 루시페라제 활성을 측정하였다.

[0591] **결과:** 루시페라제 리포터 실험 결과 miR-21에 대한 8-mer LNA-항miR (#3205)의 경우 루시페라제 miR-21 리포터 활성이 투여량 의존 방식으로 탈억제된 것으로 나타났고, 5 nM에서 완전히 탈억제가 일어난 것으로 관찰되었다 (도 31). 8-mer 완전 매치와 8-mer 스크램블형 대조군의 특이성을 비교하자, 스크램블형 대조군 LNA-항miR (#3219)은 탈억제 활성을 전혀 나타내지 않았는데, 이는 miR-21에 대한 LNA-항miR 화합물의 높은 특이성을 입증하는 것이다.

[0592] **결론:** 8-mer (#3205)는 miR-21을 표적화하는데 있어서 효능이 높고, #3205에 의한 miR-21의 길항성은 특이적이다.

[0593] **재료 및 방법:**

[0594] **세포주:** 인간 결장암종 HCT116 세포주를 ATCC (CCL-247)로부터 구입하였다. HCT116 세포를 10% 소의 태아 혈청, 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 RPMI 배지에서 배양하였다.

[0595] **형질감염:** 12-웰 플레이트의 각 웰에 110,000개의 세포를 접종하고 형질감염을 실시하였다. HCT116 세포를 제조자 지침에 따라 1.2 µl 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께 0.3 mg miR-21 루시페라제 센서 플라스미드 또는 psiCHECK2 공백터로 형질감염시켰다. LNA-항miR 및 대조군 올리고뉴클레오타이드의 농도를 변화시키면서 형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포를 수확하였다.

[0596] **루시페라제 분석:** 세포들을 PBS로 세척하고 250 µl 1x 수동 용해 완충액 (Promega)을 웰에 첨가하였다. 플레이트를 30분간 진탕기 상에서 처리한 다음, 세포 용해물을 에펜도르프 튜브에 넣었다. 세포 용해물을 2,500 rpm

에서 10분간 원심분리시킨 다음, 50 μ l를 96 웰 플레이트에 넣고 제조자 (Promega) 지침에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.

- [0597] **실시예 32. 8-mer #3205 LNA-형miR에 의한 miR-21의 녹-다운은 PC3 세포들의 콜로니 형성을 감소시킨다.**
- [0598] 종양 세포가 반고체 배지에서 비부착증식 방식으로 증식하면 세포의 형질전환이 잘 일어났다는 증거이다. 본 발명자들은 따라서 암에 적합한 표현형 분석인 연결 한천 분석을 실시하였다 (이 방법이 종양 세포 감소를 측정함을 전제로 함). 본 발명자들은 SEQ ID #3205 (완전 매트치) 및 SEQ ID #3219 (스크램블형)을 PC3 세포 내로 형질감염시키고 24시간 후 세포를 연결 한천 상에 도말하였다. 12일 후 콜로니 수를 세었다. 본 발명자들은 도 32에서 SEQ ID #3205에 의한 miR-21의 억제가 처리된 스크램블형 대조군 LNA-형miR 또는 미처리 대조군 (형질감염되지, LNA에 의하지 않음)에 비해 연결 한천에서 증식하는 콜로니 갯수를 감소시킬 수 있음을 입증하였는데, 이는, 종양 세포가 감소하였음을 가리키는 것이다.
- [0599] **결론:** miR-21 패밀리를 표적으로 하는 8-mer (SEQ ID #3205)는 연결 한천 상에서 콜로니 수를 감소시키는데, 이는 PC3 세포의 증식 억제를 가리키는 것이다.
- [0600] **재료 및 방법:**
- [0601] 세포주: 인간 전립선암종 PC3 세포주를 ECACC (#90112714)로부터 구입하였다. PC3 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.
- [0602] 형질감염: 형질감염 전 날에 6-웰 플레이트의 각각의 웰에 250,000개의 세포를 접종하여 다음 날 50% 컨플루언시에 도달하게 하였다. 형질감염 당일에, PC3 세포들을 리포펙타민2000과 함께 25 nM의 상이한 LNA-올리고뉴클레오타이드들로 형질감염시켰다.
- [0603] 연결 한천 상에서의 클론 성장: 0.5% 한천을 함유하는 기저층 상부의 0.35% 한천에 2.5×10^3 개의 PC3 세포를 접종하였다. 형질감염 24시간 후에 세포를 도말하였다. 플레이트를 가슴 인큐베이터 중 37°C, 5% CO₂에서 12일간 인큐베이션시킨 다음 0.005% 크리스탈 바이올렛으로 1시간 염색시킨 후, 세포를 계수하였다. 분석은 3번 실시하였다.
- [0604] **실시예 33. 8-mer #3205 LNA-형miR에 의한 miR-21의 사일런싱은 HepG2 세포의 콜로니 형성을 감소시킨다.** miR-21은 인간 간암종 세포주 HepG2에서 과발현되는데 본 발명자들은 이들 세포에서 #3205로 miR-21 센서 플라스미드의 루시페라제 활성을 조절할 수 있음을 앞서 입증한 바 있다. HepG2 세포를 #3205 및 #3219 (스크램블형 8-mer)로 형질감염시킨 다음 24시간 후에 연결 한천 상에 도말하였다. 17일 후 현미경으로 콜로니 수를 세었다.
- [0605] **결과:** 본 발명자들은 도 33에서 #3205에 의한 miR-21의 억제에 의해 연결 한천 상에서 콜로니 수를 감소시킬 수 있음을 입증하였는데, 이는 증식이 억제되었음을 가리키는 것이다. 또한, 본 발명의 스크램블형 8-mer 대조군인 #3219는 콜로니 수에 유의적인 효과를 미치지 못하였다.
- [0606] **결론:** miR-21을 표적화하는 8-mer (#3205)는 연결 한천 상에서 miR-21을 표적화하는데, 이는 HepG2 세포의 증식이 억제된 것임을 가리킨다.
- [0607] **재료 및 방법:**
- [0608] 세포주: 인간 간암종 HepG2 세포주를 ECACC (#85011430)로부터 구입하였다. HepG2 세포를 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 EMEM 배지에서 배양하였다.
- [0609] 형질감염: 6-웰 플레이트의 각 웰마다 650,000개의 세포들을 접종하고, 역형질감염시켰다. HepG2 세포를 제조자 (Invetrogen) 지침에 따라, 2.55 μ l 리포펙타민2000과 함께, 0.6 #g miR-21 루시페라제 센서 플라스미드 또는 psiCHECK2 공백체로 형질감염시켰다. LNA-형miR과 대조군 올리고뉴클레오타이드의 농도를 달리하면서도 형질감염시켰다. 24시간 후, 루시페라제 측정을 위해 세포들을 수확하였다.
- [0610] 연결 한천 상에서의 클론 성장: 0.5% 한천을 함유하는 기저층 상부의 0.35% 한천에 2.5×10^3 개의 HepG2 세포를 접종하였다. 형질감염 24시간 후에 세포를 도말하였다. 플레이트를 가슴 인큐베이터 중 37°C, 5% CO₂에서 17일간 인큐베이션시킨 다음 0.005% 크리스탈 바이올렛으로 1시간 염색시킨 후, 세포를 계수하였다. 분석은 3번 실시하였다.
- [0611] **실시예 34. 8-mer #3205 LNA-형miR에 의한 miR-21의 사일런싱은 PC3 세포에서의 세포 이동을 억제한다.**

- [0612] 세포의 단층에 "스크래치"를 만들어서 상처 치유 분석 (=스크래치 분석)을 수행하여, 세포 이동을 모니터링할 수 있으며, 세포 이동이 일어나는 동안 초기와 일정 간격을 두고 영상을 캡처한다. 영상을 대조함으로써, 세포의 이동 속도를 정량화할 수 있다. 이 실험은 인간 전립선암 세포주 PC3에 대하여 실시하였다. 세포들을 접종하고, 제3일에 세포들을 형질감염시킨 다음, 다음 날, 100% 컨플루언시에 도달하였으며, 스크래치 (=상처)를 만들었다. 스크래치를 만든 다음, 초기 상처를 기록하기 위해 사진을 찍었다. 그 후 무료 소프트웨어 프로그램인 Image J를 이용하여 여러 시점에서 상처가 아물어 면적을 측정한다. 도 34A에 도시된 바와 같이, PC3 세포들을 25 nM #3205 (완전 매트치, miR-21), 대조군 #3219으로 처리하거나 또는 형질감염시키지 않은 채로 놔두었다. 24 시간 후 사진을 찍고, 각각의 시점에서의 상처가 아물어 면적을 계산하였다. miR-21에 대한 본 발명의 LNA-항 miR인 #3205에 비하여, 형질감염되지 않은 세포들, 대조군, #3219 로 형질감염된 세포들에 있어서 상처가 빨리 아물었는데, 이는, #3205가 miR-21을 억제하여 세포 이동을 방지한다는 것을 가리키는 것이다 (도 34B).
- [0613] **결론:** miR-21을 표적화하는 8-mer (#3205)는 형질감염되지 않은 세포와 대조군에 의해 형질감염된 세포에 비해, PC3 세포의 세포 이동을 억제한다.
- [0614] **재료 및 방법:**
- [0615] 세포주: 인간 전립선암종 PC3 세포주를 ECACC (#90112714)로부터 구입하였다. PC3 세포들을 10% 소의 태아 혈청, 2 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.
- [0616] 스크래치 분석: 형질감염 3일 전에 6-웰 플레이트의 각 웰에 150,000개의 세포를 접종하여 다음날 100% 컨플루언시가 되도록 하였다. 형질감염 24시간 후, 200 μ l 팁을 이용하여 세포 단층에 스크래치를 냈다. 현미경에 연결된 디지털 카메라를 이용하여 제0시와 24시간 후에 사진을 찍었다. 상처가 아물었는지를 결정하기 위하여 소프트웨어 프로그램 Image J를 사용하였다.
- [0617] **실시예 35. miR-155를 길항하는 완전히 LNA-치환된 LNA-항miRs의 길이 평가.**
- [0618] 본 발명자들은 앞서 완전히 LNA-치환된 LNA-항miR와 관련한 miR-21의 길이 평가 결과를 제시한 바 있으며, 가장 강력한 LNA-항miR은 그 길이가 7-, 8- 또는 9 nt 인 것임을 증명한 바 있다. 이와 동일한 실험을 miR-155에 대하여 반복하였다. miR-155에 대한 완전 매트치 표적 부위를 리포터 플라스미드 psiCHECK2 내의 루시페라제 유전자의 3'UTR 내로 클로닝시키고, 길이를 달리하는 완전히 LNA-치환된 LNA-항miR들과 함께 마우스 RAW 대식 세포주 내로 형질감염시켰다. RAW 세포주에서는 miR-155의 내인성 수준이 낮기 때문에, miR-155 축적을 유도하기 위하여, 세포들을 100 ng/ml LPS로 처리하였다. 24시간 후, 루시페라제 분석을 수행하였다.
- [0619] **결과:** 도 35에 도시된 바와 같이, 가장 강력한 LNA-항miRs는 #3207(8 nt) 및 #3241 (9 nt)이며, 이들은 단지 0.25 nM LNA 농도에서도 거의 80% 탈억제를 달성한다. 6-mer (#3244)는 유의적인 탈억제를 나타내지 않는다. 길이를 12-mer 내지 14-mer (#3242 및 #3243)로 증가시키자 miR-155 리포터의 탈억제 효율이 줄어든 것으로부터 알 수 있는 바와 같이, 그 강도가 감소하였다.
- [0620] **결론:** miR-155를 표적화하는 가장 강력한, 완전히 LNA-치환된 LNA-항miRs는 8- 및 9-mer (#3207 및 #3241)였다.
- [0621] **재료 및 방법:**
- [0622] 세포주: 마우스의 대식세포 RAW 264.7 세포주를 ATCC (TIB-71)에서 구입하였다. RAW 세포들을 10% 소의 태아 혈청, 4 mM 글루타맥스 및 25 ug/ml 젠타마이신이 보강된 DMEM 배지에서 배양하였다.
- [0623] 형질감염: 500,000 형질감염 전 날에 6-웰 플레이트의 각 웰에 500,000개의 세포를 접종하여 다음 날 50% 컨플루언시를 달성하였다. 형질감염 당일, RAW 264.7 세포를 제조사 지침에 따라 10 μ l 리포펙타민2000 (Invitrogen)과 함께 0.3 ug miR-155 완전 매트치/psiCHECK2 또는 psiCHECK2 공백터로 형질감염시켰다. LNA-항 miR의 농도를 달리하면서도 형질감염시켰다. miR-155 축적을 유도하기 위하여, 형질감염 복합체와 4 시간 인큐베이션시킨 후, RAW 세포에 LPS (100 ng/ml)를 첨가하였다. 다시 24시간 경과 후, 루시페라제 분석을 위해 세포들을 수확하였다.
- [0624] 루시페라제 분석: 세포들을 PBS로 세척하고 세포 스크레이퍼로 수확한 다음, 2,500 rpm에서 5분간 세포를 스펀시켰다. 상등액을 폐기하고 50 μ l 1x 수동 용해 완충액 (Promega)을 세포 펠릿에 첨가한 다음, 세포들을 얼음 위에서 30분간 유지시켰다. 용해된 세포들을 10,000 rpm에서 30분간 스펀시킨 후, 20 μ l를 96-웰 플레이트에 넣고, 제조사 (Promega) 지침에 따라 루시페라제 측정을 실시하였다.
- [0625] **실시예 36. miR-21을 표적화하는 완전히 LNA-치환된 8-mer #3205 (LNA-항miR-21)에 대한 혈장 단백질 결합.**

- [0626] 도 36A에 도시된 실험의 혈장 농도에서는 혈장 단백질이 #3205로 포화되지 않는다. 도 36B에서, 혈장 중 여러가지 농도의 #3205에서 단백질 결합은 #3205 LNA-항miR-21의 약 95%이다. 50.1 μM (174 $\mu\text{g}/\text{mL}$)의 #3205 농도에 서, FAM-표지된 #3205에 대한 혈장 단백질의 결합 능력은 포화되지 않았다.
- [0627] **재료 및 방법:** 마우스 혈장 (100 μL)을, FAM-표지된 #3205을 이용하여 0.167, 1.67, 5.01, 10.02, 16.7, 25.05 및 50.1 μM 농도로 스파이크시켰다. 이 용액을 37°C에서 30분간 인큐베이션시켰다. 용액을 Microcon Ultracel YM-30 필터 (재생 셀룰로스 30,000 MWCO)에 부었다. 필터를 2000g에서 20분간 스펀시키고 실온에서 마이크로원심분리시켰다. 여액을 5, 10 및 20배 희석시키고 100 μL 샘플을 마이크로타이터 플레이트 (Polystyrene Black NUNC-237108)에 옮겼다. 458 nm 여기 및 520 nm 방출 하에, FLUOstar Optima 엘리사 판독기를 이용하여 형광을 측정하였다. 서로 다른 12가지 농도 (0.45-1000 nM)에서 FAM-표지된 #3205로 스파이크된 여과된 혈장으로부터 유도된 표준 곡선으로부터, 미결합 FAM-표지된 #3205의 양을 산출하였다. 여과된 혈장 중 에서 0.167, 1.67, 5.01, 10.02, 16.7, 25.05 및 50.1 μM 의 #3205 농도를 이용한 여과 실험으로부터 수립된 회수율로부터, 숫자를 보정하였다. FAM-표지된 #3205의 회수율은 86%였다.
- [0628] **실시예 37.** ³⁵S-표지된 #3205 LNA-항miR-21을 일회 정맥 투여한 후, 염색된 암컷 마우스에 있어서의 정량적인 전신 자가방사선기록 연구
- [0629] 완전히 LNA-변형된 짧은 LNA-항miR (#3205, 8-mer)의 생체분포를 측정하기 위하여, 마우스에 있어서 방사능 표지된 화합물의 전신 조직 분포를 수행하였다. ³⁵S-표지된 #3205를 마우스에게 일회 정맥 투여하고 마우스들을 5 분 내지 21일에 이르는 여러 시점에서 희생시켰다.

표 6(i). 염색된 암컷 마우스에 있어서 ³⁵S- 표지된 #3205 를 일회 정맥 투여한 후의
 각 조직에서의 농도 (µg #3205/g 조직). 숫자는 각각의 조직과 비율에 대한 3 회
 측정치의 평균값이다. 분산계수 (CV)는 일반적으로 약 10%이다.

조직	올리고의 최대 농도 µg #3205/g 조직	최대 농도시 시간, hours	T½ hours
부신	13.6	0.083	374
달걀	4	1	
골수	7.2	0.083	411
뇌	0.4	0.083	
갈색 지방	8.8	0.083	
위결막	10.1	0.083	
심장 혈관	26.2	0.083	10.3
신장 ctx.	58.7	24	104
간	11.8	0.083	588
	10.7	24	
폐	13.2	0.083	289
림프결	5	0.083	262
	2.4	48	
림프	18.8	4	
	20.8	168	
심근	8.1	0.083	662
난소	13	0.083	198
췌장	5	0.083	
뇌하수체	6.7	0.083	
철선	8.6	0.083	405
	5.5	168	
골근육	4.8	0.083	
피부 pig.	5.4	0.25	
비장	9.8	0.083	564
흉선	3.8	0.083	185
갑상선	10.9	0.083	592
노	328.9	0.083	
자궁	9.6	0.25	177
안구 포도막	13.6	0.083	
LOQ	0.045	0.083	
	0.033	24	
	0.03	168	

[0630]

표 6(ii) 염색한 암컷 마우스에 있어서 ³⁵S-표지된 #3205 를 일회 정맥 투여한 후의

조직 대 간의 비율

³⁵ S-#3205									
동물 no	10	11	12	13	14	15	16	17	18
생존 시간 (h)	0.083	0.25	1h	4h	24h	48h	96h	168	504
기관									
부신	간	간	간	간	간	간	간	간	간
달걀	11.15	11.08	0.52	0.27	0.24	0.26	0.23	0.18	0.17
골수	0.03	0.11	0.55	0.10	0.03	0.07	0.04	0.03	0.04
뇌	0.61	0.81	0.55	0.45	0.40	0.48	0.43	0.42	0.34
갈색 지방	0.03	0.03	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
위절막	0.75	0.57	0.29	0.12	0.07	0.12	0.08	0.10	0.07
심장 혈관	0.86	0.71	0.31	0.22	0.10	0.21	0.15	0.16	0.12
신장 ctx	21.23	11.91	0.74	0.11	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
간	21.87	31.94	61.45	61.95	51.51	61.68	31.92	21.24	0.40
폐	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00	11.00
림프절	11.12	0.97	0.63	0.09	0.04	0.04	0.03	0.02	0.02
림프	0.43	0.30	0.25	0.19	0.11	0.32	0.20	0.17	0.12
심근	0.82	11.09	11.78	21.78	11.03	21.05	11.62	31.17	11.89
난소	0.69	0.63	0.30	0.13	0.10	0.15	0.09	0.11	0.12
체장	11.10	11.40	0.61	0.31	0.27	0.28	0.21	0.21	0.08
뇌하수체	0.42	0.37	0.22	0.18	0.12	0.17	0.12	0.15	0.11
침샘 g	0.57	0.54	0.28	0.11	0.15	0.16	0.12	0.10	0.08
골근육	0.73	0.81	0.38	0.25	0.25	0.42	0.23	0.85	0.24
피부.pigm.	0.40	0.28	0.14	0.04	0.02	0.04	0.03	0.03	0.03
비장	0.34	0.69	0.65	0.36	0.20	0.26	0.20	0.19	0.13
흉선	0.83	0.86	0.44	0.32	0.24	0.34	0.35	0.29	0.31
갑상선	0.32	0.31	0.14	0.07	0.09	0.08	0.05	0.04	0.02
노	0.9	11.2	0.43	0.28	0.25	0.34	0.19	0.26	0.25
자궁	271.96	391.48	91.90	51.44	0.24	0.39	0.12	0.15	0.03
안구의 포도막	0.56	11.23	0.65	0.30	0.30	0.07	0.27	0.16	0.08

[0631]

[0632]

결론: #3205는 소거 반감기 8-10 시간인 혈액 방사능 소거율을 나타낸다. 신장, 부신, 림프, 간, 골수, 비장, 난소 및 자궁에서 방사능 수준이 높게 기록되었다. 최고의 방사능 수준은 신장 피질에서 기록되었는데 이는 #3205의 간에서의 농도보다 5배나 더 높은 것이다. 신장 피질, 림프, 간, 골수 및 비장에서는 #3205 LNA-항miR-21에 대한 강한 방사능 체류가 관찰되었다.

[0633]

재료 및 방법:

[0634]

투여량 투여: 투약 전 모든 마우스를 칭량하였다. 9마리의 암컷 마우스의 꼬리 정맥에 10 mg/kg의 ³⁵S-#3205를 정맥 투여하였다. 각각의 동물에게 주어진 용량은 테스트 포물레이션 10 mL/kg이었다. 비활성 (specific activity)은 75.7 μCi/mg이었다. #3205를 투여한지 5분, 15분, 1시간, 4 시간, 24 시간, 2일, 4일, 7일 및 21 일 후에 마우스들을 각각 희생시켰다. 전신 자가방사능기록: 세보플루란으로 마우스들을 마취시킨 다음, 헤파탄에 죽각 침지시키고, 드라이아이스를 이용하여 -80℃로 냉각하였다, ABR-SOP-0130. 표준법 ABR-SOP-0131에 따라,

냉동된 사체를 수성 카르복시메틸 셀룰로스 (CMC) 젤 중에 내장시키고, 에탄올로 냉동시킨 다음, 드라이아이스 (-80℃)로 냉각시킨 다음, 전신 자가방사능기록을 위해 시상 절제하였다. 약 -20℃의 온도에서 냉동박절기 (Leica CM 3600)을 이용하여 각 동물의 20 μm 절편들을 여러 수준으로 절단하였다. 이렇게 하여 얻어진 절편들을 테이프 (Minnesota Mining and Manufacturing Co., No. 810) 상에 고정시키고 방사능 잉크로 연속적으로 번호를 매겼다. -20℃에서 약 24시간 동안 동결건조시킨 후, 선택된 절편들을 마일라 호일로 얇게 싼 다음 조영 플레이트 (Fuji, Japan)에 올려놓았다. -20℃의 납땀한 상자 내의 차광 카세트에서 노출을 수행하여 조영 플레이트를 주변환경의 방사능으로부터 보호하였다. ABR-SOP-0214에 설명된 바와 같이, 노출 후, 조영 플레이트를 50 μm의 픽셀 크기로 스캐닝하고 생체조영 분석 시스템 (Bas 2500, Fuji, Japan)을 이용하여 방사능발광기록계로 분석하였다. ³⁵S 방사능의 수용성 표준 테스트 용액을 전혈과 혼합하고 보정 스케일을 생산하는데 사용하였다, ABR-SOP-0251. 그러나, 500 μL Soluene-35에는 다른 혈액 표준품을 용해시켰다. 이어서 이 용해된 샘플에 4.5 mL Ultima Gold를 첨가하였다. ³⁵S 및 ¹⁴C는 서로 매우 유사한 에너지 스펙트럼을 갖기 때문에, 서로 다른 혈액 샘플에 대한 방사능을 결정할 경우에는 표준 ¹⁴C-programme (Packard 2200CA)을 사용하였다.

[0635] 약동학적 계산: 전혈 및 조직에서 측정된 ³⁵S 방사능을 nCi/g 조직으로서 표표시하고 약동학적 평가를 위해 nmol 당량/g 조직으로 계산출하였다. WinNonlin Professional (Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA)를 이용한 비구획식 분석에 의하여 약동학적 변수 C_{max}, t_{1/2} 및 AUC를 전혈과 조직에 대하여 측정하였다. 정맥 투여 후, 농도를 0까지 거꾸로 외삽하고 (C₀)으로 표시하였다. 로그 혈장 농도-시간 곡선의 터미널 기울기를 선형 회귀 분석함으로써 소거율 상수 λ를 추정하여 보았다. 방정식 t_{1/2} = ln2/λ을 이용하여 소거 반감기 t_{1/2}을 산출하였다. 달리 언급하지 않는 한, 소거 반감기 계산에는, LCQ를 상회하는 마지막 세개의 시점을 사용하였다.

[0636] **실시예 38. 마우스의 폐 및 신장에서 Ras 단백질의 정량화를 통하여 측정된바와 같은 8-mer LNA-항miR에 의한 생체내 let-7 억제의 평가**

[0637] 생체내에서 풍부하게 발견되는 let-7 패밀리의 길항 가능성을 조사하기 위하여, 마우스에게 8-mer LNA-항miR 안타고니스트 또는 염수를 정맥 (i.v.) 주사하였다. 처리 효과를 측정하기 위하여, 폐와 신장으로부터 단백질을 분리하였다. 단백질의 Ras 패밀리 (N-Ras, K-Ras, 및 H-Ras), 특히 N-Ras 및 K-Ras는 Johnson 등 (Cell, 2005)에 의하여 이전부터, let-7 패밀리에 의해 조절 (억제)된다는 것이 알려져 있었기 때문에, 이 실험의 목적은 이들 let-7 표적들이 생체내에서 탈억제될 수 있는지를 분석하는데 있다.

[0638] **결과:** 도 37에 도시된 바와 같이, 8-mer LNA-항miR는 처리된 마우스의 신장에서 Ras 단백질 수준을 강력하게 탈억제하였으며, 이를 염수 대조군에 대하여 정규화하였다. 이 장기에서의 상향 조절은 3배를 상회하였으며, 이는 명백한 생체내 효과를 보이는 것이다. 그러나 폐에서는, 오직 최소의 (1.2배) Ras 탈억제만이 관찰되었는데, 이는 Johnson 등 (Cancer Research, 2007)에 의해 이미 설명된 바와 같이, 대량의 let-7을 억제하기 위하여 이 장기에서는 LNA-항miR가 불충분한 양으로 유입되었다는 것을 시사하는 것이다.

[0639] **결론:** 8-mer LNA-항miR은 처리된 마우스와 대조군 마우스에서의 Ras 단백질에 기초하여 평가된 바와 같이, 생체내에서 표적 let-7 miRNA를 조절하는데 명백히 효과가 있다. 반면, 이 효과는 폐에서는 더 낮은 것으로 나타났다, 신장에서의 Ras 수준은 항miRs-처리시 실질적으로 상향조절되는 것으로 나타났다.

[0640] **재료 및 방법: 동물 및 투여:** C57BL/6 암컷 마우스를 10 mg/kg LNA-항miR 또는 염수로 3일 연속 (0, 1, 및 2) 처리하고 제4일에 희생시켰다. 폐와 신장으로부터의 조직 샘플을 스냅동결시키고 추가로 가공하기 전까지 -80℃에서 보관하였다.

[0641] 웨스턴 블랏 분석: 염수 및 LNA-항miR-처리된 마우스로부터의 폐 단백질과 신장 단백질을 샘플 당 100 μg을 이용하여 NuPAGE Bis Tris 4-12% (Invitrogen) 상에서 분리하였다. 제조자 지침에 따라 iBlot (Invitrogen)을 이용하여, 니트로셀룰로스막에 단백질을 옮겼다. 제조자 지침에 따라 블로킹, 항체 희석 및 검출을 실시하였다. Ras 검출을 위해, 일차 토끼 항Ras 항체 (SC-3339, Santa Cruz Biotechnology) 및 이차 HRP-컨쥬게이션된 돼지의 항토끼 항체 (P0399, Dako)를 사용하고, 튜블린 검색을 위해서는, 일차 튜블린 알파 (MS-581-P1, Neomarkers) 및 이차 HRP-컨쥬게이션된 염소의 항마우스 항체 (P0447, Dako)를 사용하였다.

[0642] **실시예 40. 마우스 신장에 있어서의 Pcd4 단백질 상향 조절에 의해 측정되는 바와 같은, miR-21을 표적화하는데 있어서 8-mer LNA-항miR (#3205)의 생체내 효능 평가.**

[0643] 본 발명자들은 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR는 miR-21을 길항시키고, 시험관 내에서 miR-21 표적 Pcd4

의 단백질 수준을 조절할 수 있음을 밝힌 바 있다. 본 발명자들은 따라서 LNA-항miR를 마우스에 주사하여 생체 내에서의 LNA-항miR의 효과를 측정하였다. 마우스에게 14일간 하루걸러 #3205를 25 mg/kg 정맥 주사하였다 (총 5회 투여). 제14일에 마우스들을 희생시키고, 신장을 꺼내서, 단백질을 분리하였다. 표적 조절 여부를 측정하기 위해, 웨스턴 블랏 분석을 수행하였다.

[0644] **결과:** 도 37에 도시된 바와 같이, 마우스를 #3205로 처리하자 염수 대조군의 경우에 비해 Pcd4 단백질 수준이 현저히 증가한 것으로 나타났다. 정규화된 Pcd4 대 Gapdh 비율은 두가지 염수 샘플 모두에서 일치하였으나, 두 개의 LNA-항miR (#32059)-처리된 마우스에 있어서는 각각 3.3배 및 6.3배 단백질이 상향 조절된 것으로 나타났는데, 이는 #3205 8-mer LNA-항miR의 생체내 약리학적 효과를 입증하는 것이다.

[0645] **결론:** 완전히 LNA-변형된 8-mer LNA-항miR #3205는, 검정된 miR-21 표적인 Pcd4의 마우스 신장 수준을 탈억제 (상향 조절)하는 그의 능력에 의해 입증되는 바와 같이, 생체내에서 miR-21을 길항시킨다.

[0646] **재료 및 방법:**

[0647] **동물 및 투여:** 최초 투여시 평균 체중이 20 g 인 C57BL/6 암컷 마우스들을 모든 실험에 사용하여, 일반적인 차우 다이어트 (Altromin no 1324, Brogaarden, Gentofte, Denmark)를 실시하였다. 물질들을 생리식염수 (0.9% NaCl)에 조성시켰다. LNA-항miR 또는 염수 (0.9% NaCl)를 동물에게 투여하고, 14일간 하루 걸러 25 mg/kg씩, 총 5회 투여하였다. 제14일에 동물을 희생시켰다.

[0648] **웨스턴 블랏 분석:** 염수 또는 LNA-처리된 마우스로부터의 80 μ g 신장 조직을 NuPAGE Bis Tris 4-12% (Invitrogen) 상에서 분리하였다. 이 단백질을 제조자 지침에 따라 iBlot (Invitrogen)을 이용하여 니트로셀룰로스 막으로 옮겼다. 이 막을 Pcd4 항체 (Bethyl Laboratories)와 합RP, 이어서 HRP-컨쥬게이트된 돼지의 항토끼 항체(Dako)와 함께 인큐베이션시켰다. 동등한 로딩 대조군으로서, GAPDH (Abcam)을 사용한 다음, 이어서 HRP-컨쥬게이션된 돼지의 항마우스 항체를 사용하였다. 이 막을 화학발광 (ECL, Amersham)을 이용하여 시각화시켰다.

표 1

마이크로 RNA	마이크로 RNA 서열	SEQ		SEQ		SEQ		SEQ
		ID NO	9-mer	ID NO	8-mer	ID NO	7-mer	ID NO
ebv-miR-BART1-3p	UAGCACCGCUAUCCACUAUGUC	40	AGCGGTGCT	977	GCGGTGCT	1914	CGGTGCT	2851
ebv-miR-BART1-5p	UCUUAUGUGAAGUGACGUGCUGUG	41	TCCACTAAG	978	CCACTAAG	1915	CACTAAG	2852
ebv-miR-BART10	UACAUAAACCAUGGAGUUGGCUGU	42	TGTTATGT	979	GGTTATGT	1916	GTTATGT	2853
ebv-miR-BART10*	GCCACCUCUUUGGUUCUGUACA	43	AAGAGGTGG	980	AGAGGTGG	1917	GAGGTGG	2854
ebv-miR-BART11-3p	ACGCACACCAGGCGUGACUGCC	44	TGTTGTGCG	981	GGTGTGCG	1918	GTGTGCG	2855
ebv-miR-BART11-5p	UCAGACAGUUUGGUGCGCUAGUUG	45	AACTGTCTG	982	ACTGTCTG	1919	CTGTCTG	2856
ebv-miR-BART12	UCCUGUGGUGUUUGUGUGUGUU	46	CACCACAGG	983	ACCACAGG	1920	CCACAGG	2857
ebv-miR-BART13	UGUAACUUGCCAGGGACGGCUGA	47	GCAAGTTAC	984	CAAGTTAC	1921	AAGTTAC	2858
ebv-miR-BART13*	AACCGGCUUGGGUCUGUACAG	48	CGAGCCGCT	985	GAGCCGCT	1922	AGCCGCT	2859
ebv-miR-BART14	UAAUUGCUGCAGUAGUAGGGAU	49	GCAGCATT	986	CAGCATT	1923	AGCATT	2860
ebv-miR-BART14*	UACCCUACGCGCCGAAUUUACA	50	GCGTAGGGT	987	CGTAGGGT	1924	GTAGGGT	2861
ebv-miR-BART15	GUCAGUGGUUUUGUUCCUUGA	51	AACCACTGA	988	ACCACTGA	1925	CCACTGA	2862
ebv-miR-BART16	UUGAUAAGAGUGGGUGUGUCUCU	52	TCTATCTA	989	TCTATCTA	1926	CTATCTA	2863
ebv-miR-BART17-3p	UGUAUGCCUGGUGUCCCUUAGU	53	CAGGCATAC	990	AGGCATAC	1927	GGCATAC	2864
ebv-miR-BART17-5p	UAAGAGGACGCGCAUCAAG	54	CGTCTCTT	991	GTCTCTT	1928	TCCTCTT	2865
ebv-miR-BART18-3p	UAUCGGAAGUUUGGCUUCCGUC	55	ACTTCCGAT	992	CTTCCGAT	1929	TCCGAT	2866
ebv-miR-BART18-5p	UCAAGUUCGACAUCCUUAUACA	56	GCGAACTTG	993	CGAACTTG	1930	GAACTTG	2867
ebv-miR-BART19-3p	UUUUGUUUGCUUGGGAUUGCU	57	GCAAACAAA	994	CAAACAAA	1931	AAACAAA	2868
ebv-miR-BART19-5p	ACAUUCGCCGCAAAUGACAUG	58	CGGGGAATG	995	GGGGAAATG	1932	GGGAATG	2869
ebv-miR-BART2-3p	AAGGACGGAUUUGGAGAAAUAUA	59	ATCGCTCCT	996	TCGCTCCT	1933	CGCTCCT	2870
ebv-miR-BART2-5p	UAUUUCUGCAUUCGCCUUGC	60	GCAAAAAT	997	CAGAAAAT	1934	AGAAAAT	2871
ebv-miR-BART20-3p	CAUGAAGGCACAGCCUGUUAAC	61	TGCCTTCAT	998	GCCTTCAT	1935	CCTTCAT	2872
ebv-miR-BART20-5p	UAGCAGGCAUGUCUUAUUC	62	ATGCTGCT	999	TGCTGCT	1936	GCTGCT	2873
ebv-miR-BART3	CGCACCACUAGUCACCAGGUGU	63	TAGTGGTGC	1000	AGTGGTGC	1937	GTGGTGC	2874
ebv-miR-BART3*	ACCUAGUGUUAGUGUGUGCU	64	AACACTAGG	1001	ACACTAGG	1938	CACTAGG	2875
ebv-miR-BART4	GACCUAUGCUGCUGGUGUGCU	65	GCATCAGGT	1002	CATCAGGT	1939	ATCAGGT	2876
ebv-miR-BART5	CAAGGUGAAUAUAGCUGCCAUUCG	66	ATTCACCTT	1003	TTCACCTT	1940	TCACCTT	2877
ebv-miR-BART6-3p	CGGGGAUCGGACUAGCCUUAAGA	67	CCGATCCCC	1004	CGATCCCC	1941	GATCCCC	2878
ebv-miR-BART6-5p	UAAGGUUGGUCCAAUCCAUAAG	68	ACCAACCTT	1005	CCAACCTT	1942	CAACCTT	2879
ebv-miR-BART7	CAUCAUAGUCCAGUCCAGGG	69	GACTATGAT	1006	ACTATGAT	1943	CTATGAT	2880
ebv-miR-BART7*	CCUGGACCUUAGACUAGAACA	70	AAGTCCAG	1007	AGTCCAG	1944	GTCCAG	2881
ebv-miR-BART8	UACGGUUUCCUAGAUGUACAG	71	GGAACCGT	1008	GAAACCGT	1945	AAACCGT	2882
ebv-miR-BART8*	GUCACAAUCUAGGGGUCGUAGA	72	AGATTGTGA	1009	GATTGTGA	1946	ATTGTGA	2883
ebv-miR-BART9	UAACACUUCUAGGGUCCGUAGU	73	TGAAGTGT	1010	GAAGTGT	1947	AAGTGT	2884
ebv-miR-BART9*	UACUGAGCCUUAUUGGAAAC	74	GGTCCAGT	1011	GGTCCAGT	1948	GTCAGT	2885
ebv-miR-BHRF1-1	UAACCUUAUCAGCCCGGAGUU	75	GATCAGGT	1012	ATCAGGT	1949	TCAGGT	2886
ebv-miR-BHRF1-2	UAUCUUUUGCGGCAAGAAUUGA	76	GCAAAGAT	1013	CAAAGAT	1950	AAAAGAT	2887
ebv-miR-BHRF1-2*	AAAUUCUGUUGCAGCAGAUAGC	77	AACAGAATT	1014	ACAGAATT	1951	CAGAATT	2888
ebv-miR-BHRF1-3	UAACGGGAAGUGUGUAAGCACA	78	CTTCCGTT	1015	TCCCGTT	1952	TCCGTT	2889
hcmv-miR-UL112	AAGUGACGGUGAGAUCCAGGCU	79	ACCGTCACT	1016	CCGTCACT	1953	CGTCACT	2890
hcmv-miR-UL148D	UCGUCUCUCCUUCUUCACCG	80	GGGAGGACG	1017	GGGAGGACG	1954	GAGGACG	2891
hcmv-miR-UL22A	UAACUAGCCUUCUCCGUGAGA	81	AGGCTAGTT	1018	GGCTAGTT	1955	GCTAGTT	2892
hcmv-miR-UL22A*	UCACCAGAAUGCUAGUUUGUAG	82	ATTCTGGTG	1019	TTCTGGTG	1956	TCTGGTG	2893
hcmv-miR-UL36	UCGUUGAAGACACUUGGAAGA	83	TCTTCAACG	1020	GTTCAACG	1957	TCAACG	2894
hcmv-miR-UL36*	UUUCCAGGUGUUUCAACGUGC	84	CACCTGGAA	1021	ACCTGGAA	1958	CCTGGAA	2895
hcmv-miR-UL70-3p	GGGGAUGGGCUGGGCGCGG	85	GCCATCCC	1022	CCATCCC	1959	CCATCCC	2896
hcmv-miR-UL70-5p	UGCGUCUCGGCUCGUCAGAG	86	CCGAGACGC	1023	CGAGACGC	1960	GAGACGC	2897
hcmv-miR-US25-1	AACCGCUCAGUGGCUCCGACC	87	CTGACGGT	1024	TGACGGT	1961	GACGGT	2898
hcmv-miR-US25-1*	UCCGAACGCUAGGUCGGUUCUC	88	AGCGTTCGG	1025	GCGTTCGG	1962	CGTTCGG	2899
hcmv-miR-US25-2-3p	AUCCACUUGGAGAGUCCCGCGG	89	CCAAGTGA	1026	CAAGTGA	1963	AAGTGA	2900

[0649]

hcmv-miR-US25-2-5p	AGCGGUCUGUUCAGGUGGAUGA	90	ACAGACCGC	1027	CAGACCGC	1964	AGACCGC	2901
hcmv-miR-US33-3p	UCACGGUCCGAGCACAUCCA	91	CGGACCGTG	1028	GGACCGTG	1965	GACCGTG	2902
hcmv-miR-US33-5p	GAUUGUGCCCGGACCGUGGGCG	92	GGGCACAAT	1029	GGCACAAT	1966	GCACAAT	2903
hcmv-miR-US4	CGACAUGGACGUGCAGGGGGAU	93	GTCCATGTC	1030	TCCATGTC	1967	CCATGTC	2904
hcmv-miR-US5-1	UGACAAGCCUGACGAGAGCGU	94	AGGCTTGTC	1031	GGCTTGTC	1968	GCTTGTC	2905
hcmv-miR-US5-2	UUAUGAUAGGUGUGACGAUGUC	95	CCTATCATA	1032	CTATCATA	1969	TATCATA	2906
hsa-let-7a	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	96	TACTACCTC	1033	ACTACCTC	1970	CTACCTC	2907
hsa-let-7a*	CUAUACAUCUACUGUCUUUC	97	GATTGTATA	1034	ATTGTATA	1971	TTGTATA	2908
hsa-let-7b	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGUU	98	TACTACCTC	1035	ACTACCTC	1972	CTACCTC	2909
hsa-let-7b*	CUAUACAACCUACUGCCUUC	99	GTTGTATA	1036	GTTGTATA	1973	TTGTATA	2910
hsa-let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	100	TACTACCTC	1037	ACTACCTC	1974	CTACCTC	2911
hsa-let-7c*	UAGAGUACACCCUGGGAGUUA	101	TGTAACCTC	1038	GTAACCTC	1975	TAACCTC	2912
hsa-let-7d	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	102	TACTACCTC	1039	ACTACCTC	1976	CTACCTC	2913
hsa-let-7d*	CUAUACGACCUGUGCCUUCU	103	GGTCGTATA	1040	GTCGTATA	1977	TCGTATA	2914
hsa-let-7e	UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU	104	TCCTACCTC	1041	CCTACCTC	1978	CTACCTC	2915
hsa-let-7e*	CUAUACGGCCUCCUAGCUUUC	105	GGCCGTATA	1042	GCCGTATA	1979	CCGTATA	2916
hsa-let-7f	UGAGGUAGUAGUUGUAUAGUU	106	TACTACCTC	1043	ACTACCTC	1980	CTACCTC	2917
hsa-let-7f-1*	CUAUACAUCUACUUGCCUUC	107	GATTGTATA	1044	ATTGTATA	1981	TTGTATA	2918
hsa-let-7f-2*	CUAUACAGUCUACUGUCUUUC	108	GACTGTATA	1045	ACTGTATA	1982	CTGTATA	2919
hsa-let-7g	UGAGGUAGUAGUUGUACAGUU	109	TACTACCTC	1046	ACTACCTC	1983	CTACCTC	2920
hsa-let-7g*	CUGUACAGCCACUGCCUUGC	110	GCCTGTACA	1047	CCTGTACA	1984	CTGTACA	2921
hsa-let-7i	UGAGGUAGUAGUUGUGUCUU	111	TACTACCTC	1048	ACTACCTC	1985	CTACCTC	2922
hsa-let-7i*	CUGCGCAAGCUACUGCCUUGC	112	GCTTGCACA	1049	CTTGCACA	1986	TTGCACA	2923
hsa-miR-1	UGGAAUGUAAAGAGUAUGUUAU	113	TTACATTCC	1050	TACATTCC	1987	ACATTCC	2924
hsa-miR-100	AACCCGUGAGUCCGAACUUUG	114	TCTACGGGT	1051	CTACGGGT	1988	TACGGGT	2925
hsa-miR-100*	CAAGCUUGUAUCUUAUAGGUAUG	115	TACAAGCTT	1052	ACAAGCTT	1989	CAAGCTT	2926
hsa-miR-101	UACAGUACUGGUAUAACUGAA	116	CAGTACTGT	1053	AGTACTGT	1990	GACTGT	2927
hsa-miR-101*	CAGUUAUCACAGUGCUGAUGCU	117	GTGATAACT	1054	TGATAACT	1991	GATAACT	2928
hsa-miR-103	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA	118	CAATGCTGC	1055	AATGCTGC	1992	ATGCTGC	2929
hsa-miR-103-as	UCAUAGCCUUGUACAAUGCUGCU	119	AGGGCTATG	1056	GGGCTATG	1993	GGCTATG	2930
hsa-miR-105	UCAAAUGCUCAGACUCCUGUGU	120	GAGCATTG	1057	AGCATTG	1994	GCATTG	2931
hsa-miR-105*	AGCGAUGUUUAGCAUUGUCUA	121	AAACATCCG	1058	AACATCCG	1995	ACATCCG	2932
hsa-miR-106a	AAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	122	AAGCACTTT	1059	AGCACTTT	1996	GCCTTT	2933
hsa-miR-106a*	CUGCAAUGUAGCACUUCUUAC	123	TACATTGCA	1060	ACATTGCA	1997	CATTGCA	2934
hsa-miR-106b	UAAAGUGCGACAGUGCAGAU	124	CAGCACTTT	1061	AGCACTTT	1998	GCCTTT	2935
hsa-miR-106b*	CCGCACUGUGGUUACUUGCUGC	125	CACAGTGGC	1062	ACAGTGGC	1999	CAGTGGC	2936
hsa-miR-107	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUC	126	CAATGCTGC	1063	AATGCTGC	2000	ATGCTGC	2937
hsa-miR-10a	UACCCUGUAGAUCCGAUUUUG	127	CTACAGGGT	1064	TACAGGGT	2001	ACAGGGT	2938
hsa-miR-10a*	CAAAUUCGUUUCUAGGGAAUA	128	TACGAATTT	1065	ACGAATTT	2002	CGAATTT	2939
hsa-miR-10b	UACCCUGUAGAACCGAAUUUG	129	CTACAGGGT	1066	TACAGGGT	2003	ACAGGGT	2940
hsa-miR-10b*	ACAGAUCGAUUCUAGGGAAU	130	TGGAATCTG	1067	CGAATCTG	2004	GAATCTG	2941
hsa-miR-117e	UUGCUCACUGUUUCUCCUAG	131	CAGTGAGCA	1068	AGTGAGCA	2005	GTGAGCA	2942
hsa-miR-1179	AAGCAUUCUUUCAUUGGUUGG	132	AAGAATGCT	1069	AGAATGCT	2006	GAATGCT	2943
hsa-miR-1180	UUUCCGGCUCGCGUGGGUGUGU	133	GAGCCGAA	1070	AGCCGAA	2007	GCCGAA	2944
hsa-miR-1181	CCGUCGCGCCACCCGAGCCG	134	GCGCGAGC	1071	GCGCGAGC	2008	GCGGAGC	2945
hsa-miR-1182	GAGGGUCUUGGGAGGUAUGAC	135	CAAGACCTT	1072	AAGACCTT	2009	AGACCTT	2946
hsa-miR-1183	CACUGAGGUGAUGGUGAGUGGGCA	136	ACCTACAGT	1073	CCTACAGT	2010	CTACAGT	2947
hsa-miR-1184	CCUGCAGCGACUUGAUGGUUCC	137	TCGCTGCAG	1074	CGCTGCAG	2011	GCTGCAG	2948
hsa-miR-1185	AGAGGAUACCCUUUGUAUGUU	138	GGTATCCTC	1075	GTATCCTC	2012	TATCCTC	2949
hsa-miR-1197	UAGGACACAUGGUCUACUUCU	139	ATGTGCTCT	1076	TGTGCTCT	2013	GTGCTCT	2950
hsa-miR-1200	CUCCUGAGCCAUUCUGAGCCUC	140	GGCTCAGGA	1077	GCTCAGGA	2014	CTCAGGA	2951
hsa-miR-1201	AGCCUGAUUAAACACAUGCUCUGA	141	TAATCAGGC	1078	AATCAGGC	2015	ATCAGGC	2952
hsa-miR-1202	GUGCCAGCUCAGUGGGGAG	142	CAGCTGGCA	1079	AGCTGGCA	2016	GCTGGCA	2953
hsa-miR-1203	CCCAGCCAGGUGAGCAGUC	143	TGGCTCCGG	1080	GGCTCCGG	2017	GCTCCGG	2954

[0650]

hsa-miR-1204	UCUGGCCUGGUCUCCAUAU	144	CAGGCCAGC	1081	AGGCCAGC	2018	GGCCAGC	2955
hsa-miR-1205	UCUGCAGGGUUUGCUUUGAG	145	ACCCTGCAG	1082	CCTGCAG	2019	CCTGCAG	2956
hsa-miR-1206	UGUUAUGUAGAUUUUAAGC	146	TACATGAAC	1083	ACATGAAC	2020	CATGAAC	2957
hsa-miR-1207-3p	UCAGCUGGCCUCAUUC	147	GGCCAGCTG	1084	GCCAGCTG	2021	CCAGCTG	2958
hsa-miR-1207-5p	UGGCAGGGAGGCGGGAGGGG	148	CTCCCTGCC	1085	TCCCTGCC	2022	CCCTGCC	2959
hsa-miR-1208	UCACUGUUCAGACAGGCGGA	149	TGAACAGTG	1086	GAACAGTG	2023	AACAGTG	2960
hsa-miR-122	UGGAGUGGACAAUGGUGUUUG	150	TCACACTCC	1087	CACACTCC	2024	ACACTCC	2961
hsa-miR-122*	AACGCCAUUAUCACACUAAUA	151	TAATGGCGT	1088	AATGGCGT	2025	ATGGCGT	2962
hsa-miR-1224-3p	CCCACCUCUCUCUCCUCAG	152	GGAGTGGG	1089	GAGTGGG	2026	AGTGGG	2963
hsa-miR-1224-5p	GUGAGACUCGGGAGGUGG	153	GAGTCTCA	1090	AGTCTCA	2027	GTCTCA	2964
hsa-miR-1225-3p	UGAGCCCCUGGCCGCCCCAG	154	CAGGGGCTC	1091	AGGGGCTC	2028	GGGGCTC	2965
hsa-miR-1225-5p	GUGGGUACGGCCAGUGGGGG	155	CCGTACCCA	1092	CGTACCCA	2029	GTACCCA	2966
hsa-miR-1226	UCACCAGCCUCUGUUCUAG	156	GGGCTGGT	1093	GGTGGT	2030	GCTGGT	2967
hsa-miR-1226*	GUGAGGGCAUGCAGCCUGGAUGGG	157	ATGCCCTCA	1094	TGCCCTCA	2031	GCCCTCA	2968
hsa-miR-1227	CGUGCCACCUUUUCCCGAG	158	GGGTGGCAC	1095	GGTGGCAC	2032	GTGGCAC	2969
hsa-miR-1228	UCACACCUGCCUGGCCCC	159	GCAGGTGTG	1096	CAGGTGTG	2033	AGGTGTG	2970
hsa-miR-1228*	UGGGGGGGGGCAGGUGUGUG	160	CCCCGCCA	1097	CCGCCCA	2034	CGGCCA	2971
hsa-miR-1229	CUCUCACCACUGCCUCCACAG	161	GTGGTGAGA	1098	TGGTGAGA	2035	GGTGAGA	2972
hsa-miR-1231	GUGUCUGGGCGACAGCUGC	162	GCCCAGACA	1099	CCCAGACA	2036	CCAGACA	2973
hsa-miR-1233	UGAGCCUGUCUCCCGAG	163	ACAGGGCTC	1100	CAGGGCTC	2037	AGGGCTC	2974
hsa-miR-1234	UCGGCCUGACCACCACCCAC	164	GTCAGGCCG	1101	TCAGGCCG	2038	CAGGCCG	2975
hsa-miR-1236	CCUCUCCCUUGUCUCCAG	165	GGGAAGAG	1102	GGGAAGAG	2039	GGAAGAG	2976
hsa-miR-1237	UCCUUCUGCCUGUCCCGAG	166	AGCAGAAGG	1103	GCAAGAAGG	2040	CAGAAGG	2977
hsa-miR-1238	CUUCCUGUCUGUCGCCCC	167	GACGAGGAA	1104	ACGAGGAA	2041	CGAGGAA	2978
hsa-miR-124	UAAGGCACCGGUGAAUGCC	168	GCGTGCTT	1105	CGTGCTT	2042	GTGCTT	2979
hsa-miR-124*	CGUGUACACAGCGACCUUGAU	169	TGTGAACAC	1106	GTGAACAC	2043	TGAACAC	2980
hsa-miR-1243	AACUGGAUUAUUUAGGAGUG	170	TGATCCAGT	1107	GATCCAGT	2044	ATCCAGT	2981
hsa-miR-1244	AAGUAGUUGGUUUGUAUGAGUUGU	171	CAACTACT	1108	CAACTACT	2045	AACTACT	2982
hsa-miR-1245	AAGUGAUCUAAAGGCCUACAU	172	TAGATCACT	1109	AGATCACT	2046	GATCACT	2983
hsa-miR-1246	AAUGGAUUUUUGGAGCAGG	173	AAAATCCAT	1110	AAATCCAT	2047	AATCCAT	2984
hsa-miR-1247	ACCCGUCCGUCCGCCCGGA	174	CGGACGGG	1111	GGGACGGG	2048	GGACGGG	2985
hsa-miR-1248	ACCUCUUGUAUAAGCACUGUCUAAA	175	ACAAGAAGG	1112	CAAGAAGG	2049	AAGAAGG	2986
hsa-miR-1249	ACGCCUUCGCCUUCUUA	176	GGAAGGGCG	1113	GAGGGCG	2050	AAGGGCG	2987
hsa-miR-1250	ACGGUGCUGGAUGUGGCCUUU	177	CCAGCACC	1114	CAGCACC	2051	AGCACC	2988
hsa-miR-1251	ACUCUAGCUGCCAAAGGCGCU	178	CAGCTAGAG	1115	AGCTAGAG	2052	GCTAGAG	2989
hsa-miR-1252	AGAAGAAAUGAAUUCUUA	179	ATTTCCTTC	1116	TTCCTTC	2053	TTCTTC	2990
hsa-miR-1253	AGAGAAGAAGUACAGCCUGCA	180	CTTCTCTC	1117	TCTCTCTC	2054	TCTCTCT	2991
hsa-miR-1254	AGCCUGGAAGCUGGAGCCUGCAGU	181	CTTCCAGGC	1118	TCCAGGC	2055	TCCAGGC	2992
hsa-miR-1255a	AGGAUGAGCAAAGAAAGUAGAUA	182	TGCTCATCC	1119	GCTCATCC	2056	CTCATCC	2993
hsa-miR-1255b	CGGAUGAGCAAAGAAAGUGGUU	183	TGCTCATCC	1120	GCTCATCC	2057	CTCATCC	2994
hsa-miR-1256	AGGCAUUGACUUCUCACUAGCU	184	GTCAATGCC	1121	TCAATGCC	2058	CAATGCC	2995
hsa-miR-1257	AGUGAUGAUGGGUUCUGACC	185	ATCATTAC	1122	TCAATTAC	2059	CATTAC	2996
hsa-miR-1258	AGUUAGGAUUAGGUCGUGGAA	186	AATCCTAAC	1123	ATCCTAAC	2060	CTCTAAC	2997
hsa-miR-1259	AUAUAUGAUGACUUAGCUUUU	187	CATCATATA	1124	ATCATATA	2061	TATATA	2998
hsa-miR-125a-3p	ACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCC	188	CCTCACCTG	1125	CTCACCTG	2062	TCACCTG	2999
hsa-miR-125a-5p	UCCUGAGACCCUUUAACUGUGA	189	GTCTCAGGG	1126	TCTCAGGG	2063	CTCAGGG	3000
hsa-miR-125b	UCCUGAGACCCUUAUCUUGUGA	190	GTCTCAGGG	1127	TCTCAGGG	2064	CTCAGGG	3001
hsa-miR-125b-1*	ACGGGUUAGGCUUCUUGGAGCU	191	CCTAACCCG	1128	CTAACCCG	2065	TAACCCG	3002
hsa-miR-125b-2*	UCACAAGUCAGGCUUUGGGAC	192	TGACTTGTG	1129	GACTTGTG	2066	ACTTGTG	3003
hsa-miR-126	UCGUACCUGAGUAUAUUGCG	193	CACGGTACG	1130	ACGGTACG	2067	CGGTACG	3004
hsa-miR-126*	CAUUUAUUCUUUGGUACGCG	194	AGTAATAAT	1131	GTAATAAT	2068	TAATAAT	3005
hsa-miR-1260	AUCCACCUCUGCCACCA	195	GAGGTGGGA	1132	AGGTGGGA	2069	GGTGGGA	3006
hsa-miR-1261	AUGGAUAAGGCUUUGGCUU	196	CCTATCCA	1133	CTTATCCA	2070	TTATCCA	3007
hsa-miR-1262	AUGGGUAAUUUGUAGAAGGAU	197	ATTCACCCA	1134	TTACCCA	2071	TCACCCA	3008
hsa-miR-1263	AUGGUACCUGGCAUACUGAGU	198	AGGTACCA	1135	GGTACCA	2072	GTACCA	3009

[0651]

hsa-miR-1264	CAAGUCUUUUUGAGCACCUGUU	199	ATAAGACTT	1136	TAAGACTT	2073	AAGACTT	3010
hsa-miR-1265	CAGGAUGUGGUCAGUGUUGUU	200	CCACATCCT	1137	CACATCCT	2074	ACATCCT	3011
hsa-miR-1266	CCUCAGGGCUGUAGAACAGGGCU	201	AGCCCTGAG	1138	GCCTGAG	2075	CCCTGAG	3012
hsa-miR-1267	CCUGUUGAAGUGUAAUCCCCA	202	CTTCAACAG	1139	TCAACAG	2076	TCAACAG	3013
hsa-miR-1268	CGGGCGUGGUGGUGGGG	203	ACCACGCC	1140	CCACGCC	2077	CACGCC	3014
hsa-miR-1269	CUGGACUGAGCCUGUACUGG	204	CTCAGTCCA	1141	TCACTCCA	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	CUGGAGAUUAGGAAGAGCUGUGU	207	ATATCTCCA	1144	TATCTCCA	2081	ATCTCCA	3018
hsa-miR-1271	CUUGGCACUAGCAAGCACUCA	208	AGGTGCCAA	1145	GGTGCCAA	2082	GTGCCAA	3019
hsa-miR-1272	GAUGAUGAUGGCAGAAAUCUGAAA	209	CATCATCAT	1146	ATCATCAT	2083	TCATCAT	3020
hsa-miR-1273	GGGCGCAAAGCAAGACUCUUUCU	210	TTTGTGCC	1147	TTGTGCC	2084	TGTGCC	3021
hsa-miR-1274a	GUCCCGUUCAGGGGCCA	211	GAACAGGA	1148	AACAGGA	2085	ACAGGA	3022
hsa-miR-1274b	UCCCUUUCGGGCGCCA	212	CGAACAGGG	1149	GAACAGGG	2086	ACAGGG	3023
hsa-miR-1275	GUGGGGAGAGGGUGUC	213	TCTCCCCA	1150	CTCCCCA	2087	TCCCCA	3024
hsa-miR-1276	UAAAGAGCCUCUGGAGACA	214	GGGCTTTT	1151	GGCTTTT	2088	GCTTTT	3025
hsa-miR-1277	UACGUAUAUAUAUGUAUUUU	215	TATCTACGT	1152	ATCTACGT	2089	TCTACGT	3026
hsa-miR-1278	UAGUACUGUGCAUAUCAUCUAU	216	CACAGTACT	1153	ACAGTACT	2090	CAGTACT	3027
hsa-miR-1279	UCAUUAUGCUUCUUUCU	217	AGCAATATG	1154	GCAATATG	2091	CAATATG	3028
hsa-miR-128	UCACAGUGAACCGUCUCUUU	218	TTCAGTGTG	1155	TCACTGTG	2092	CAGTGTG	3029
hsa-miR-1280	UCCACCGUCAGGGCCCA	219	AGCGTGGG	1156	GCGTGGG	2093	CGTGGG	3030
hsa-miR-1281	UCGCCUUCUCCUCCUCC	220	GAGSAGGG	1157	AGSAGGG	2094	GSAGGG	3031
hsa-miR-1282	UCGUUUGCUUUUUCUGCUU	221	AGGCAACG	1158	GCAACG	2095	GCAACG	3032
hsa-miR-1283	UCUACAAAGGAAGGCUUUUCU	222	CCTTTGTAG	1159	CTTTGTAG	2096	TTGTAG	3033
hsa-miR-1284	UCUAUCAGACCUCGCUUUUC	223	TCTGTATAG	1160	CTGTATAG	2097	TGTATAG	3034
hsa-miR-1285	UCUGGGACACAAAGAGAGCCU	224	GTTGCCAG	1161	TGCCAG	2098	TGCCAG	3035
hsa-miR-1286	UGCAGGACCAAGAUGAGCCU	225	TGGTCTGC	1162	GGTCTGC	2099	GTCCTGC	3036
hsa-miR-1287	UGCUUUGAGGAGGUCGAGUC	226	TGATCCAG	1163	GATCCAG	2100	ATCCAG	3037
hsa-miR-1288	UGGACUGCCUUGAUCUGGAGA	227	GGCAGTCC	1164	GCACTCC	2101	GCACTCC	3038
hsa-miR-1289	UGGAGUCCAGGAUCUGCAUUUU	228	CTGGACTCC	1165	TGGACTCC	2102	GGACTCC	3039
hsa-miR-129*	AAGCCUUAUCCCCAAAAGUAU	229	GTAAGGGCT	1166	TAAGGGCT	2103	AAGGGCT	3040
hsa-miR-129-3p	AAGCCUUAUCCCCAAAAGUAU	230	GTAAGGGCT	1167	TAAGGGCT	2104	AAGGGCT	3041
hsa-miR-129-5p	CUUUUUGCGGUCUGGGCUUGC	231	CCGAAAAA	1168	GCAAAAA	2105	GCAAAAA	3042
hsa-miR-1290	UGGAUUUUGGAUCAGGGGA	232	CAAAATCC	1169	AAAATCC	2106	AAATCC	3043
hsa-miR-1291	UGCCUCCAGCUGAAGACCAGCGU	233	GTCAGGGCC	1170	TCAGGGCC	2107	CAGGGCC	3044
hsa-miR-1292	UGGGAACGGGUCCGGCAGACGCG	234	CCGTTC	1171	CGTTC	2108	GTTCC	3045
hsa-miR-1293	UGGUGGUCUGGAGAUUUGUGC	235	AGACCACC	1172	GACCACC	2109	ACCACC	3046
hsa-miR-1294	UGUGAGGUGGCAUUGUUGUCU	236	CAACCTCAC	1173	AACCTCAC	2110	ACCTCAC	3047
hsa-miR-1295	UUAGGCCGAGAUUCUGGUGA	237	TGCGCCTA	1174	GCGCCTA	2111	CGCCTA	3048
hsa-miR-1296	UUAGGCCUCCGUCUCCUCC	238	AGGGCCCTA	1175	GGGGCCCTA	2112	GCCCTA	3049
hsa-miR-1297	UUCAGUAUUUCAGGUG	239	ATTACTTGA	1176	TACTTGA	2113	TACTTGA	3050
hsa-miR-1298	UUCAUUCGGUCUCCAGAUUGA	240	GCCGAATGA	1177	CGGAATGA	2114	CGAATGA	3051
hsa-miR-1299	UUCUGGAAUUCUGUGAGGGA	241	AATCCAGA	1178	ATCCAGA	2115	TCCAGA	3052
hsa-miR-1300	UUGAGAAGGAGGUCGUG	242	TCCTTCTCA	1179	CCTTCTCA	2116	CTTCTCA	3053
hsa-miR-1301	UUGCAGCUGCUGGGAGUGACUUC	243	GCAGCTGCA	1180	CAGCTGCA	2117	AGCTGCA	3054
hsa-miR-1302	UUGGGACAUAUUGCUAAA	244	TATGTCCA	1181	ATGTCCA	2118	TGTCCA	3055
hsa-miR-1303	UUUAGAGACGGGUCUUGUCUCU	245	CGTCTCTAA	1182	GTCTCTAA	2119	TCTCTAA	3056
hsa-miR-1304	UUUGAGGCUACAGUGAGUGUG	246	TAGCTCAA	1183	AGCTCAA	2120	GCTCAA	3057
hsa-miR-1305	UUUCAAUCUUAUUGGAGAGA	247	GAGTTGAAA	1184	AGTTGAAA	2121	GTTGAAA	3058
hsa-miR-1306	ACGUUGGUCUGGUGGUG	248	GAGCCAACG	1185	AGCCAACG	2122	GCCAACG	3059
hsa-miR-1307	ACUCGGCGUGGCGUCGGUCGUG	249	CACCCGAG	1186	AGCCGAG	2123	CGCCGAG	3060
hsa-miR-1308	GCAUGGGUGGUUCAGUGG	250	CCACCCATG	1187	CACCCATG	2124	ACCCATG	3061
hsa-miR-130a	CAGUGCAAUGUAAAAGGGCAU	251	CATTGCACT	1188	ATTGCACT	2125	TGCACT	3062
hsa-miR-130a*	UUCACAUUGUCUACUGUCUCG	252	ACAATGTGA	1189	CAATGTGA	2126	AATGTGA	3063
hsa-miR-130b	CAGUGCAAUGAUGAAAGGGCAU	253	CATTGCACT	1190	ATTGCACT	2127	TGCACT	3064

[0652]

hsa-miR-130b*	ACUCUUUCCUGUUGCACUAC	254	GGGAAAGAG	1191	GGAAAGAG	2128	GAAGAG	3065
hsa-miR-132	UAACAGUCUACAGCCAUUGGUCG	255	TAGACTGTT	1192	AGACTGTT	2129	GACTGTT	3066
hsa-miR-132*	ACCGUGGCUUUCGAUUGUUACU	256	AAGCCACGG	1193	AGCCACGG	2130	GCCACGG	3067
hsa-miR-1321	CAGGGAGGUGAAUGUGAU	257	CACCTCCCT	1194	ACCTCCCT	2131	CCTCCCT	3068
hsa-miR-1322	GAUGAUGCUGCUGAUGCUG	258	CAGCATCAT	1195	AGCATCAT	2132	GCATCAT	3069
hsa-miR-1323	UCAAAACUGAGGGGCAUUUUCU	259	TCAGTTTGT	1196	CAGTTTGT	2133	AGTTTGT	3070
hsa-miR-1324	CCAGACAGAAUUCUAGCACUUUC	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	UGUGACUGGUGACCAGAGGGG	263	ACCAGTCAC	1200	CCAGTCAC	2137	CAGTCAC	3074
hsa-miR-135a	UAUGGCUUUUAUUCUUAUGUGA	264	AAAAGCCAT	1201	AAAGCCAT	2138	AAGCCAT	3075
hsa-miR-135a*	UAUAGGGAUUGGAGCCGUGGGG	265	AATCCCTAT	1202	ATCCCTAT	2139	TCCCTAT	3076
hsa-miR-135b	UAUGGCUUUUAUUCUUAUGUGA	266	AAAAGCCAT	1203	AAAGCCAT	2140	AAGCCAT	3077
hsa-miR-135b*	AUGUAGGGCUAAAAGCCAUUGGG	267	AGCCCTACA	1204	GCCCTACA	2141	CCCTACA	3078
hsa-miR-136	ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGA	268	CAAATGGAG	1205	AAATGGAG	2142	AATGGAG	3079
hsa-miR-136*	CAUCAUCGUCUCAAUAGUGUCU	269	GACGATGAT	1206	ACGATGAT	2143	CGATGAT	3080
hsa-miR-137	UUUAGUCUUAAGAAUACGCGUAG	270	TAAGCAATA	1207	AAGCAATA	2144	AGCAATA	3081
hsa-miR-138	AGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCG	271	AACACCAGC	1208	ACACCAGC	2145	CACCAGC	3082
hsa-miR-138-1*	GCUACUUACAAACCAGGGCC	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	GCGTCTC	3085
hsa-miR-139-5p	UCUACAGUGCACGUGUCUCCAG	275	GCACTGTAG	1212	CACTGTAG	2149	ACTGTAG	3086
hsa-miR-140-3p	UACCACAGGGUAGAACCACGG	276	CCCTGTGGT	1213	CCTGTGGT	2150	CTGTGGT	3087
hsa-miR-140-5p	CAGUGGUUUUACCCUUAUGGUAG	277	AAAACCACT	1214	AAACCACT	2151	AACCACT	3088
hsa-miR-141	UAACACUGUCUGGUAAGAAGUGG	278	GACAGTGTT	1215	ACAGTGTT	2152	CAGTGTT	3089
hsa-miR-141*	CAUCUCCAGUACAGUGUUGGA	279	CTGGAAGAT	1216	TGGAAGAT	2153	GGAAGAT	3090
hsa-miR-142-3p	UGUAGUGUUUUCUACUUUAUGGA	280	AAACACTAC	1217	AACACTAC	2154	AACTACTAC	3091
hsa-miR-142-5p	CAUAAAAGUAGAAAGCAUACU	281	CTACTTTAT	1218	TACTTTAT	2155	ACTTTAT	3092
hsa-miR-143	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	282	CTTCATCTC	1219	TTCATCTC	2156	TCATCTC	3093
hsa-miR-143*	GGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGU	283	GCACCTGCAC	1220	CACTGCAC	2157	ACTGCAC	3094
hsa-miR-144	UACAGUAUAGAUGAUGUACU	284	CTACTACTGT	1221	TACTACTGT	2158	ACTACTGT	3095
hsa-miR-144*	GGUAUUAUCAUAUAUCUGUAAG	285	GATGATATC	1222	ATGATATC	2159	TGATATC	3096
hsa-miR-145	GUCCAGUUUUCUCCAGGAAUCCCU	286	AAAACCTGGA	1223	AAACTGGA	2160	AACTGGA	3097
hsa-miR-145*	GGAUUCUUGGAAAUAUCUGUUCU	287	CCAGGAATC	1224	CAGGAATC	2161	AGGAATC	3098
hsa-miR-1468	CUCGCUUUGCCUGUUUCGUG	288	GCAAAACGGA	1225	CAAACGGA	2162	AAACGGA	3099
hsa-miR-1469	CUCGGCCGCGGGCGCGGGCUCC	289	CCGCGCCGA	1226	CGCGCCGA	2163	GCGCCGA	3100
hsa-miR-146a	UGAGAUCUGAAUUCUCCAUUGGUU	290	TCAGTTCTC	1227	CAGTTCTC	2164	AGTTCTC	3101
hsa-miR-146a*	CCUCUGAAAUAUCAGUUUCUUCAG	291	ATTTTCAGAG	1228	TTTCAGAG	2165	TTCAGAG	3102
hsa-miR-146b-3p	UGCCUGUGGACUCAGUUUCUGG	292	CCACAGGGC	1229	CACAGGGC	2166	ACAGGGC	3103
hsa-miR-146b-5p	UGAGAUCUGAAUUCUCCAUUGGCU	293	TCAGTTCTC	1230	CAGTTCTC	2167	AGTTCTC	3104
hsa-miR-147	GUGUGUGGAAAUGCUUCUCG	294	TTCCACACA	1231	TCCACACA	2168	CCACACA	3105
hsa-miR-1470	GCCUUCGCGCCGUGCACCCCG	295	GGCGGAGGG	1232	GCGGAGGG	2169	CGGAGGG	3106
hsa-miR-1471	GCCCGCGUGUGGAGCCAGGUGU	296	ACACGCGGG	1233	CACGCGGG	2170	ACGCGGG	3107
hsa-miR-147b	GUGUGCGGAAAUGCUUCUGCUA	297	TTCCGCACA	1234	TCCGCACA	2171	CCGCACA	3108
hsa-miR-148a	UCAGUGCACUACAGAACUUUGU	298	AGTGCCTG	1235	GTGCCTG	2172	TGCCTG	3109
hsa-miR-148a*	AAAGUUCUGAGACACUCCGACU	299	TCAGAACTT	1236	CAGAACTT	2173	AGAACTT	3110
hsa-miR-148b	UCAGUGCAUCACAGAACUUUGU	300	GATGCACTG	1237	ATGCACTG	2174	TGCACTG	3111
hsa-miR-148b*	AAGUUCUGUUUAUACACUCAGGC	301	AACAGAACT	1238	ACAGAACT	2175	CAGAACT	3112
hsa-miR-149	UCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCC	302	CGGAGCCAG	1239	GGAGCCAG	2176	GAGCCAG	3113
hsa-miR-149*	AGGGAGGGACGGGGGUGUGC	303	GTCCCTCCC	1240	TCCCTCCC	2177	CCCTCCC	3114
hsa-miR-150	UCUCCCAACCCUUGUACAGAG	304	GTTGGGAG	1241	GTGGGAG	2178	TTGGGAG	3115
hsa-miR-150*	CUGGUACAGGCCUGGGGACAG	305	CCTGTACCA	1242	CTGTACCA	2179	TGTACCA	3116
hsa-miR-151-3p	CUAGACUGAAGCUUCUUGAGG	306	TTCACTCTA	1243	TCACTCTA	2180	CACTCTA	3117
hsa-miR-151-5p	UCGAGGAGCUCACAGUCUAGU	307	AGCTCCTCG	1244	GCTCCTCG	2181	CTCCTCG	3118
hsa-miR-152	UCAGUGCAUGACAGAACUUGG	308	CATGCACTG	1245	ATGCACTG	2182	TGCACTG	3119

hsa-miR-153	UUGCAUAGUCACAAAAGUGAUC	309	GACTATGCA	1246	ACTATGCA	2183	CTATGCA	3120
hsa-miR-1537	AAAACCGUCUAGUUAACAGUUGU	310	AGACGGTTT	1247	GACGGTTT	2184	ACGGTTT	3121
hsa-miR-1538	CGGCCCGGGUCGUCGUGUUCU	311	GCCCGGGCC	1248	CCCGGGCC	2185	CCGGGCC	3122
hsa-miR-1539	UCCUGCGGUCUCCAGAUGCC	312	ACGCGCAGG	1249	CGCGCAGG	2186	GCGCAGG	3123
hsa-miR-154	UAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCG	313	GGATAACCT	1250	GATAACCT	2187	ATAACCT	3124
hsa-miR-154*	AAUCAUACACGGUUGACCUAAU	314	GTGTATGAT	1251	TGTATGAT	2188	GTATGAT	3125
hsa-miR-155	UUAUAGCUAAUCGUGAUAGGGGU	315	TTAGCATT	1252	TAGCATT	2189	AGCATT	3126
hsa-miR-155*	CUCCUACAUUUAGCAUUAACA	316	TATGTAGGA	1253	ATGTAGGA	2190	TGTAGGA	3127
hsa-miR-15a	UAGCAGCACAUAAUGGUUUGUG	317	TGTGCTGCT	1254	GTGCTGCT	2191	TGCTGCT	3128
hsa-miR-15a*	CAGGCCAUUUGUGUCGCCUCA	318	ATATGGCCT	1255	TATGGCCT	2192	ATGGCCT	3129
hsa-miR-15b	UAGCAGCACAUCAUGGUUUAACA	319	TGTGCTGCT	1256	GTGCTGCT	2193	TGCTGCT	3130
hsa-miR-15b*	CGAAUCAUUAUUUGCUGUCUCA	320	TAATGATT	1257	AATGATT	2194	ATGATT	3131
hsa-miR-16	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGG	321	CGTCTGCT	1258	GTGCTGCT	2195	TGCTGCT	3132
hsa-miR-16-1*	CCAGUAUUAAUCUGUCUGCUGA	322	TTAATACTG	1259	TAATACTG	2196	AATACTG	3133
hsa-miR-16-2*	CCAAUAUUACUGUCUGCUUUA	323	GTAATATTG	1260	TAATATTG	2197	AATATTG	3134
hsa-miR-17	CAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	324	AAGCACTTT	1261	AGCACTTT	2198	GCACTTT	3135
hsa-miR-17*	ACUGCAGUGAAGGCACUUGUAG	325	TCACTGCAG	1262	CACTGCAG	2199	ACTGCAG	3136
hsa-miR-181a	AACAUCACACGUCUGCGUGAGU	326	GTTGAATGT	1263	TTGAATGT	2200	TGAATGT	3137
hsa-miR-181a*	ACCAUCCACCGUUGAUUGUACC	327	GGTCGATGG	1264	GTCGATGG	2201	TCGATGG	3138
hsa-miR-181a-2*	ACCACUGACCGUUGACUGUACC	328	GGTCAGTGG	1265	GTCAGTGG	2202	TCAGTGG	3139
hsa-miR-181b	AACAUCUUAUGUCUGCGUGGGU	329	AATGAATGT	1266	ATGAATGT	2203	TGAATGT	3140
hsa-miR-181c	AACAUCUUAACCGUCUGCGUGAGU	330	GTTGAATGT	1267	TTGAATGT	2204	TGAATGT	3141
hsa-miR-181c*	AACCAUCGACCGUUGAGUGGGAC	331	GTCGATGGT	1268	TCGATGGT	2205	CGATGGT	3142
hsa-miR-181d	AACAUCUUAUGUCUGCGUGGGU	332	AATGAATGT	1269	ATGAATGT	2206	TGAATGT	3143
hsa-miR-182	UUUGGCAUUGGUAAGAUCACACU	333	CATTGCCAA	1270	ATTGCCAA	2207	TTGCCAA	3144
hsa-miR-182*	UGGUUCUAGACUUGCCAACUA	334	TCTAGAACC	1271	CTAGAACC	2208	TAGAACC	3145
hsa-miR-1825	UCCAGUGCCCUCCUCUCC	335	GGGCACTGG	1272	GGCACTGG	2209	GCACTGG	3146
hsa-miR-1826	AUUGAUCAUCGACACUUCGAACGCAU	336	GATGATCAA	1273	ATGATCAA	2210	TGATCAA	3147
hsa-miR-1827	UGAGGCAGUAGAUUGAAU	337	TACTGCCTC	1274	ACTGCCTC	2211	CTGCCTC	3148
hsa-miR-183	UAUGGCACUGGUAGAAUUCACU	338	CAGTGCCAT	1275	AGTGCCAT	2212	GTGCCAT	3149
hsa-miR-183*	GUGAAUUAACCGAAGGGCCAUAA	339	GGTAATTCA	1276	GTAATTCA	2213	TAATTCA	3150
hsa-miR-184	UGGACGGAGAACUGAUAAAGGGU	340	TCTCCGTCC	1277	CTCCGTCC	2214	TCCGTCC	3151
hsa-miR-185	UGGAGAGAAAGGCAGUUCUGA	341	TTTCTCTCC	1278	TTCTCTCC	2215	TCTCTCC	3152
hsa-miR-185*	AGGGGCGGCUUCCUCUGGUC	342	GCCAGCCCC	1279	CCAGCCCC	2216	CAGCCCC	3153
hsa-miR-186	CAAAAGAAUUCUCCUUUGGGCU	343	GAATTCTTT	1280	AATTCTTT	2217	ATTCTTT	3154
hsa-miR-186*	GCCCAAAGGUAUUUUUUGGG	344	ACCTTTGGG	1281	CCTTTGGG	2218	CTTTGGG	3155
hsa-miR-187	UCUGUCUUGUGUUGCAGCCGG	345	CAAGACACG	1282	AAGACACG	2219	AGACACG	3156
hsa-miR-187*	GGCUACAACACAGGACCCGGGC	346	TGTTGTAGC	1283	GTTGTAGC	2220	TTGTAGC	3157
hsa-miR-188-3p	CUCCACAUAGCAGGGUUUGCA	347	CATGTGGGA	1284	ATGTGGGA	2221	TGTGGGA	3158
hsa-miR-188-5p	CAUCCUUGCAUGGUGGAGGG	348	GCAAGGGAT	1285	CAAGGGAT	2222	AAGGGAT	3159
hsa-miR-18a	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAG	349	ATGCACCTT	1286	TGCACCTT	2223	GCACCTT	3160
hsa-miR-18a*	ACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGG	350	TTAGGGCAG	1287	TAGGGCAG	2224	AGGGCAG	3161
hsa-miR-18b	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGUUAAG	351	ATGCACCTT	1288	TGCACCTT	2225	GCACCTT	3162
hsa-miR-18b*	UGCCCUAAAUGCCCCUUCUGGC	352	ATTTAGGGC	1289	TTTAGGGC	2226	TTAGGGC	3163
hsa-miR-190	UGAUUUGUUUGAUUAUUAAGGU	353	AAACATATC	1290	AACATATC	2227	ACATATC	3164
hsa-miR-1908	CGGCGGGGACGGCGAUUGGUC	354	GTCCCCGCC	1291	TCCCCGCC	2228	CCCCGCC	3165
hsa-miR-1909	CGCAGGGGGCGGGUCUCACCG	355	GGCCCCTGC	1292	GCCCCTGC	2229	CCCCTGC	3166
hsa-miR-1909*	UGAGUGCCGGUGCCUGCCUG	356	CCGGCACTC	1293	CGGCACTC	2230	GCACTC	3167
hsa-miR-190b	UGAUUUGUUUGAUUAUUGGGUU	357	AAACATATC	1294	AACATATC	2231	ACATATC	3168
hsa-miR-191	CAAGGAAUCCCAAAGCAGCUG	358	GATTCCGTT	1295	ATTCCGTT	2232	TCCGTT	3169
hsa-miR-191*	GCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCC	359	CAAGCGCAG	1296	AAGCGCAG	2233	AGCGCAG	3170
hsa-miR-1910	CCAGUCCUGGCCUGCCGCCU	360	ACAGGACTG	1297	CAGGACTG	2234	AGGACTG	3171
hsa-miR-1911	UGAGUACCGCCCAUGUCUGUUGGG	361	GCGGTACTC	1298	CGGTACTC	2235	GGTACTC	3172
hsa-miR-1911*	CACCAAGCAUUGUGGUCUCC	362	ATGCCTGGT	1299	TGCCTGGT	2236	GCCTGGT	3173
hsa-miR-1912	UACCCAGAGCAUGCAGUGUGAA	363	GCTCTGGGT	1300	CTCTGGGT	2237	TCTGGGT	3174

[0654]

hsa-miR-1913	UCUGCCCCUCCGUGUGCCA	364	AGGGGGCAG	1301	GGGGGCAG	2238	GGGGCAG	3175
hsa-miR-1914	CCUUGGCCCGGCCACUUCUG	365	GGGCACAGG	1302	GGCACAGG	2239	GCACAGG	3176
hsa-miR-1914*	GGAGGGGUCCCGCACUGGGAGG	366	GGACCCCTC	1303	GACCCCTC	2240	ACCCCTC	3177
hsa-miR-1915	CCCCAGGGCGACGGCGGG	367	CGCCCTGGG	1304	GCCCTGGG	2241	CCCTGGG	3178
hsa-miR-1915*	ACCUUGCCUUGUCGCCGGGCC	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	AACUGGCCUACAAGUCCAGU	371	TAGGCCAGT	1308	AGGCCAGT	2245	GGCCAGT	3182
hsa-miR-193a-5p	UGGGUCUUUGCGGGCAGAUAGA	372	CAAAGACCC	1309	AAAGACCC	2246	AAGACCC	3183
hsa-miR-193b	AACUGGCCUCAAGUCCCGCU	373	AGGGCCAGT	1310	GGGCCAGT	2247	GGCCAGT	3184
hsa-miR-193b*	CGGGUUUUUGAGGGCAGAUAGA	374	CAAAACCCC	1311	AAAACCCC	2248	AAACCCC	3185
hsa-miR-194	UGUAACAGCAACUCCAUUGGGA	375	TGCTGTAC	1312	GCTGTAC	2249	CTGTAC	3186
hsa-miR-194*	CCAGUGGGGUGUGUUAUCUG	376	GCCCCACTG	1313	CCCCACTG	2250	CCCACTG	3187
hsa-miR-195	UAGCAGCACAGAAUAUUGGC	377	TGTGCTGCT	1314	GTGCTGCT	2251	TGCTGCT	3188
hsa-miR-195*	CCAAUAUUGGCUUGUGUCUCC	378	CCAATATTG	1315	CAATATTG	2252	AATATTG	3189
hsa-miR-196a	UAGGUAGUUUCAUGUUGUUGG	379	AACTACCT	1316	AACTACCT	2253	ACTACCT	3190
hsa-miR-196a*	CGGCAACAAGAAACUGCCUGAG	380	CTTGTGCC	1317	TGTGTGCC	2254	TGTGCC	3191
hsa-miR-196b	UAGGUAGUUUCCUGUUGUUGG	381	AACTACCT	1318	AACTACCT	2255	ACTACCT	3192
hsa-miR-197	UUCACCACUUCUCCACCCAGC	382	AGGTGGTGA	1319	GGTGGTGA	2256	GTGGTGA	3193
hsa-miR-198	GGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUC	383	CCTCTGGAC	1320	CTCTGGAC	2257	TCTGGAC	3194
hsa-miR-199a-5p	CCCAGUUGUUCAGACUACCUGUUC	384	GAACACTGG	1321	AACACTGG	2258	ACACTGG	3195
hsa-miR-199b-3p	ACAGUAGUCUGGCACAUUGGUUA	385	AGACTACTG	1322	GACTACTG	2259	ACTACTG	3196
hsa-miR-199b-5p	CCCAGUUGUUCAGACUACCUGUUC	386	AAACACTGG	1323	AACACTGG	2260	ACACTGG	3197
hsa-miR-199a	UGUGCAAUUCUAGCAAACUGA	387	GATTGAC	1324	ATTGAC	2261	TTGAC	3198
hsa-miR-199a*	AGUUUUGCAUAGUUGCACUACA	388	ATGAAAAC	1325	TGAAAAC	2262	GAAAAC	3199
hsa-miR-199b	UGUGCAAUUCUAGCAAACUGA	389	GATTGAC	1326	ATTGAC	2263	TTGAC	3200
hsa-miR-199b-1*	AGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGC	390	CTGAAAAC	1327	TGAAAAC	2264	GAAAAC	3201
hsa-miR-199b-2*	AGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGC	391	CTGAAAAC	1328	TGAAAAC	2265	GAAAAC	3202
hsa-miR-200a	UAACACUGUCUGUUAACGAUGU	392	GACAGTGT	1329	ACAGTGT	2266	CAGTGT	3203
hsa-miR-200a*	CAUCUUACCCGGACAGUUGGGA	393	CGGTAAGAT	1330	GGTAAGAT	2267	GTAAGAT	3204
hsa-miR-200b	UAUACUGCCUGUUAUGAUGA	394	GGCAGTATT	1331	GCAGTATT	2268	CAGTATT	3205
hsa-miR-200b*	CAUCUUACUGGGCAGCAUUGGGA	395	CAGTAAGAT	1332	AGTAAGAT	2269	GTAAGAT	3206
hsa-miR-200c	UAUACUGCCGGUUAUGAUGGGA	396	GGCAGTATT	1333	GCAGTATT	2270	CAGTATT	3207
hsa-miR-200c*	CGUCUUACCCAGCAGUUGUUGG	397	GGGTAAGAC	1334	GGTAAGAC	2271	GTAAGAC	3208
hsa-miR-202	AGAGGUUAAGGGCAGGGAA	398	CTATACCTC	1335	TATACCTC	2272	ATACCTC	3209
hsa-miR-202*	UUCCUUAUGCAUUAUCUUUUG	399	TGCATAGGA	1336	GCATAGGA	2273	CATAGGA	3210
hsa-miR-203	GUGAAUUGUUUAGGACCACUAG	400	AACATTCA	1337	ACATTCA	2274	CATTCA	3211
hsa-miR-204	UUCCUUUGUCAUCCUUAUGCCU	401	ACAAAGGGA	1338	CAAAGGGA	2275	AAAGGGA	3212
hsa-miR-205	UCCUUAUUCACCCGGAGUCUG	402	GAATGAAGG	1339	AATGAAGG	2276	ATGAAGG	3213
hsa-miR-206	UGGAUUGUAAGGAAGUGUGG	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-208a	UAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAG	406	AAGCACTTT	1343	AGCACTTT	2280	GCACTTT	3217
hsa-miR-208a*	ACUGCAUUAUGAGCACUAAAAG	407	ATAATGCAG	1344	TAATGCAG	2281	AATGCAG	3218
hsa-miR-208b	CAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAG	408	GAGCACTTT	1345	AGCACTTT	2282	GCACTTT	3219
hsa-miR-208b*	ACUGUAGUAUGGGCACUCCAG	409	ATACTACAG	1346	TACTACAG	2283	ACTACAG	3220
hsa-miR-21	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	410	TGATAAGCT	1347	GATAAGCT	2284	ATAAGCT	3221
hsa-miR-21*	CAACACCAGUCGUAUGGCGUGU	411	ACTGGTGT	1348	CTGGTGT	2285	TGGTGT	3222
hsa-miR-210	CUGUGCGUGGACAGCGGCUGA	412	ACACGCACA	1349	CACGCACA	2286	ACGCACA	3223
hsa-miR-211	UUCCUUUGUCAUCCUUCGCCU	413	ACAAAGGGA	1350	CAAAGGGA	2287	AAAGGGA	3224
hsa-miR-212	UAACAGUCUCCAGUCACGGCC	414	GAGACTGTT	1351	AGACTGTT	2288	GACTGTT	3225
hsa-miR-214	ACAGCAGGCACAGACAGGCAGU	415	TGCCTGCTG	1352	GCCTGCTG	2289	CCTGCTG	3226
hsa-miR-214*	UGCUUGUCUACACUUGCUGUGC	416	TAGCAGGC	1353	AGCAGGC	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

[0655]

hsa-miR-216b	AAAUUCUGCAGGCAAUUGUGA	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*	AUGGUUCCGUAAGCACC AUGG	422	ACGGAACCA	1359	CGGAACCA	2296	GGAACCA	3233
hsa-miR-218-2*	CAUGGUUCUGUCAAGCACC GCG	423	CAGAACCAT	1360	AGAACCAT	2297	GAACCAT	3234
hsa-miR-219-1-3p	AGAGUUGAGUCUGGACGUC CCG	424	ACTCAACTC	1361	CTCAACTC	2298	TCAACTC	3235
hsa-miR-219-2-3p	AGAAUUGUGGUGGACAUCUGU	425	CCACAATTC	1362	CACAATTC	2299	ACAATTC	3236
hsa-miR-219-5p	UGAUUGUCCAAACGCAAUUCU	426	TGGACAATC	1363	GGACAATC	2300	GACAATC	3237
hsa-miR-22	AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	427	CTGGCAGCT	1364	TGGCAGCT	2301	GGCAGCT	3238
hsa-miR-22*	AGUUCUUCAGUGGCAAGCUUUA	428	CTGAAGAAC	1365	TGAAGAAC	2302	GAAGAAC	3239
hsa-miR-220a	CCACACCGUAUCUGACACUUU	429	TACGGTGTG	1366	ACGGTGTG	2303	CGGTGTG	3240
hsa-miR-220b	CCACCACCGUGUCUGACACUU	430	ACGGTGTG	1367	CGGTGTG	2304	GGTGTG	3241
hsa-miR-220c	ACACAGGGCUGUGUGAAGACU	431	AGCCCTGTG	1368	GCCCTGTG	2305	CCCTGTG	3242
hsa-miR-221	AGCUACAUUGUCUGGUGUUUC	432	CAATGTAGC	1369	AATGTAGC	2306	ATGTAGC	3243
hsa-miR-221*	ACCUGGCAUACAAUGUAGAUUU	433	TATGCCAGG	1370	ATGCCAGG	2307	TGCCAGG	3244
hsa-miR-222	AGCUACAUUGGCUACUGGGU	434	AGATGTAGC	1371	GATGTAGC	2308	ATGTAGC	3245
hsa-miR-222*	CUCAGUAGCCAGUGUAGAUCCU	435	GGCTACTGA	1372	GCTACTGA	2309	CTACTGA	3246
hsa-miR-223	UGUCAGUUUGUCAAAUACCCCA	436	CAAAGTAC	1373	AAAGTAC	2310	AAAGTAC	3247
hsa-miR-223*	CGUGUAUUUGACCAAGCUGAGUU	437	CAAATACAC	1374	AAATACAC	2311	AATACAC	3248
hsa-miR-224	CAAGUCACUAGUGGUUCCGUU	438	TAGTGACTT	1375	AGTGACTT	2312	GTGACTT	3249
hsa-miR-23a	AUCACAUUGCCAGGGAUUUCC	439	GCAATGTGA	1376	CAATGTGA	2313	AATGTGA	3250
hsa-miR-23a*	GGGDUUCUGGGGAUGGGAUUU	440	CAGGAACCC	1377	AGGAACCC	2314	GGAACCC	3251
hsa-miR-23b	AUCACAUUGCCAGGGAUUACC	441	GCAATGTGA	1378	CAATGTGA	2315	AATGTGA	3252
hsa-miR-23b*	UGGGUUCUGGGCAUGCUGAUUU	442	CAGGAACCC	1379	AGGAACCC	2316	GGAACCC	3253
hsa-miR-24	UGGCUCAGUUCAGCAGGAACAG	443	AACTGAGCC	1380	ACTGAGCC	2317	CTGAGCC	3254
hsa-miR-24-1*	UGCCUACUGAGCUGAUUACAGU	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	GTCCTCGCC	1384	TCTCGCC	2321	CTCGCC	3258
hsa-miR-26a	UUCAAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	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	UUCAAAGUAAUCCAGGAUAGGU	451	ATTACTTGA	1388	TTACTTGA	2325	TACTTGA	3262
hsa-miR-26b*	CCUGUUCUCCAUUACUUGGCUC	452	GGAGAACAG	1389	GAGAACAG	2326	AGAACAG	3263
hsa-miR-27a	UUCACAGUGGCUAAGUUCGCG	453	CCACTGTGA	1390	CACTGTGA	2327	ACTGTGA	3264
hsa-miR-27a*	AGGGUUCAGCUGCUUGUGAGCA	454	GCTAAGCCC	1391	CTAAGCCC	2328	TAAGCCC	3265
hsa-miR-27b	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	455	CCACTGTGA	1392	CACTGTGA	2329	ACTGTGA	3266
hsa-miR-27b*	AGAGCUUAGCUGAUUGGUGAAC	456	GCTAAGCTC	1393	CTAAGCTC	2330	TAAGCTC	3267
hsa-miR-28-3p	CACUAGAUUGAGGCUCCUGGA	457	CAATCTAGT	1394	AATCTAGT	2331	ATCTAGT	3268
hsa-miR-28-5p	AAGGAGCUCACAGUCUAUUGAG	458	TGAGCTCCT	1395	GAGCTCCT	2332	AGCTCCT	3269
hsa-miR-296-3p	GAGGGUUGGGUGGAGGCUCCU	459	CCCAACCC	1396	CCAACCC	2333	CAACCC	3270
hsa-miR-296-5p	AGGGCCCCCUCUCAAUCCUGU	460	GGGGGGCCC	1397	GGGGGGCCC	2334	GGGGCCC	3271
hsa-miR-297	AUGUAUGUGUGCAUGUGCAUG	461	ACACATACA	1398	CACATACA	2335	ACATACA	3272
hsa-miR-298	AGCAGAAGCAGGGAGGUUCUCCCA	462	TGCTTCTGC	1399	GCTTCTGC	2336	CTTCTGC	3273
hsa-miR-299-3p	UAUGUGGGAUGGUAACCCGCUU	463	ATCCCACAT	1400	TCCCACAT	2337	CCCACAT	3274
hsa-miR-299-5p	UGGUUUACCGUCCCAUACAU	464	CGGTAAACC	1401	GGTAAACC	2338	GTAACC	3275
hsa-miR-29a	UAGCACCAUCUGAAUCCGGUUA	465	GATGGTGCT	1402	ATGGTGCT	2339	TGGTGCT	3276
hsa-miR-29a*	ACUGAUUUUUUGGUGUUCAG	466	AGAAATCAG	1403	GAAATCAG	2340	AAATCAG	3277
hsa-miR-29b	UAGCACCAUUGAAUUCAGUGUU	467	AATGGTGCT	1404	ATGGTGCT	2341	TGGTGCT	3278
hsa-miR-29b-1*	GCUGGUUUCAUUUGGUGUUAGA	468	TGAAACCAG	1405	GAAACCAG	2342	AAACCAG	3279
hsa-miR-29b-2*	CUGGUUUUCAUUUGGUGGUUAG	469	GTGAAACCA	1406	TGAAACCA	2343	GAAACCA	3280
hsa-miR-29c	UAGCACCAUUGAAUUCGGUUA	470	AATGGTGCT	1407	ATGGTGCT	2344	TGGTGCT	3281
hsa-miR-29c*	UGACCGAUUUUCUUGGUGUUC	471	AAATCGGTC	1408	AATCGGTC	2345	ATCGGTC	3282
hsa-miR-300	UAUACAAGGGCAGACUCUCUCU	472	CCCTTGAT	1409	CCTTGAT	2346	CTTGAT	3283
hsa-miR-301a	CAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAAGC	473	TATTGCACT	1410	ATTGCACT	2347	TTGCACT	3284

hsa-miR-301b	CAGUGCAAAUGAUUUGUCAAGC	474	CATTGCACT	1411	ATTGCACT	2343	TTGCACT	3285
hsa-miR-302a	UAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGA	475	GAAGCACTT	1412	AAGCACTT	2349	AGCACTT	3286
hsa-miR-302a*	ACUUAAACGUGGAUGUACUUGCU	476	ACGTTTAAAG	1413	CGTTTAAAG	2350	GTTTAAAG	3287
hsa-miR-302b	UAAGUGCUUCCAUGUUUAGUAG	477	GAAGCACTT	1414	AAGCACTT	2351	AGCACTT	3288
hsa-miR-302b*	ACUUUAAACAUGGAAGUGCUUUC	478	ATGTTAAAG	1415	TGTTAAAG	2352	GTTAAAG	3289
hsa-miR-302c	UAAGUGCUUCCAUGUUUCAGUGG	479	GAAGCACTT	1416	AAGCACTT	2353	AGCACTT	3290
hsa-miR-302c*	UUUAAACAUGGGGUACCUGCUG	480	CCATGTTAA	1417	CATGTTAA	2354	ATGTTAA	3291
hsa-miR-302d	UAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGU	481	GAAGCACTT	1418	AAGCACTT	2355	AGCACTT	3292
hsa-miR-302d*	ACUUUAAACAUGGAGGCACUUGC	482	ATGTTAAAG	1419	TGTTAAAG	2356	GTTAAAG	3293
hsa-miR-302e	UAAGUGCUUCCAUGCUU	483	GAAGCACTT	1420	AAGCACTT	2357	AGCACTT	3294
hsa-miR-302f	UAUUUGCUUCCAUGUUU	484	GAAGCAATT	1421	AAGCAATT	2358	AGCAATT	3295
hsa-miR-30a	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG	485	GATGTTTAC	1422	ATGTTTAC	2359	TGTTTAC	3296
hsa-miR-30a*	CUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGC	486	CGACTGAAA	1423	GACTGAAA	2360	ACTGAAA	3297
hsa-miR-30b	UGUAAACAUCUCCACUCAGCU	487	GATGTTTAC	1424	ATGTTTAC	2361	TGTTTAC	3298
hsa-miR-30b*	CUGGGAGGUGGAUGUUUACUUC	488	CACCTCCCA	1425	ACCTCCCA	2362	CCTCCCA	3299
hsa-miR-30c	UGUAAACAUCUCCACUCUCAGC	489	GATGTTTAC	1426	ATGTTTAC	2363	TGTTTAC	3300
hsa-miR-30c-1*	CUGGGAGGUGGAUGUUUACUUC	490	CCTCTCCCA	1427	CTCTCCCA	2364	TCTCCCA	3301
hsa-miR-30c-2*	CUGGGAGAAGGCGUUUACUCU	491	CTTCTCCCA	1428	TTCTCCCA	2365	TCTCCCA	3302
hsa-miR-30d	UGUAAACAUCUCCGACUGGAAG	492	GATGTTTAC	1429	ATGTTTAC	2366	TGTTTAC	3303
hsa-miR-30d*	CUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGC	493	TGACTGAAA	1430	GACTGAAA	2367	ACTGAAA	3304
hsa-miR-30e	UGUAAACAUCUCCUUGACUGGAAG	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*	UGCUAUGCCAAACAUAUUGCCAU	497	TGGCATAGC	1434	GGCATAGC	2371	GCATAGC	3308
hsa-miR-32	UAUUUGCACAUUACAAGUUGCA	498	ATGTGCAAT	1435	TGTGCAAT	2372	GTGCAAT	3309
hsa-miR-32*	CAUUUUAGUGUGUGUAUUUU	499	ACTAAATT	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	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGA	503	CCCAGCTTT	1440	CCAGCTTT	2377	CAGCTTT	3314
hsa-miR-323-3p	CACAUUACACGGUCGACCUUCU	504	GTGTAATGT	1441	TGTAATGT	2378	GTAATGT	3315
hsa-miR-323-5p	AGGUGGUCGCGGCGGCUUCGC	505	CGGACCACC	1442	GGACCACC	2379	GACCACC	3316
hsa-miR-324-3p	ACUGCCCCAGGUGCUGCUGG	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	CCUCUGGGCCUUCUCCAG	509	GGCCAGAG	1446	GCCAGAG	2383	CCAGAG	3320
hsa-miR-328	CUGGCCUCUCUGCCUUCUCCGU	510	AGAGGGCCA	1447	GAGGGCCA	2384	AGGGCCA	3321
hsa-miR-329	AACACACCGGUUAACCUUUU	511	CAGGTGTGT	1448	AGGTGTGT	2385	GGTGTGT	3322
hsa-miR-330-3p	GCAAAGCACACGGCCUGCAGAGA	512	TGTGCTTTG	1449	GTGCTTTG	2386	TGCTTTG	3323
hsa-miR-330-5p	UCUCUGGGCCUGUGUCUAGGC	513	GGCCAGAG	1450	GCCAGAG	2387	CCAGAG	3324
hsa-miR-331-3p	GCCCCUGGGCCUUAUCCAGAA	514	GCCCAGGGG	1451	CCCAGGGG	2388	CCAGGGG	3325
hsa-miR-331-5p	CUAGGUUAGGUUCCAGGGAUCC	515	CCATACCTA	1452	CATACCTA	2389	ATACCTA	3326
hsa-miR-335	UCAAGAGCAAUAACGAAAAUGU	516	TTGCTCTTG	1453	TGCTCTTG	2390	GCTCTTG	3327
hsa-miR-335*	UUUUUCAUUUUGCUCCUGACC	517	TAATGAAAA	1454	AATGAAAA	2391	ATGAAAA	3328
hsa-miR-337-3p	CUCCUAUUAUGAUGCCUUUCUUC	518	CATATAGGA	1455	ATATAGGA	2392	TATAGGA	3329
hsa-miR-337-5p	GAACGGCUUCAUACAGGAGUU	519	GAAGCCGTT	1456	AAGCCGTT	2393	AGCCGTT	3330
hsa-miR-338-3p	UCCAGCAUCAGUAUUUUGUUU	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	GAGGCGCTC	1459	AGGCGCTC	2396	GGCGCTC	3333
hsa-miR-339-5p	UCCUGUCCUCCAGGAGCUCACG	523	AGGACAGGG	1460	GGACAGGG	2397	GACAGGG	3334
hsa-miR-33a	GUGCAUUGUAGUUGCAUUGCA	524	TACAATGCA	1461	ACAATGCA	2398	CAATGCA	3335
hsa-miR-33a*	CAUUGUUUCCACAGUGCAUCAC	525	GGAACATT	1462	GAAACATT	2399	AAACATT	3336
hsa-miR-33b	GUGCAUUGCUGUUGCAUUGC	526	AGCAATGCA	1463	GCAATGCA	2400	CAATGCA	3337
hsa-miR-33b*	CAGUGCCUCGGCAGUGCAGCCC	527	CGAGGCACT	1464	GAGGCACT	2401	AGGCACT	3338
hsa-miR-340	UUUAAAGCAAUGAGACUGAUU	528	TGCTTTATA	1465	GCTTTATA	2402	CTTTATA	3339

[0657]

hsa-miR-340*	UCCGUCUCAGUUACUUUUAUAGC	529	CTGAGACGG	1466	TGAGACGG	2403	GAGACGG	3340
hsa-miR-342-3p	UCUCACACAGAAAUCGCACCCCGU	530	CTGTGTGAG	1467	TGTGTGAG	2404	GTGTGAG	3341
hsa-miR-342-5p	AGGGGUGCUAUCUGUGAUUGA	531	TAGCACCCC	1468	AGCACCCC	2405	GCACCCC	3342
hsa-miR-345	GCUGACUCCUAGUCCAGGGCUC	532	AGGAGTCAG	1469	GGAGTCAG	2406	GAGTCAG	3343
hsa-miR-346	UGUCUGCCCGCAUGCCUGCCUCU	533	CGGGCAGAC	1470	GGGCAGAC	2407	GGCAGAC	3344
hsa-miR-34a	UGGCAGUGUCUUAGCUGGUUGU	534	GACACTGCC	1471	ACACTGCC	2408	CACTGCC	3345
hsa-miR-34a*	CAAUACGCAAGUAUACUGCCCU	535	TTGCTGATT	1472	TGCTGATT	2409	GCTGATT	3346
hsa-miR-34b	CAAUACUAACUCCACUGCCAU	536	TTAGTGATT	1473	TAGTGATT	2410	AGTGATT	3347
hsa-miR-34b*	UAGGCAGUGUCAUUAAGCUGAUUG	537	ACACTGCCT	1474	CACTGCCT	2411	ACTGCCT	3348
hsa-miR-34c-3p	AAUCACUAACACACAGGCCAGG	538	GTTAGTGAT	1475	TTAGTGAT	2412	TAGTGAT	3349
hsa-miR-34c-5p	AGGCAGUGUAGUAGCUGAUUGC	539	TACACTGCC	1476	ACACTGCC	2413	CACTGCC	3350
hsa-miR-361-3p	UCCCCCAGGUGAUUCUGAUUU	540	ACCTGGGGG	1477	CCTGGGGG	2414	CTGGGGG	3351
hsa-miR-361-5p	UUUAUCAGAAUCCAGGGGUAC	541	ATTCTGATA	1478	TTCTGATA	2415	TCTGATA	3352
hsa-miR-362-3p	AACACACCUAUUAAGGAUUCA	542	TAGGTGTGT	1479	AGGTGTGT	2416	GGTGTGT	3353
hsa-miR-362-5p	AAUCUUUGGAACUAGGUGUGAGU	543	TCCAAGGAT	1480	CCAAGGAT	2417	CAAGGAT	3354
hsa-miR-363	AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA	544	CCGTGCAAT	1481	CGTGCAAT	2418	GTGCAAT	3355
hsa-miR-363*	CGGGUGGAUCACGAUGCAUUU	545	GATCCACCC	1482	ATCCACCC	2419	TCCACCC	3356
hsa-miR-365	UAAUGCCCCUAAAAUCCUUU	546	AGGGGCATT	1483	GGGGCATT	2420	GGGCATT	3357
hsa-miR-367	AAUUGCACUUUAGCAAUGGUGA	547	AAGTGCAAT	1484	AGTGCAAT	2421	GTGCAAT	3358
hsa-miR-367*	ACUGUUGCUAAUAUGCAAUCUCU	548	TAGCAACAG	1485	AGCAACAG	2422	GCAACAG	3359
hsa-miR-369-3p	AAUAAUACAUGGUGAUUCUUU	549	ATGTATTAT	1486	TGTATTAT	2423	GTATTAT	3360
hsa-miR-369-5p	AGAUCGACCCUGUUAUAUUCGC	550	CGGTCGATC	1487	GGTCGATC	2424	GTCGATC	3361
hsa-miR-370	GCCUGCUGGGGUGAACCUGGU	551	CCCAGCAGG	1488	CCAGCAGG	2425	CAGCAGG	3362
hsa-miR-371-3p	AAGUCCGCCCAUCUUUAGUGU	552	GGCGGCACT	1489	GCGGCACT	2426	CGGCACT	3363
hsa-miR-371-5p	ACUCAAAACUGUGGGGCACU	553	CAGTTTGAG	1490	AGTTTGAG	2427	GTTTGAG	3364
hsa-miR-372	AAAGUCUGCGACAUUUGAGCGU	554	GCAGCACTT	1491	CAGCACTT	2428	AGCACTT	3365
hsa-miR-373	GAAUGUCUUUCGAUUUUGGGGUGU	555	GAAGCACTT	1492	AAGCACTT	2429	AGCACTT	3366
hsa-miR-373*	ACUCAAAAUGGGGCGCUUUC	556	CATTTTGAG	1493	ATTTTGAG	2430	TTTGAG	3367
hsa-miR-374a	UUUAUAUACAACCGUAUAAGUG	557	TGTATTATA	1494	GTATTATA	2431	TATTATA	3368
hsa-miR-374a*	CUUAUCAGAUUGUAUUGUAAUU	558	ATCTGATAA	1495	TCTGATAA	2432	CTGATAA	3369
hsa-miR-374b	AUAUAUAACAACCGCUAAGUG	559	TGTATTATA	1496	GTATTATA	2433	TATTATA	3370
hsa-miR-374b*	CUUAGCAGGUGUAUUAUCAUU	560	ACCTGCTAA	1497	CCTGCTAA	2434	CTGCTAA	3371
hsa-miR-375	UUUGUUCGUUCGCGCUCGCGUGA	561	AACGAACAA	1498	ACGAACAA	2435	CGAACAA	3372
hsa-miR-376a	AUCAUAGAGGAAAUCCACGU	562	CCTCTATGA	1499	CTCTATGA	2436	TCTATGA	3373
hsa-miR-376a*	GUAGAUUCUCCUUCUUGAGUA	563	GAGAATCTA	1500	AGAATCTA	2437	GAATCTA	3374
hsa-miR-376b	AUCAUAGAGGAAAUCCAUUGUU	564	CCTCTATGA	1501	CTCTATGA	2438	TCTATGA	3375
hsa-miR-376c	AACAUAGAGGAAAUCCACGU	565	CCTCTATGT	1502	CTCTATGT	2439	TCTATGT	3376
hsa-miR-377	AUCACACAAGGCAACUUUUGU	566	TTTGTGTGA	1503	TGTGTGA	2440	TGTGTGA	3377
hsa-miR-377*	AGAGGUUGCCUUGGUGAAUUC	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	UAUGUAUAUUGGUCCACAUCUU	572	ATATTACAT	1509	TATTACAT	2446	ATTACAT	3383
hsa-miR-380*	UGGUUGACCAUAGAACAUGCGC	573	TGGTCAACC	1510	GGTCAACC	2447	GTCACC	3384
hsa-miR-381	UAUCAAGGGCAAGCUCUCUGU	574	CCCTGTGAT	1511	CCTGTGAT	2448	CTGTGAT	3385
hsa-miR-382	GAGUUGUUCGUGGUGGAUUCG	575	GAACAACCT	1512	AACAACCT	2449	ACAACCT	3386
hsa-miR-383	AGAUCAGAAGGUGAUUGGUCU	576	CTTCTGATC	1513	TTCTGATC	2450	TCTGATC	3387
hsa-miR-384	AUCCUAGAAAUUGUUAUA	577	TTCTAGGAA	1514	TCTAGGAA	2451	CTAGGAA	3388
hsa-miR-409-3p	GAAUGUUGCUCGGUGAACCCCU	578	AGCAACATT	1515	GCAACATT	2452	CAACATT	3389
hsa-miR-409-5p	AGGUUACCCGAGCAACUUUGCAU	579	CGGGTAACC	1516	GGGTAACC	2453	GTAACC	3390
hsa-miR-410	AAUAUAACACAGAUGGCCUGU	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	ACUUCACCGUCCACUAAGCCGU	583	CAGGTGAAG	1520	AGGTGAAG	2457	GGTGAAG	3394

[0658]

hsa-miR-421	AUCAACAGACAUUAUUGGGCGC	584	GTCTGTTGA	1521	TCTGTTGA	2458	CTGTTGA	3395
hsa-miR-422a	ACUGGACUUAGGGUCAGAGGC	585	TAAGTCCAG	1522	AAGTCCAG	2459	AGTCCAG	3396
hsa-miR-423-3p	AGCUCGGUCUGAGGCCCCUCAGU	586	AGACCGAGC	1523	GACCGAGC	2460	ACCGAGC	3397
hsa-miR-423-5p	UGAGGGGCAGAGAGCCGAGACUUU	587	CTGCCCTC	1524	TGCCCTC	2461	GCCCTC	3398
hsa-miR-424	CAGCAGCAAUUCUGUUUUGAA	588	ATTGCTGCT	1525	TTGCTGCT	2462	TGCTGCT	3399
hsa-miR-424*	CAAAACGUGAGGGCGUCUUAU	589	TCACGTTTT	1526	CACGTTTT	2463	ACGTTTT	3400
hsa-miR-425	AAUGACACGAUCACUCCGUUGA	590	TCGTGTCAT	1527	CGTGTGTCAT	2464	GTGTGTCAT	3401
hsa-miR-425*	AUCGGGAUUGUCGUGUCCGCC	591	CATTCCCGA	1528	ATTCCCGA	2465	TTCCCGA	3402
hsa-miR-429	UAUAUCUGUCUGGUAACCGU	592	GACAGTATT	1529	ACAGTATT	2466	CAGTATT	3403
hsa-miR-431	UGUCUUGCAGGCCGUGAUGCA	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*	CUGGAUGGCCUCCUCAUGUCU	596	AGCCATCCA	1533	GCCATCCA	2470	CCATCCA	3407
hsa-miR-433	AUCAUGAUGGGCCUCCUGGUGU	597	CCATCATGA	1534	CATCATGA	2471	ATCATGA	3408
hsa-miR-448	UUGCAUAUGUAGGAUGCCCAU	598	ACATATGCA	1535	CATATGCA	2472	ATATGCA	3409
hsa-miR-449a	UGGCAGUGUAUUGUUAGCUGGU	599	TACACTGCC	1536	ACACTGCC	2473	CACTGCC	3410
hsa-miR-449b	AGGCAGUGUAUUGUUAGCUGGC	600	TACACTGCC	1537	ACACTGCC	2474	CACTGCC	3411
hsa-miR-450a	UUUUGCGAUGUGUUCUUAUUAU	601	CATCGAAA	1538	ATCGAAA	2475	TCGAAA	3412
hsa-miR-450b-3p	UUGGGAUCAUUUUGCAUCCAUA	602	ATGATCCCA	1539	TGATCCCA	2476	GATCCCA	3413
hsa-miR-450b-5p	UUUUGCAAUUGUUCUGAAUA	603	TATTGCAAA	1540	ATTGCAAA	2477	TTGCAAA	3414
hsa-miR-451	AAACCGUUAUUAUUCUGAGUU	604	GTAACGGTT	1541	TAACGGTT	2478	AACGGTT	3415
hsa-miR-452	AACUGUUUGCAGAGGAAACUGA	605	GCAAACAGT	1542	CAAACAGT	2479	AAACAGT	3416
hsa-miR-452*	CUCAUCUGCAAAGAAAGUAAGUG	606	TGCAGATGA	1543	GCAGATGA	2480	CAGATGA	3417
hsa-miR-453	AGGUUGUCCGUGGUGAGUUCGCA	607	CGGACAACC	1544	GGACAACC	2481	GACAACC	3418
hsa-miR-454	UAGUGCAAUUAUGCUUAUAGGGU	608	TATTGCACT	1545	ATTGCACT	2482	TTGCACT	3419
hsa-miR-454*	ACCCUAUCAUAUUGUCUCUGC	609	TTGATAGGG	1546	TGATAGGG	2483	GATAGGG	3420
hsa-miR-455-3p	GCAGUCCAUUGGGCAUUAUACAC	610	CATGGACTG	1547	ATGGACTG	2484	TGGACTG	3421
hsa-miR-455-5p	UAUGUGCCUUUGGACUACAUCG	611	AAGGCACAT	1548	AGGCACAT	2485	GGCACAT	3422
hsa-miR-483-3p	UCACUCCUCUCCUCCGUCUU	612	AGAGGAGTG	1549	GAGGAGTG	2486	AGGAGTG	3423
hsa-miR-483-5p	AAGACGGGAGGAAGAGGGAG	613	CTCCCGTCT	1550	TCCCGTCT	2487	CCCGTCT	3424
hsa-miR-484	UCAGGCUCAGUCCUCCUCCGUAU	614	CTGAGCCTG	1551	TGAGCCTG	2488	GAGCCTG	3425
hsa-miR-485-3p	GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU	615	CGTGTATGA	1552	GTGTATGA	2489	TGTATGA	3426
hsa-miR-485-5p	AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC	616	GCCAGCCTC	1553	CCAGCCTC	2490	CAGCCTC	3427
hsa-miR-486-3p	CGGGGCAGCUCAGUACAGGAU	617	AGCTGCCCC	1554	GCTGCCCC	2491	CTGCCCC	3428
hsa-miR-486-5p	UCCUGUACUGAGCUGCCCGAG	618	CAGTACAGG	1555	AGTACAGG	2492	GTACAGG	3429
hsa-miR-487a	AAUCAUACAGGGACAUCAGUU	619	CTGTATGAT	1556	TGTATGAT	2493	GTATGAT	3430
hsa-miR-487b	AAUCGUACAGGGUCAUCCACUU	620	CTGTACGAT	1557	TGTACGAT	2494	GTACGAT	3431
hsa-miR-488	UUGAAAGGCUAUUUCUUGGUC	621	AGCCTTTCA	1558	GCCTTTCA	2495	CCTTTCA	3432
hsa-miR-488*	CCCAGUAUUGGCACUCUCAAA	622	ATTATCTGG	1559	TTATCTGG	2496	TATCTGG	3433
hsa-miR-489	GUGACAUACAUUACGGGAGC	623	GTGATGTCA	1560	TGATGTCA	2497	GATGTCA	3434
hsa-miR-490-3p	CAACCUAGGAGGACUCCAUUGCUG	624	CTCCAGGTT	1561	TCCAGGTT	2498	CCAGGTT	3435
hsa-miR-490-5p	CCAUGGAUUCUCCAGGUGGGU	625	AGATCCATG	1562	GATCCATG	2499	ATCCATG	3436
hsa-miR-491-3p	CUUAUGCAAGAUUCCUUCUAC	626	CTTGCAATA	1563	TTGCAATA	2500	TGCAATA	3437
hsa-miR-491-5p	AGUGGGGAACCCUUCUUGAGG	627	GTTCCCCAC	1564	TTCCCCAC	2501	TCCCCAC	3438
hsa-miR-492	AGGACUUGCGGGACAAGAUUCUU	628	CGCAGGTCC	1565	GCAGGTCC	2502	CAGGTCC	3439
hsa-miR-493	UGAAGGUCUACUGUGGCCAGG	629	TAGACCTTC	1566	AGACCTTC	2503	GACCTTC	3440
hsa-miR-493*	UUGUACAUUGGAGGCUUUCAUU	630	CCATGTACA	1567	CATGTACA	2504	ATGTACA	3441
hsa-miR-494	UGAAACAUAACGGGAACCCUC	631	GTATGTTTC	1568	TATGTTTC	2505	ATGTTTC	3442
hsa-miR-495	AAACAACAUGGUGCACUUCUU	632	ATGTTTGT	1569	TGTTTGT	2506	GTTTGT	3443
hsa-miR-496	UGAGUAUUAUUGCCAAUUCUC	633	GTAATACTC	1570	TAATACTC	2507	AATACTC	3444
hsa-miR-497	CAGCAGCACACUGUGGUUUGU	634	TGTGCTGCT	1571	GTGCTGCT	2508	TGCTGCT	3445
hsa-miR-497*	CAAACCACACUGUGGUUUGA	635	GTGTGGTTT	1572	TGTGGTTT	2509	GTGGTTT	3446
hsa-miR-498	UUUCAAGCCAGGGGGGUUUUUC	636	TGGCTTGAA	1573	GGCTTGAA	2510	GCTTGAA	3447
hsa-miR-499-3p	AACAUCACAGCAAGUCUGUGCU	637	CTGTGATGT	1574	TGTGATGT	2511	GTGATGT	3448
hsa-miR-499-5p	UUAAGACUUGCAGUGAUGUUU	638	CAAGTCTTA	1575	AAGTCTTA	2512	AGTCTTA	3449

hsa-miR-500	UAAUCCUUGUCUACUCUGGGUGAGA	639	GCAAGGATT	1576	CAAGGATT	2513	AAGGATT	3450
hsa-miR-500*	AUGCACCCUGGGCAAGGAUUCUG	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	AAUGCACUCUGGGCAAGGAUUCA	643	CAGGTGCAT	1580	AGGTGCAT	2517	GGTGCAT	3454
hsa-miR-502-5p	AUCCUUGCUAUCUGGGUGCUA	644	TAGCAAGGA	1581	AGCAAGGA	2518	GCAAGGA	3455
hsa-miR-503	UAGCAGCGGGAACAGUUCUGCAG	645	CCCCTGCT	1582	CCGCTGCT	2519	CGCTGCT	3456
hsa-miR-504	AGACCUGGUCUGCACUCUAUC	646	ACCAGGGTC	1583	CCAGGGTC	2520	CAGGGTC	3457
hsa-miR-505	CGUCAACACUUGCUGGUUCCU	647	AGTGTGAC	1584	GTGTGAC	2521	TGTGAC	3458
hsa-miR-505*	GGGAGCCAGGAAGUAUUGAUGU	648	CCTGGCTCC	1585	CTGGCTCC	2522	TGGCTCC	3459
hsa-miR-506	UAAGGCACCCUUCUGAGUAGA	649	GGTGCCTT	1586	GGTGCCTT	2523	GTGCCTT	3460
hsa-miR-507	UUUUGCACCUUUUGGAGUGAA	650	AGGTGCAAA	1587	GGTGCAAA	2524	GTGCAAA	3461
hsa-miR-508-3p	UGAUUGUAGCCUUUUGGAGUAGA	651	GCTACAATC	1588	CTACAATC	2525	TACAATC	3462
hsa-miR-508-5p	UACUCAGAGGGGUCACUCAUG	652	CTCTGGAGT	1589	TCTGGAGT	2526	CTGGAGT	3463
hsa-miR-509-3-5p	UACUCAGACGUGGCAAUCAUG	653	GTCTGCAGT	1590	TCTGCAGT	2527	CTGCAGT	3464
hsa-miR-509-3p	UGAUUGUACGUCUGUGGGUAG	654	GTACCAATC	1591	TACCAATC	2528	ACCAATC	3465
hsa-miR-509-5p	UACUCAGACAGUGGCAAUCA	655	GTCTGCAGT	1592	TCTGCAGT	2529	CTGCAGT	3466
hsa-miR-510	UACUCAGAGAGUGGCAUUCAC	656	CTCCTGAGT	1593	TCTGAGT	2530	CCTGAGT	3467
hsa-miR-511	GUGUCUUUUGCUCUGCAGUCA	657	CAAAGACA	1594	AAAAGACA	2531	AAAGACA	3468
hsa-miR-512-3p	AAGUGCUGUCAUAGCUGAGGUC	658	GACAGCACT	1595	ACAGCACT	2532	CAGCACT	3469
hsa-miR-512-5p	CACUCAGCCUUGAGGGCACUUUC	659	AGGCTGAGT	1596	GGCTGAGT	2533	GCTGAGT	3470
hsa-miR-513a-3p	UAAAUUUCACCUUUUCUGAAGG	660	GTAAATTT	1597	TGAAATTT	2534	GAATTT	3471
hsa-miR-513a-5p	UUCACAGGGAGGUGUCAU	661	TCCTGTGA	1598	CCCTGTGA	2535	CCTGTGA	3472
hsa-miR-513b	UUCACAAGGAGGUGUCAUUUUAU	662	TCCTGTGA	1599	CCTGTGA	2536	CTGTGA	3473
hsa-miR-513c	UUCUCAAGGAGGUGUCUUUUAU	663	TCCTGTGA	1600	CCTGTGA	2537	CTGTGA	3474
hsa-miR-514	AUGACACUUCUGUGAGUAGA	664	AAGTGTCAA	1601	AGTGTCAA	2538	GTGTCAA	3475
hsa-miR-515-3p	GAGUGCCUUCUUUGGAGCGUU	665	GAAGCACT	1602	AAGCACT	2539	AGCACT	3476
hsa-miR-515-5p	UUCUCCAAAGAAAGCACUUUCUG	666	TTTTGGAGA	1603	TTTGGAGA	2540	TGGAGA	3477
hsa-miR-516a-3p	UGCUCUUUCAGAGGGU	667	AAAGGAAGC	1604	AAGGAAGC	2541	AGGAAGC	3478
hsa-miR-516a-5p	UUCUCGAGGAAAGAACACUUUC	668	TCCTCGAGA	1605	CCTCGAGA	2542	CTCGAGA	3479
hsa-miR-516b	AUCUGGAGGUAAGAAGCACUUU	669	ACCTCCAGA	1606	CCTCCAGA	2543	CTCCAGA	3480
hsa-miR-517*	CCUCUAGAUAGACACUCUGUCU	670	CATCTAGAG	1607	ATCTAGAG	2544	TCTAGAG	3481
hsa-miR-517a	AUCGUGCAUCCUUUAGAGUGU	671	GATGCACGA	1608	ATGCACGA	2545	TGCACGA	3482
hsa-miR-517b	UCGUGCAUCCUUUAGAGUGUU	672	GGATGCACG	1609	GATGCACG	2546	ATGCACG	3483
hsa-miR-517c	AUCGUGCAUCCUUUAGAGUGU	673	GATGCACGA	1610	ATGCACGA	2547	TGCACGA	3484
hsa-miR-518a-3p	GAAAGCGCUUCCUUUGCUGGA	674	AAGCGCTTT	1611	AGCGCTTT	2548	GCGCTTT	3485
hsa-miR-518b	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	GAGCGCTT	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*	CUCUAGAGGGAAGCGCUUUCUG	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	GCACTTT	2561	GCACTTT	3498
hsa-miR-519e	AAGUGCCUCCUUUAGAGUGUU	688	GGAGGCACT	1625	GAGGCACT	2562	AGGCACT	3499
hsa-miR-519e*	UUCUCCAAAGGGAGCACUUUC	689	TTTTGGAGA	1626	TTTGGAGA	2563	TGGAGA	3500
hsa-miR-520a-3p	AAAGUGCUUCCUUUGGACUGU	690	GAAGCACTT	1627	AAGCACTT	2564	AGCACTT	3501
hsa-miR-520a-5p	CUCACAGGGAAGUACUUUCU	691	CCCTCTGGA	1628	CCTCTGGA	2565	CTCTGGA	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	CCCTTTGTA	1632	CCTTTGTA	2569	CTTTGTA	3506
hsa-miR-520e	AAAGUGCUUCUUUUUGAGGG	696	GAAGCACTT	1633	AAGCACTT	2570	AGCACTT	3507
hsa-miR-520f	AAGUGCUUCUUUUAGAGGGUU	697	GGAAGCACT	1634	GAAGCACT	2571	AGCACTT	3508
hsa-miR-520g	ACAAAAGUGCUUCUUUAGAGUGU	698	AGCACTTTG	1635	GCACTTTG	2572	CACTTTG	3509
hsa-miR-520h	ACAAAAGUGCUUCUUUAGAGUGU	699	AGCACTTTG	1636	GCACTTTG	2573	CACTTTG	3510
hsa-miR-521	AACGCACUCCUUUAGAGUGU	700	GAAGTGCGT	1637	AAGTGCGT	2574	AGTGCGT	3511
hsa-miR-522	AAAAGUUCUUUUUAGAGUGU	701	GAACCATTT	1638	AACCATTT	2575	ACCATTT	3512
hsa-miR-523	GAAGCGCUUCUUUAGAGGGU	702	AAGCGCGTT	1639	AGCGCGTT	2576	GCGCGTT	3513
hsa-miR-524-3p	GAAGCGCUUCUUUUGAGAGU	703	AAGCGCCTT	1640	AGCGCCTT	2577	GCGCCTT	3514
hsa-miR-524-5p	CUACAAAGGGAAGCACUUUC	704	CCCTTTGTA	1641	CCTTTGTA	2578	CTTTGTA	3515
hsa-miR-525-3p	GAAGCGCUUCUUUAGAGCG	705	AAGCGCCTT	1642	AGCGCCTT	2579	GCGCCTT	3516
hsa-miR-525-5p	CUCAGAGGGAUGCACUUUCU	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	CCCTTTGCA	1646	CCTTTGCA	2583	CTTTGCA	3520
hsa-miR-532-3p	CAUCCACACCCAGGCUUGCA	710	GTGTGGGAG	1647	TGTGGGAG	2584	GTGGGAG	3521
hsa-miR-532-5p	UCGCGGAUCAUCAGUCACGAGA	711	TCAAGGCAT	1648	CAAGGCAT	2585	AAGGCAT	3522
hsa-miR-539	GGAGAAUUUUCUUGGUGUGU	712	TAATTTCTC	1649	AATTTCTC	2586	ATTTCTC	3523
hsa-miR-541	UGGUGGCGCAGAAUCUGGAGU	713	GTGCCACC	1650	TGCCACC	2587	GCCACC	3524
hsa-miR-541*	AAAGGAUUCUGCUGCGGUCCACU	714	AGAATCCTT	1651	GAATCCTT	2588	AATCCTT	3525
hsa-miR-542-3p	UGUGACAGAUUGAUUACUGAAA	715	ATCTGTCAC	1652	TCTGTCAC	2589	CTGTCAC	3526
hsa-miR-542-5p	UCGCGGAUCAUCAGUCACGAGA	716	TGATCCCGG	1653	GATCCCGG	2590	ATCCCGG	3527
hsa-miR-543	AAACAUCGCGGUGCACUUUCU	717	GCGAATGTT	1654	CGAATGTT	2591	GAAATGTT	3528
hsa-miR-544	AUUCUGCAUUUUAGCAAGUUC	718	AATGCAGAA	1655	ATGCAGAA	2592	TGCAGAA	3529
hsa-miR-545	UCAGCAAACAUUUUUGUGUGC	719	TGTTTGCTG	1656	GTTTGCTG	2593	TTTGCTG	3530
hsa-miR-545*	CAGUAAAUGUUUUAUGAUGA	720	CATTACTG	1657	ATTACTG	2594	TTACTG	3531
hsa-miR-548a-3p	CAAAAACUGGCAAUUACUUUGC	721	GCCAGTTTT	1658	CCAGTTTT	2595	CAGTTTT	3532
hsa-miR-548a-5p	AAAAGUAAUUGCGAGUUUACC	722	AATTACTTT	1659	ATTACTTT	2596	TTACTTT	3533
hsa-miR-548b-3p	CAAGAACCUCAGUGCUUUUGU	723	GAGGTCTT	1660	AGGTCTT	2597	GTTCTT	3534
hsa-miR-548b-5p	AAAAGUAAUUGGUGUUUUGGCC	724	AATTACTTT	1661	ATTACTTT	2598	TTACTTT	3535
hsa-miR-548c-3p	CAAAAUCUCAUUACUUUUGC	725	GAGATTTTT	1662	AGATTTTT	2599	GATTTTT	3536
hsa-miR-548c-5p	AAAAGUAAUUGCGGUUUUUGCC	726	AATTACTTT	1663	ATTACTTT	2600	TTACTTT	3537
hsa-miR-548d-3p	CAAAAACCAGUUUUUUGC	727	GTGGTTTTT	1664	TGGTTTTT	2601	GGTTTTT	3538
hsa-miR-548d-5p	AAAAGUAAUUGGUGUUUUGCC	728	AATTACTTT	1665	ATTACTTT	2602	TTACTTT	3539
hsa-miR-548e	AAAACUGAGACUACUUUUGCA	729	CTCAGTTTT	1666	TCAGTTTT	2603	CAGTTTT	3540
hsa-miR-548f	AAAACUGUAAUUACUUUU	730	TACAGTTTT	1667	ACAGTTTT	2604	CAGTTTT	3541
hsa-miR-548g	AAAACUGUAAUUACUUUUGUAC	731	TTACAGTTT	1668	TACAGTTT	2605	ACAGTTT	3542
hsa-miR-548h	AAAAGUAAUCGCGGUUUUUGUC	732	GATTACTTT	1669	ATTACTTT	2606	TTACTTT	3543
hsa-miR-548i	AAAAGUAAUCGCGGUUUUUGCC	733	AATTACTTT	1670	ATTACTTT	2607	TTACTTT	3544
hsa-miR-548j	AAAAGUAAUUGCGGUUUUUGU	734	AATTACTTT	1671	ATTACTTT	2608	TTACTTT	3545
hsa-miR-548k	AAAAGUACUUGCGGUUUUUGCU	735	AGTACTTTT	1672	AGTACTTT	2609	GACTTTT	3546
hsa-miR-548l	AAAAGUAAUUGCGGUUUUUGUC	736	AAATACTTT	1673	AATACTTT	2610	ATACTTT	3547
hsa-miR-548m	CAAAGUAAUUGGUGUUUUG	737	AATACCTTT	1674	ATACCTTT	2611	TACCTTT	3548
hsa-miR-548n	CAAAAUAAUUGGGAUUUUGU	738	ATTACTTTT	1675	TTACTTTT	2612	TACTTTT	3549
hsa-miR-548o	CCAAAACUGCAGUUACUUUUGC	739	GCAAGTTTT	1676	CAGTTTTT	2613	AGTTTTT	3550
hsa-miR-548p	UAGCAAAAACUGCAGUUACUUU	740	GTTTTTGCT	1677	TTTTTGCT	2614	TTTTGCT	3551
hsa-miR-549	UGACAACUAUGGAUGACUCU	741	ATAGTTGTC	1678	TAGTTGTC	2615	AGTTGTC	3552
hsa-miR-550	AGUCGCGAGGGAGUAGAGCCC	742	CTCAGGCAC	1679	TCAGGCAC	2616	CAGGCAC	3553
hsa-miR-550*	UGUCUUACUCCUACAGGCACAU	743	GAGTAGAC	1680	AGTAGAC	2617	GTAGAC	3554
hsa-miR-551a	GCGACCCACUCUUGGUUCCA	744	AGTGGGTCG	1681	GTGGGTCG	2618	TGGGTCG	3555
hsa-miR-551b	GCGACCAUACUUGGUUUCAG	745	TATGGGTCG	1682	ATGGGTCG	2619	TGGGTCG	3556
hsa-miR-551b*	GAAAUCAAGCGUGGUGAGACC	746	GCTTGATTT	1683	CTTGATTT	2620	TTGATTT	3557
hsa-miR-552	AACAGGUGACUGGUUAGACAA	747	GTCACCTGT	1684	TCACCTGT	2621	CACCTGT	3558
hsa-miR-553	AAAACGGGAGAUUUUGUUUU	748	TCACCGTTT	1685	CACCGTTT	2622	ACCGTTT	3559

[0661]

hsa-miR-554	GCUAGUCUCAGCUCAGCCAGU	749	CAGGACTAG	1686	AGGACTAG	2623	GGACTAG	3560
hsa-miR-555	AGGGUAGCUGAACCCUCUGAU	750	AGCTTACCC	1687	GCTTACCC	2624	CTTACCC	3561
hsa-miR-556-3p	AUAUUACCAUAGCUCUAUCUUU	751	ATGGTAATA	1688	TGGTAATA	2625	GGTAATA	3562
hsa-miR-556-5p	GAUGAGCUCUAUUGUAUUAGAG	752	TGAGCTCAT	1689	GAGCTCAT	2626	AGCTCAT	3563
hsa-miR-557	GUUUGCAGCGGUGGGCCUUGUCU	753	CCGTGCAAA	1690	CGTGCAAA	2627	GTGCAAA	3564
hsa-miR-558	UGAGCUCUGUACCAAAA	754	CAGCAGCTC	1691	AGCAGCTC	2628	GCAGCTC	3565
hsa-miR-559	UAAAGUAAAUAUGCACCAAAA	755	ATTTACTTT	1692	TTTACTTT	2629	TTACTTT	3566
hsa-miR-561	CAAAGUUUAGAUCUUGAAGU	756	TTAACTTT	1693	TAACTTT	2630	AACTTT	3567
hsa-miR-562	AAAAGUAGCUGUACCAUUUGC	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	ACAGCGGCC	1697	CAGCGGCC	2634	AGCGGCC	3571
hsa-miR-567	AGUAGUUCUCCAGGACAGAAC	761	AGAACATAC	1698	GAACATAC	2635	AACATAC	3572
hsa-miR-568	AUGUUAUAUGUAUACACAC	762	ATTATACA	1699	TTATACA	2636	TATACA	3573
hsa-miR-569	AGUUAUGAAUCCUGGAAAAGU	763	TTCATTAAC	1700	TCATTAAC	2637	CATTAAC	3574
hsa-miR-570	CGAAAACAGCAAUACCUUUGC	764	GCTGTTTTC	1701	CTGTTTTC	2638	TGTTTTC	3575
hsa-miR-571	UGAGUUGGCCAUCUGAGUGAG	765	GGCCAATC	1702	GCCAATC	2639	CCAATC	3576
hsa-miR-572	GUCCGCUCGCGGUGGCCCA	766	CCGAGCGGA	1703	CGAGCGGA	2640	GAGCGGA	3577
hsa-miR-573	CUGAGUGAUGUGUAUCUGAUCAG	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	CACACTC	1706	ACACTC	2643	CACACTC	3580
hsa-miR-575	GAGCCAGUUGACAGGAGC	770	CAACTGGCT	1707	AACGGCT	2644	ACTGGCT	3581
hsa-miR-576-3p	AAGAUGGAAAAUUGGAAUC	771	TCCACATCT	1708	CCACATCT	2645	CACATCT	3582
hsa-miR-576-5p	AUUCUAAUUUCCACGUCUUU	772	AAATTAGAA	1709	AATTAGAA	2646	ATTAGAA	3583
hsa-miR-577	UAGAUAAAUAUUGGUACCCU	773	ATTTATCT	1710	TTTATCT	2647	TTATCT	3584
hsa-miR-578	UUUCUUGUCUCUAGGAUUUG	774	GCACAAGAA	1711	CACAAGAA	2648	ACAAGAA	3585
hsa-miR-579	UUCAUUUGGUAUAAACCGGAUU	775	ACCAATGA	1712	CCAATGA	2649	CAATGA	3586
hsa-miR-580	UUGAGAAUGAUGAAUCAUAGG	776	TCATTCTCA	1713	CATTCTCA	2650	ATTCTCA	3587
hsa-miR-581	UCUUGUUCUCUAGAUCAGU	777	GAACACAAG	1714	AACACAAG	2651	ACACAAG	3588
hsa-miR-582-3p	UAAUGGUUGAACCAACUGAAC	778	CAACAGTT	1715	AACAGTT	2652	CCAGTT	3589
hsa-miR-582-5p	UUACAGUUGUCAACCAGUUACU	779	ACAAGTGA	1716	CAAGTGA	2653	AAAGTGA	3590
hsa-miR-583	CAAAGAGGAGGUCUCAUUAC	780	TTCCTTTT	1717	TCCTTTT	2654	CCTTTT	3591
hsa-miR-584	UUUUGGUUGCCUGGGACUGAG	781	CAAACATA	1718	AAACATA	2655	AACATA	3592
hsa-miR-585	UGGCGUAUCUGUAUGCUA	782	GATACGCC	1719	ATACGCC	2656	TACGCC	3593
hsa-miR-586	UAUGCAUUGUAUUUAGGUCC	783	CAATGCAT	1720	AATGCAT	2657	TATGCAT	3594
hsa-miR-587	UUUCAUAGGUGAUGAGUCAC	784	CCTATGGAA	1721	CTATGGAA	2658	TATGGAA	3595
hsa-miR-588	UUGGCCACAUGGUAUAGAAC	785	TTGTGGCCA	1722	TGTGGCCA	2659	GTGGCCA	3596
hsa-miR-589	UGAGAACCACGUCUGCUCUGAG	786	GTGTTCTC	1723	TGTTCTC	2660	GTTCTC	3597
hsa-miR-589*	UCAGAACAAUUGCCGUUCCAGA	787	TTTGTCTG	1724	TGTTCTG	2661	TGTTCTG	3598
hsa-miR-590-3p	UAAUUUAUGUAUAAGCUAGU	788	CATAAAATT	1725	ATAAAATT	2662	TAAAATT	3599
hsa-miR-590-5p	GAGCUUAUUCUAAAAGUGCAG	789	GAATAAGCT	1726	AATAAGCT	2663	ATAAGCT	3600
hsa-miR-591	AGACCAUGGCUUCUUAUGU	790	CCATGGTC	1727	CCATGGTC	2664	CATGGTC	3601
hsa-miR-592	UUGUGCAAUAUGCGAUGAUGU	791	ATTGACACA	1728	TGACACA	2665	TGACACA	3602
hsa-miR-593	UGUCUCUGCGGGUUUCU	792	AGCAGAGAC	1729	GCAGAGAC	2666	CAGAGAC	3603
hsa-miR-593*	AGGCACCAGCCAGGCAUUGCUCAGC	793	GCTGGTGCC	1730	CTGGTGCC	2667	TGGTGCC	3604
hsa-miR-595	GAAAGUGCCCGUGGUGUCU	794	GGCACACTT	1731	GCACACTT	2668	CACACTT	3605
hsa-miR-596	AAGCCUGCCCGCUCUCCGCGG	795	GGCAGGCT	1732	GCCAGGCT	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	ACUUAACAGACAAGAGCCUUGCUC	799	GTCGTAAAG	1736	TCTGTAAAG	2673	CTGTAAAG	3610
hsa-miR-601	UGGUCUAGGAUUGUUGAGGAG	800	TCCTAGACC	1737	CCTAGACC	2674	CTAGACC	3611
hsa-miR-602	GACACGGCGCAGCUGCGGCC	801	CGCCGTGT	1738	GCCGTGT	2675	CCGTGT	3612
hsa-miR-603	CACACACUGCAAUACUUUUGC	802	GCAATGTGT	1739	CAGTGTGT	2676	AGTGTGT	3613
hsa-miR-604	AGGCUCGGAAUUCAGGAC	803	TCCGAGCC	1740	CCGAGCC	2677	CGAGCC	3614

[0662]

hsa-miR-605	UAAAUCCCAUGGGUCCUUCUCU	804	ATGGGATT	1741	TGGGATT	2678	GGGATT	3615
hsa-miR-606	AAACUACUGAAAAUCAAGAU	805	TCAGTAGT	1742	CAGTAGT	2679	AGTAGT	3616
hsa-miR-607	GUUCAAAUCAGAUUAUAAC	806	GATTGAA	1743	GATTGAA	2680	ATTGAA	3617
hsa-miR-608	AGGGUGGUGGUGGACAGCUCG	807	CACCACCC	1744	ACCACCC	2681	CCACCC	3618
hsa-miR-609	AGGUGUUUCUCUCAUCUCU	808	GAACACCC	1745	AAACACCC	2682	AACACCC	3619
hsa-miR-610	UGAGCUAAAUGUGUCUGGGA	809	ATTTAGCTC	1746	TTTAGCTC	2683	TTAGCTC	3620
hsa-miR-611	GCGAGGACCCUCGGGUCUGAC	810	GGTCCTCG	1747	GGTCCTCG	2684	GTCTCG	3621
hsa-miR-612	GCUGGGCAGGGUUCUGAGCUCU	811	CCTGCCAG	1748	CTGCCAG	2685	TGCCAG	3622
hsa-miR-613	AGGAUUGUUCUUCUUGCC	812	GAACATTCC	1749	AACATTCC	2686	ACATTCC	3623
hsa-miR-614	GAACGCUGUUCUUGCCAGGUG	813	ACAGCGTT	1750	CAGCGTT	2687	AGCGTT	3624
hsa-miR-615-3p	UCCGAGCCUGGGUCUCCUCU	814	CAGGCTCGG	1751	AGGCTCGG	2688	GGCTCGG	3625
hsa-miR-615-5p	GGGGUCCCCGGGUCUGGAUC	815	GGGACCCC	1752	GGGACCCC	2689	GGACCCC	3626
hsa-miR-616	AGUCAUUGGAGGGUUAAGCAG	816	TCCAATGAC	1753	CCAATGAC	2690	CAATGAC	3627
hsa-miR-616*	ACUCAAAACCCUUCAGUGACU	817	GGTTTGAG	1754	GTTTGAG	2691	TTTGAG	3628
hsa-miR-617	AGACUCCCAUUUAAGGUGGC	818	TGGGAAGTC	1755	GGGAAGTC	2692	GGAAGTC	3629
hsa-miR-618	AAACUCUACUUGUCUUCUGAGU	819	AGTAGAGT	1756	GTAGAGT	2693	TAGAGT	3630
hsa-miR-619	GACCUGGACAUUUUGGCCAGU	820	TGTCCAGT	1757	GTCCAGT	2694	TCCAGT	3631
hsa-miR-620	AUGGAGAUAGAUUAAGAAU	821	CTATCTCCA	1758	TATCTCCA	2695	ATCTCCA	3632
hsa-miR-621	GGCUAGCAACAGCGUUAACU	822	GTGCTAGC	1759	TGCTAGC	2696	TGCTAGC	3633
hsa-miR-622	ACAGUCUGCUGAGGUUGGAGC	823	AGCAGACTG	1760	GCAGACTG	2697	CAGACTG	3634
hsa-miR-623	AUCCUUGCAGGGCUGUUGGGU	824	TGCAAGGGA	1761	GCAAGGGA	2698	CAAGGGA	3635
hsa-miR-624	CACAAGGUAUUGGUUAUACU	825	ATACCTGT	1762	TACCTGT	2699	ACCTGT	3636
hsa-miR-624*	UAGUACCAGUACCUUGUGUUA	826	ACTGTTACT	1763	CTGTTACT	2700	TGTTACT	3637
hsa-miR-625	AGGGGAAAGUUCUAUAGUCC	827	CTTCCCCC	1764	TTTCCCCC	2701	TTCCCCC	3638
hsa-miR-625*	GACUAUAGAACUUUCCCCUCA	828	TTCTATAGT	1765	TCTATAGT	2702	CTATAGT	3639
hsa-miR-626	AGCUGUCUGAAAUGUCUU	829	TCAGACAGC	1766	CAGACAGC	2703	AGACAGC	3640
hsa-miR-627	GUGAGUCUCUAAGAAAAGAGGA	830	AGAGACTCA	1767	GAGACTCA	2704	AGACTCA	3641
hsa-miR-628-3p	UCUAGUAAGAGUGGCAGUCGA	831	TCTTACTAG	1768	CTTACTAG	2705	TTACTAG	3642
hsa-miR-628-5p	AUGCUGACAUUAUUCUAGAGG	832	ATGTCAGCA	1769	TGTCAGCA	2706	GTTCAGCA	3643
hsa-miR-629	UGGUUUACGUUGGGAGAACU	833	CGTAAACCC	1770	GTAACCC	2707	TAAACCC	3644
hsa-miR-629*	GUUCUCCAAACGUAAGCCAGC	834	TTGGGAGAA	1771	TGGGAGAA	2708	GGGAGAA	3645
hsa-miR-630	AGUAUUCUGUACCCAGGGAAGGU	835	ACAGAATAC	1772	CAGAATAC	2709	AGAATAC	3646
hsa-miR-631	AGACCUGGCCAGACCUCAGC	836	GGCCAGGTC	1773	GCCAGGTC	2710	CCAGGTC	3647
hsa-miR-632	GUGUCUGCUUCCUGGGGA	837	AAGCAGACA	1774	AGCAGACA	2711	GCAGACA	3648
hsa-miR-633	CUAAUAGUAUCUACACAAUAAA	838	ATACTATTA	1775	TACTATTA	2712	ACTATTA	3649
hsa-miR-634	AACCAGCACCCCAACUUUGGAC	839	GGTGTGGT	1776	GTGTGGT	2713	TGTGGT	3650
hsa-miR-635	ACUUGGACACUGAAACAUGUCC	840	GTGCCAAG	1777	TGCCAAG	2714	GCCAAG	3651
hsa-miR-636	UGUGCUUGUCUGUCCGCCCGCA	841	AGCAAGCAC	1778	GCAAGCAC	2715	CAAGCAC	3652
hsa-miR-637	ACUGGGGCUUUCGGGUCUGCGU	842	AGCCCCCAG	1779	GCCCCCAG	2716	CCCCCAG	3653
hsa-miR-638	AGGGAUCCGGGGCGGUGGCGCCU	843	CGCGATCCC	1780	GCGATCCC	2717	CGATCCC	3654
hsa-miR-639	AUCGUCGGGUUGCGAGCGCUGU	844	CGCAGCGA	1781	GCAGCGA	2718	GCAGCGA	3655
hsa-miR-640	AUGAUCCAGGAACCGCCUCU	845	CCTGGATCA	1782	CTGGATCA	2719	TGGATCA	3656
hsa-miR-641	AAAGACAUAGGAUAGAGUACCCUC	846	CTATGTCTT	1783	TATGTCTT	2720	ATGTCTT	3657
hsa-miR-642	GUCCUCUCCAAUUGUGUCUUG	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	UCUAGGCGGUACUCUGUGA	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	AAGUGUGCAGGGCACUGGU	853	CTGCACACT	1790	TGCACACT	2727	GCACACT	3664
hsa-miR-649	AAACCUUGUUGUUAAGAGUC	854	ACACAGGTT	1791	CACAGGTT	2728	ACAGGTT	3665
hsa-miR-650	AGGAGGCAGCGCUCUCAGGAC	855	GCTGCCTCC	1792	CTGCCTCC	2729	TGCCTCC	3666
hsa-miR-651	UUUAGGAUAAGCUUGACUUUUG	856	TTATCCTAA	1793	TATCCTAA	2730	ATCCTAA	3667
hsa-miR-652	AAUGGCCGCCACUAGGGUUGUG	857	TGGGCCCAT	1794	GGGCCCAT	2731	CGCCAT	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	UGSUGGGCCGAGAACAUUGUC	860	CGGCCACC	1797	GGCCCACC	2734	GCCCACC	3671
hsa-miR-655	AUAAUACAUGSUUAACCUCUUU	861	CATGTATTA	1798	ATGTATTA	2735	TGTATTA	3672
hsa-miR-656	AAUUAUUACAGUCAACCUCU	862	GTATAATAT	1799	TATAATAT	2736	ATAATAT	3673
hsa-miR-657	GGCAGGUUCUACCCUCUCUAGG	863	AGAACCTGC	1800	GAACCTGC	2737	AACCTGC	3674
hsa-miR-658	GGCGAGGGGAAGUAGGUCCGUUGU	864	TCCTCCGC	1801	CCCTCCGC	2738	CCTCCGC	3675
hsa-miR-659	CUUGUUCAGGGAGGGUCCCA	865	CTGAACCAA	1802	TGAACCAA	2739	GAACCAA	3676
hsa-miR-660	UACCAUUGCAUAUCCGAGUUG	866	GCAATGGGT	1803	CAATGGGT	2740	AATGGGT	3677
hsa-miR-661	UGCCUGGGUCUCUGGCCUGCGCU	867	GACCCAGGC	1804	ACCCAGGC	2741	CCCAGGC	3678
hsa-miR-662	UCCCACGUUGUGGCCACGACG	868	CAACGTGGG	1805	AACGTGGG	2742	ACGTGGG	3679
hsa-miR-663	AGGCGGGCGCGCGGGACCGC	869	CGCCCCGC	1806	GCCCCGC	2743	CCCCGC	3680
hsa-miR-663b	GGUGGCCCGGCCUGCCUGAGG	870	CGGGCCAC	1807	GGGCCAC	2744	GGCCAC	3681
hsa-miR-664	UAUCAUUUAUCCCCAGCCUACA	871	TAAATGAAT	1808	AAATGAAT	2745	AATGAAT	3682
hsa-miR-664*	ACUGGCUAGGGAAAUAUGAUUGAU	872	CCTAGCCAG	1809	CTAGCCAG	2746	TAGCCAG	3683
hsa-miR-665	ACCAGGAGGUCAGGCCCCU	873	GCCTCTGG	1810	CCTCTGG	2747	CTCTGG	3684
hsa-miR-668	UGUCACUCGGCUCGGCCACUAC	874	CCGAGTGAC	1811	CGAGTGAC	2748	GAGTGAC	3685
hsa-miR-671-3p	UCCGGUUCUCAGGGCUCACCC	875	GAGAACCGG	1812	AGAACCGG	2749	GAACCGG	3686
hsa-miR-671-5p	AGGAAGCCUGGAGGGGCGGAG	876	AGGGCTTCC	1813	GGGCTTCC	2750	GGCTTCC	3687
hsa-miR-675	UGGUGCGGAGAGGGCCACAGUG	877	CTCCGACC	1814	TCCGACC	2751	CCGACC	3688
hsa-miR-675b	CUGUAUGCCUCACCCGCUCA	878	GGCATAACA	1815	GCATAACA	2752	GATAACA	3689
hsa-miR-7	UGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGU	879	TAGTCTTCC	1816	AGTCTTCC	2753	GCTTCC	3690
hsa-miR-7-1*	CAACAAAUCACAGUCUGCCAUA	880	TGATTTGTT	1817	GATTTGTT	2754	ATTTGTT	3691
hsa-miR-7-2*	CAACAAUCCAGUCUACCUAA	881	GGATTTGTT	1818	GATTTGTT	2755	ATTTGTT	3692
hsa-miR-708	AAGGAGCUUACAAUCUAGCUGGG	882	TAAGCTCCT	1819	AAGCTCCT	2756	AGCTCCT	3693
hsa-miR-708*	CAACUAGACUGAGGUUCUAG	883	AGTCTAGTT	1820	GTCTAGTT	2757	TCTAGTT	3694
hsa-miR-720	UCUCGUGGGGCCUCCA	884	CCCAGCGAG	1821	CCAGCGAG	2758	CAGCGAG	3695
hsa-miR-744	UGCGGGGUAGGGCUAACAGCA	885	TAGCCCCGC	1822	AGCCCCGC	2759	GCCCCGC	3696
hsa-miR-744*	CUGUUGCCACUAAACCUCAACCU	886	GTGGCAACA	1823	TGGCAACA	2760	GGCAACA	3697
hsa-miR-758	UUUGUGACCUGGUCCACUAACC	887	AGGTCACAA	1824	GGTCACAA	2761	GTCACAA	3698
hsa-miR-760	CGGCUCUGGGUCUGUGGGGA	888	CCCAGAGCC	1825	CCAGAGCC	2762	CAGAGCC	3699
hsa-miR-765	UGGAGGAGAAGGAAGGUGAUG	889	TTCTCTCC	1826	TCTCTCC	2763	CTCTCC	3700
hsa-miR-766	ACTUCAGCCCAACAGCCUCAGC	890	GGCTGGAG	1827	GGCTGGAG	2764	GCTGGAG	3701
hsa-miR-767-3p	UCUGUCUAUACCCCAUGGUUUUCU	891	TATGAGCAG	1828	ATGAGCAG	2765	TGAGCAG	3702
hsa-miR-767-5p	UGCACCAUGGUUGUCUGAGCAUG	892	CCATGGTGC	1829	CATGGTGC	2766	ATGGTGC	3703
hsa-miR-769-3p	CUGGGAUUCUCGGGGUCUUGGUU	893	GAGATCCCA	1830	AGATCCCA	2767	GATCCCA	3704
hsa-miR-769-5p	UGAGACCUCUGGGUUCUGAGCU	894	AGAGGTCTC	1831	GAGGTCTC	2768	AGGTCTC	3705
hsa-miR-770-5p	UCCAGUACCACGUCAGGGCCA	895	TGGTACTGG	1832	GGTACTGG	2769	GACTACTGG	3706
hsa-miR-802	CAGUAACAAAGAUUAUCCUUGU	896	TTGTTACT	1833	TGTTACT	2770	TGTTACT	3707
hsa-miR-873	GCAGGAACUUGUGAGUCUCU	897	AAGTTCCTG	1834	AGTTCCTG	2771	GTTCTCTG	3708
hsa-miR-874	CUGCCUGGCCCGAGGGACCGA	898	GCCAGGGCA	1835	CCAGGGCA	2772	CAGGGCA	3709
hsa-miR-875-3p	CCUGGAAACACUGAGGUUGUG	899	TGTTCCAG	1836	GTTCCAG	2773	TTCCAG	3710
hsa-miR-875-5p	UAUACCUUCAGUUUAUCAGGUG	900	CTGAGGTAT	1837	TGAGGTAT	2774	GAGGTAT	3711
hsa-miR-876-3p	UGGUGGUUUACAAAGUAAUUA	901	TAAACCACC	1838	AAACCACC	2775	AACCACC	3712
hsa-miR-876-5p	UGGAUUUCUUUGUAAUACCA	902	AAGAAATCC	1839	AGAAATCC	2776	GAAATCC	3713
hsa-miR-877	GUAGAGGAGAGGGCGCAGGG	903	TCTCCTCTA	1840	CTCCTCTA	2777	TCCTCTA	3714
hsa-miR-877*	UCCUCUUCUCCUCCUCCAG	904	GAGAAGAGG	1841	AGAAGAGG	2778	GAGAGG	3715
hsa-miR-885-3p	AGGCAGCGGGUGUAGUGGUAU	905	CCGCTGCC	1842	CGCTGCC	2779	CGCTGCC	3716
hsa-miR-885-5p	UCCAUAUACAUACCCUGCCUCU	906	GTGTAATGG	1843	TGTAATGG	2780	GTAATGG	3717
hsa-miR-886-3p	CGCGGGUCUUAUCUGACCCUU	907	AGCACCCGC	1844	GCACCCGC	2781	CACCCGC	3718
hsa-miR-886-5p	CGGGUCGAGUUAUCUAAAGCGG	908	CTCCGACCC	1845	TCCGACCC	2782	CCGACCC	3719
hsa-miR-887	GUGAACGGGCGCAUCCCGAGG	909	GCCCGTTCA	1846	CCCGTTCA	2783	CCGTCA	3720
hsa-miR-888	UACUCAAAAAGCUGUCAGUCA	910	TTTTTGAGT	1847	TTTGAGT	2784	TTTGAGT	3721
hsa-miR-888*	GACUGACACCCUUUGGGUGAA	911	GSTGTCAGT	1848	GTGTCAGT	2785	TGTCAGT	3722
hsa-miR-889	UUAAUAUCGGACAACCAUUGU	912	CCGATATTA	1849	CGATATTA	2786	GATATTA	3723
hsa-miR-890	UACUUGGAAAGGCAUCAGUUG	913	TTCCAAGT	1850	TCCAAGT	2787	TCCAAGT	3724

hsa-miR-891a	UGCAACGAAACCCUGAGCCACUGA	914	GTTGCTTGC	1851	TTCGTTGC	2788	TCGTTGC	3725
hsa-miR-891b	UGCAACUUAACCCUGAGUCAUUGA	915	GTAAGTTGC	1852	TAAGTTGC	2789	AAGTTGC	3726
hsa-miR-892a	CACUGUGUCCUUUCUGCGUAG	916	GGACACAGT	1853	GACACAGT	2790	ACACAGT	3727
hsa-miR-892b	CACUGGCUCCUUUCUGGGUAGA	917	GGAGCCAGT	1854	GAGCCAGT	2791	AGCCAGT	3728
hsa-miR-9	UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGA	918	TAACCAAAG	1855	AACCAAAG	2792	ACCAAAG	3729
hsa-miR-9*	AUAAAGCUAGAUAAACCGAAAGU	919	CTAGCTTTA	1856	TAGCTTTA	2793	AGCTTTA	3730
hsa-miR-920	GGGGAGCUGUGGAAGCAGUA	920	ACAGCTCCC	1857	CAGCTCCC	2794	AGCTCCC	3731
hsa-miR-921	CUAGUGAGGGACAGAACCAGGAUUC	921	CCCTACTA	1858	CCTACTA	2795	CTACTA	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*	AGGUUGGGAUCGGUUGCAAUGCU	926	ATCCCAACC	1863	TCCCAACC	2800	CCCAACC	3737
hsa-miR-92a-2*	GGGUGGGGAUUUGUUGCAUUAAC	927	ATCCCCACC	1864	TCCCCACC	2801	CCCCACC	3738
hsa-miR-92b	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUCC	928	GAGTGCAAT	1865	AGTGCAAT	2802	GTGCAAT	3739
hsa-miR-92b*	AGGGACGGGACGGGUGCAGUG	929	TCCCGTCCC	1866	CCCGTCCC	2803	CCGTCCC	3740
hsa-miR-93	CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG	930	CAGCACTTT	1867	AGCACTTT	2804	GCACTTT	3741
hsa-miR-93*	ACUGCUGAGCUAGCACUUCGCCG	931	GCTCAGCAG	1868	CTCAGCAG	2805	TCAGCAG	3742
hsa-miR-933	UGUGGCGAGGGAGACCUUCUCCC	932	CCTGCGCAC	1869	CTGCGCAC	2806	TGCGCAC	3743
hsa-miR-934	UGUCUACUACUGGAGACACUGG	933	GTAGTAGAC	1870	TAGTAGAC	2807	AGTAGAC	3744
hsa-miR-935	CCAGUUAACCGUUCUCCGUACCGC	934	CGGTAAGTC	1871	GGTAAGTC	2808	GTAAGTC	3745
hsa-miR-936	ACAGUAGAGGGAGGAUUCGCAG	935	CCTCTACTG	1872	CTCTACTG	2809	TCTACTG	3746
hsa-miR-937	AUCCGCGCUCUGACUCUCUGCC	936	GAGCGCGGA	1873	AGCGCGGA	2810	GCGCGGA	3747
hsa-miR-938	UGCCCUAAAGGGUAAACCCAGU	937	TTTAAGGGC	1874	TTAAGGGC	2811	TAAGGGC	3748
hsa-miR-939	UGGGAGCUGAGGUCUUGGGGUG	938	CAGCTCCCC	1875	AGCTCCCC	2812	GCTCCCC	3749
hsa-miR-940	AAGGCAGGGCCCCCGCUCUCCC	939	GCCTGCCT	1876	CCCTGCCT	2813	CCTGCCT	3750
hsa-miR-941	CACCCGGCUGUGGCACAUGUGC	940	CAGCCGGST	1877	AGCCGGST	2814	GCCGGST	3751
hsa-miR-942	UCTUCUCUGUUUUGGCAUGUG	941	ACAGAGAAG	1878	CAGAGAAG	2815	AGAGAAG	3752
hsa-miR-943	CUGACUGUUGCCGUCCUCCAG	942	CAACAGTCA	1879	AACAGTCA	2816	ACAGTCA	3753
hsa-miR-944	AAAUUAUUGUACAUCGGAUGAG	943	ACAATAATT	1880	CAATAATT	2817	AATAATT	3754
hsa-miR-95	UUCAACGGGUUUUAUUGAGCA	944	ACCCGTTGA	1881	CCCGTTGA	2818	CCGTTGA	3755
hsa-miR-96	UUUGGCAUAGCACAUUUUUUGCU	945	TAGTGCCAA	1882	AGTGCCAA	2819	GTGCCAA	3756
hsa-miR-96*	AAUCAUGUGCAGUGCCAAUAUG	946	GCACATGAT	1883	CACATGAT	2820	ACATGAT	3757
hsa-miR-98	UGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUU	947	TACTACCTC	1884	ACTACCTC	2821	CTACCTC	3758
hsa-miR-99a	AACCCGUAGAUCCGAUCUUGUG	948	TCTACGGGT	1885	CTACGGGT	2822	TACGGGT	3759
hsa-miR-99a*	CAAGCUCGCUUCUAUGGGUCUG	949	AGCGAGCTT	1886	GCGAGCTT	2823	CGAGCTT	3760
hsa-miR-99b	CACCCGUAGAACCGACCUUGCG	950	TCTACGGGT	1887	CTACGGGT	2824	TACGGGT	3761
hsa-miR-99b*	CAAGCUCGUGUCUUGGGUCCG	951	CACGAGCTT	1888	ACGAGCTT	2825	CGAGCTT	3762
hsv1-miR-H1	UGGAAGGACGGGAAGUGGAAG	952	CGTCTTCC	1889	GTCTTCC	2826	TCTTCC	3763
hsv1-miR-H2-3p	CCUGAGCCAGGAGCAGUGCGACU	953	CTGGCTCAG	1890	TGGCTCAG	2827	GGCTCAG	3764
hsv1-miR-H2-5p	UCGCACGCGCCCGGCACAGACU	954	GCGCGTGG	1891	CGCGTGG	2828	GCGTGG	3765
hsv1-miR-H3	CUGGGACUGUGCGGUUGGGA	955	ACAGTCCCA	1892	CAGTCCCA	2829	AGTCCCA	3766
hsv1-miR-H4-3p	UUUGCCUGUCUUAACUCGCUAGU	956	GACAGGCAA	1893	ACAGGCAA	2830	CAGGCAA	3767
hsv1-miR-H4-5p	GGUAGAGUUUACAGGCAAGCA	957	AAACTCTAC	1894	AACTCTAC	2831	ACTCTAC	3768
hsv1-miR-H5	GUCAGAGAUCCAAACCCUCCGG	958	GATCTCTGA	1895	ATCTCTGA	2832	TCTCTGA	3769
hsv1-miR-H6	CACUUCGCGUCCUCCAUCUCC	959	ACGGGAAGT	1896	CGGGAAGT	2833	GGGGAAGT	3770
kshv-miR-K12-1	AUUACAGGAAACUGGGUGUAAGC	960	TTCTGTAA	1897	TCCTGTAA	2834	CCTGTAA	3771
kshv-miR-K12-10a	UAGUGUUGUCCCGGAGUGGC	961	GACAACACT	1898	ACAACACT	2835	CAACACT	3772
kshv-miR-K12-10b	UGGUGUUGUCCCGGAGUGGC	962	GACAACACC	1899	ACAACACC	2836	CAACACC	3773
kshv-miR-K12-11	UUAAUGCUUAGCCUUGUCCGA	963	TAAGCATT	1900	AAGCATT	2837	AGCATT	3774
kshv-miR-K12-12	ACCAGGCCACCAUUCUUCUCCG	964	GTGGCTGG	1901	TGGCTGG	2838	GGCTGG	3775
kshv-miR-K12-2	AACUGUAGUCCGGGUGCAUCUG	965	GACTACAGT	1902	ACTACAGT	2839	CTACAGT	3776
kshv-miR-K12-3	UCACAUCUGAGGACGGCAGCGA	966	CAGAATGTG	1903	AGAATGTG	2840	GAATGTG	3777
kshv-miR-K12-3*	UCGCGGUCACAGAAUGUGACA	967	GTGACCGCG	1904	TGACCGCG	2841	GACCGCG	3778
kshv-miR-K12-4-3p	UAGAAUACUGAGGCCUAGCUGA	968	CAGTATTCT	1905	AGTATTCT	2842	GTATTCT	3779

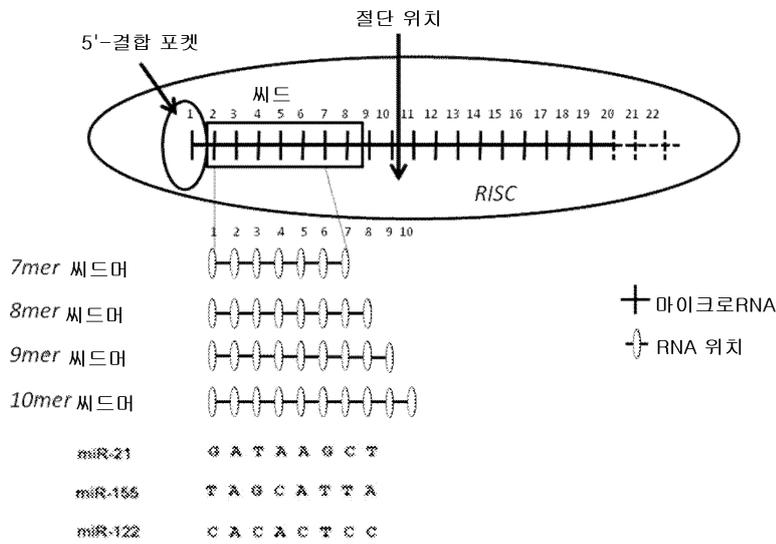
[0665]

kshv-miR-K12-4-5p	AGCUAAACCGCAGUACUCUAGG	969	CGGTTTAGC	1906	GTTTAGC	2843	TTTAGC	3780
kshv-miR-K12-5	UAGGAUGCCUGGAACUUGCCGG	970	AGGCATCCT	1907	GGCATCCT	2844	GATCCT	3781
kshv-miR-K12-6-3p	UGAUGUUUUUGGGCUGUUGAG	971	AAAACCATC	1908	AAACCATC	2845	AACCATC	3782
kshv-miR-K12-6-5p	CCAGCAGCACCUUAUCCAUCCG	972	GTGCTGCTG	1909	TGCTGCTG	2846	GCTGCTG	3783
kshv-miR-K12-7	UGAUCCAUUGUUGUGCGCU	973	CATGGGACT	1910	ATGGGACT	2847	TGGGACT	3784
kshv-miR-K12-8	UAGGCGGACUGAGAGAGCACG	974	GTCGCGCTT	1911	TCGCGCTT	2848	CGCGCTT	3785
kshv-miR-K12-9	CUGGGUUAACGACCGUCGGUAA	975	GTAATACCA	1912	TATACCCA	2849	ATACCCA	3786
kshv-miR-K12-9*	ACCCAGCUGCGUAAACCCCGCU	976	GCAGCTGGG	1913	CAGCTGGG	2850	AGCTGGG	3787

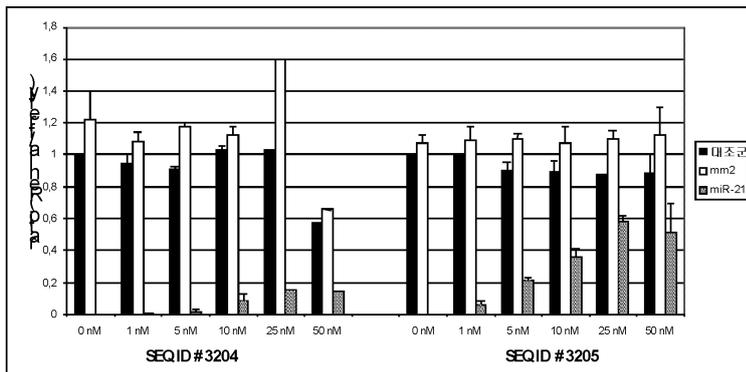
[0666]

도면

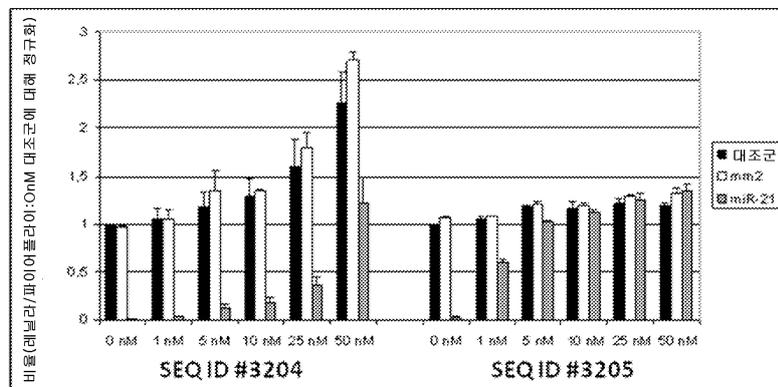
도면1



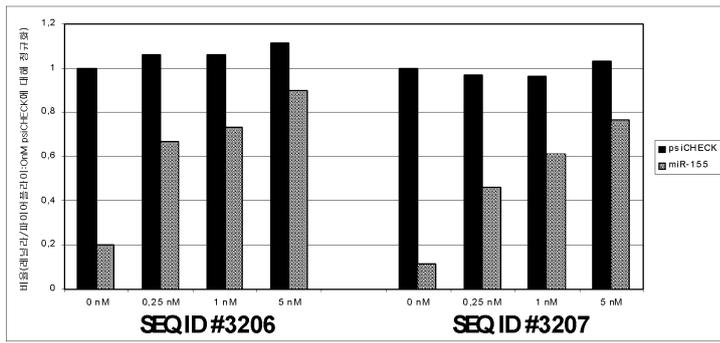
도면2



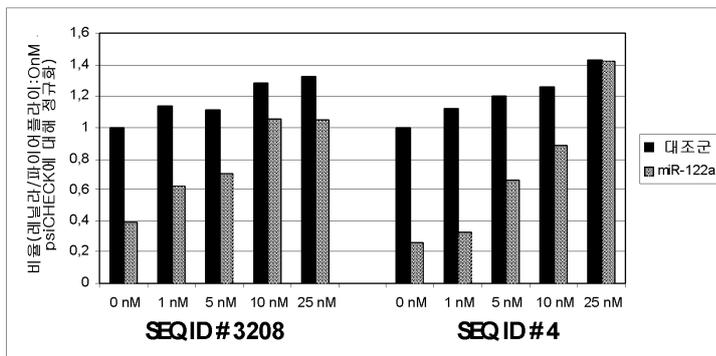
도면3



도면4

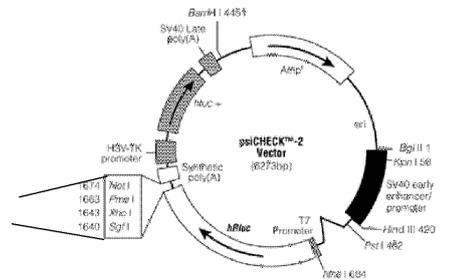


도면5

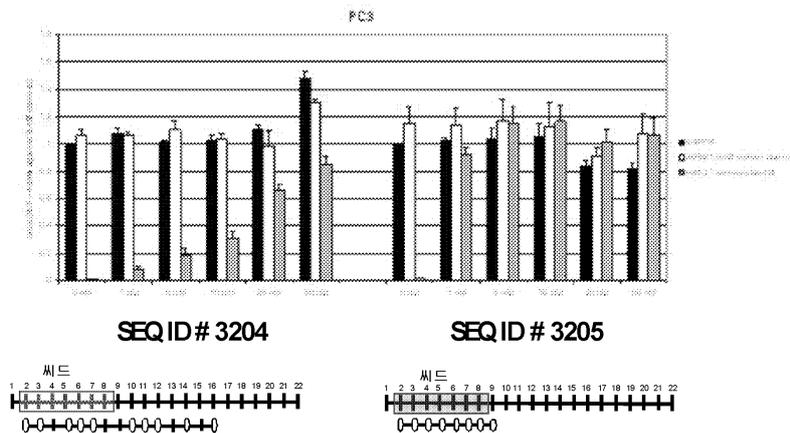


도면6

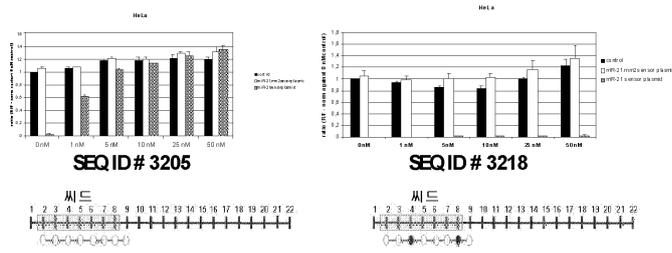
miR-21 표적 서열 (NotI 및 XhoI), 즉, miR-21에 대해 상보적인 서열



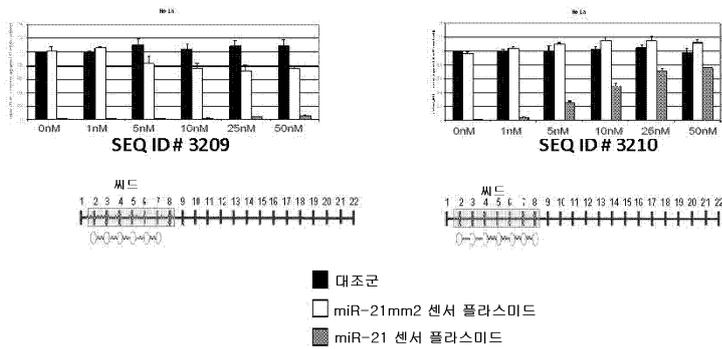
도면7



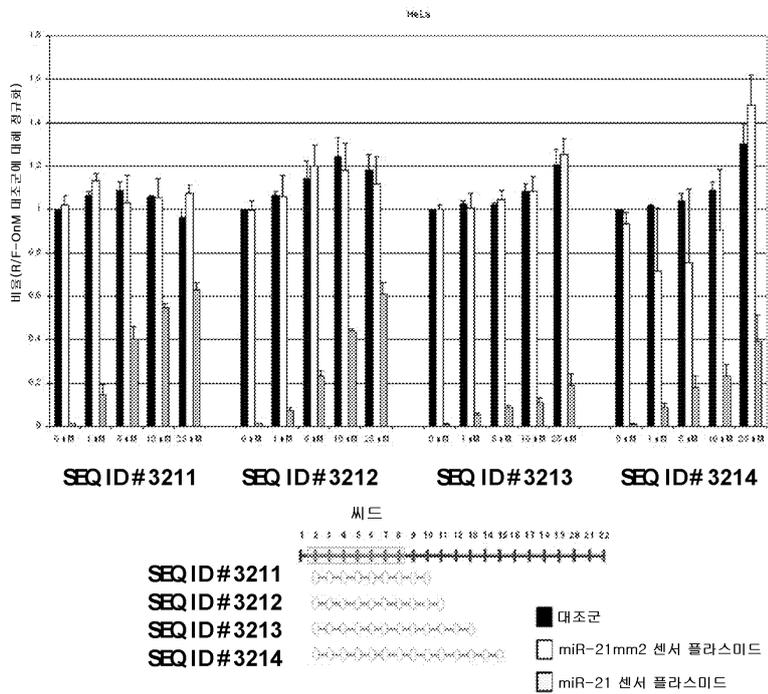
도면8



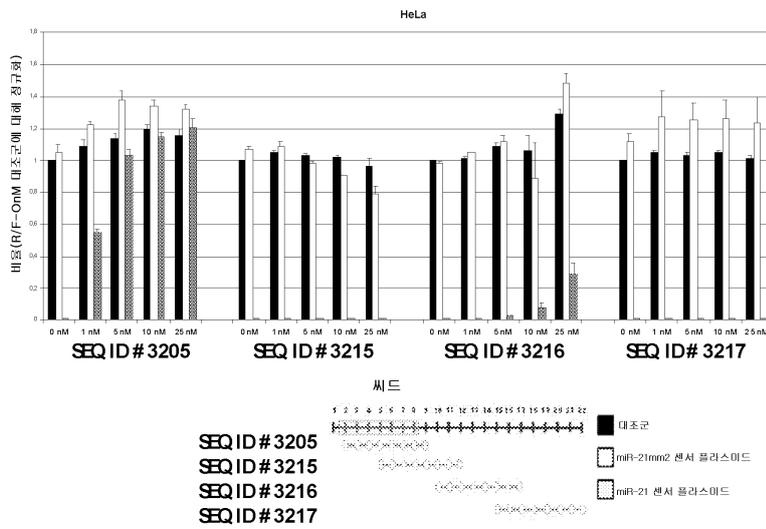
도면9



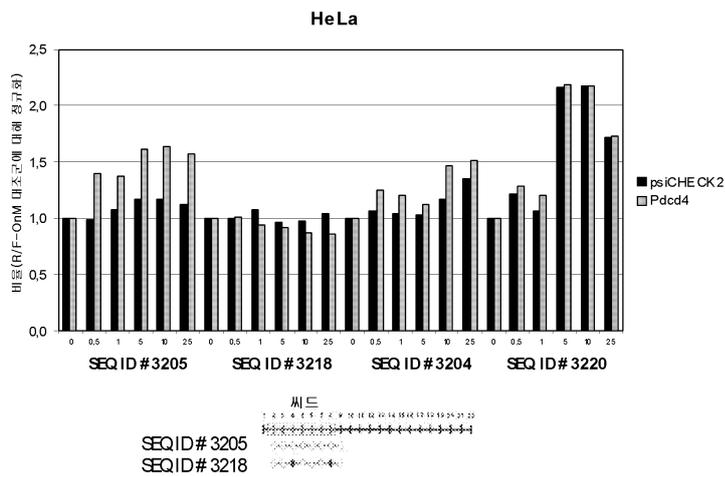
도면10



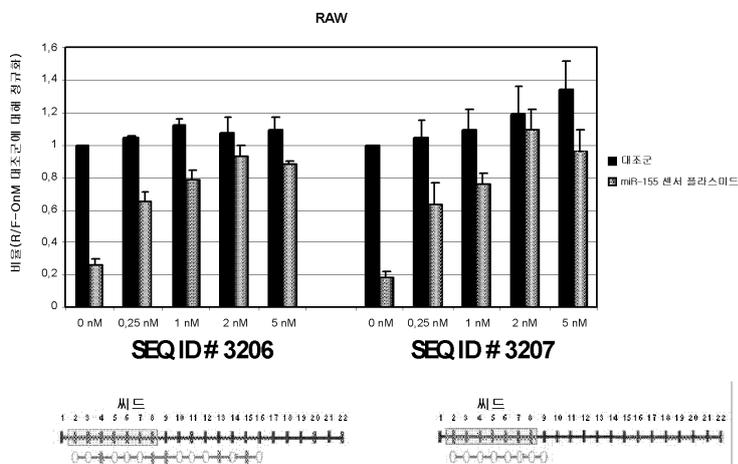
도면11



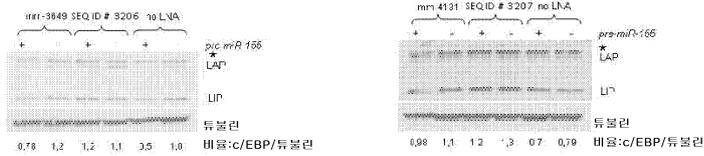
도면12



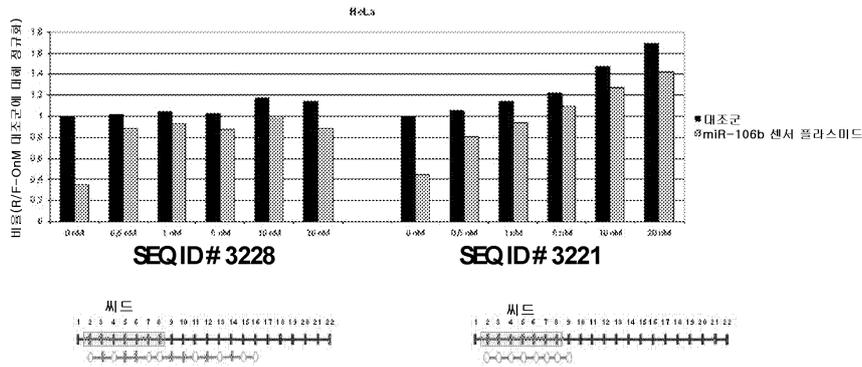
도면13



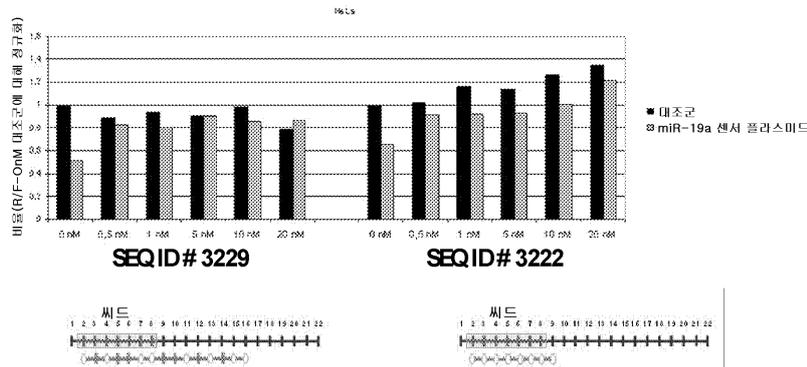
도면14



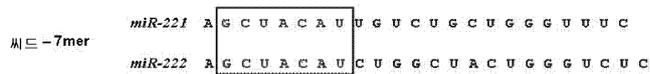
도면15



도면16

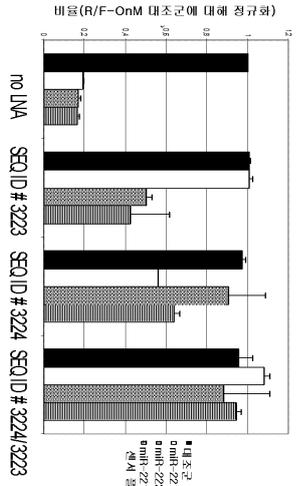


도면17

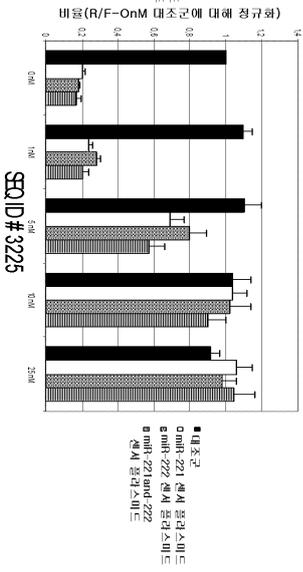


도면18

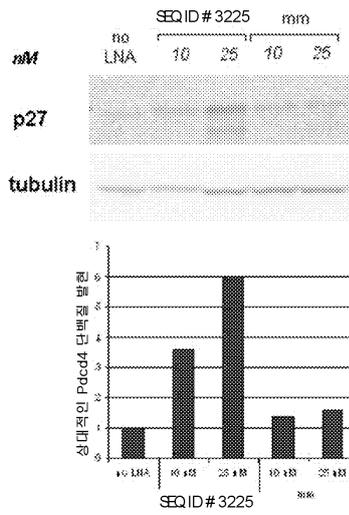
SEQ ID# 3223
SEQ ID# 3224



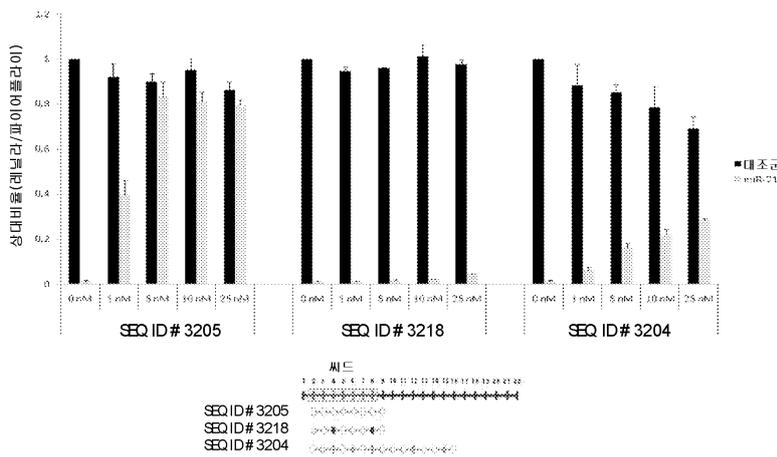
SEQ ID# 3225



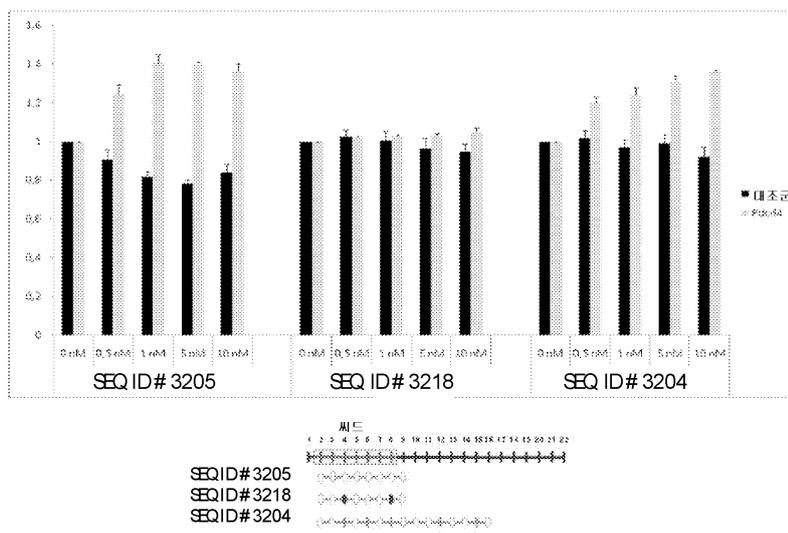
도면19



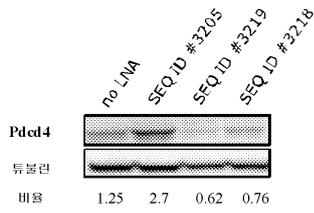
도면20



도면21

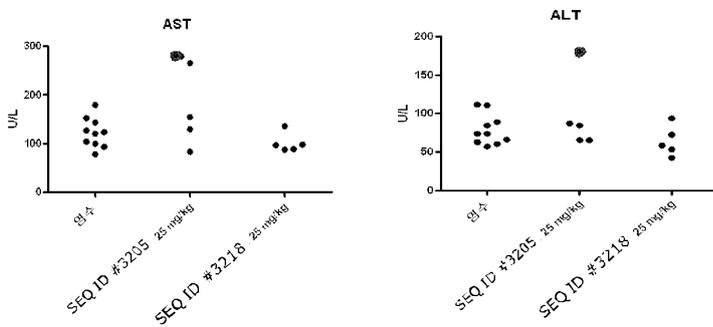


도면22

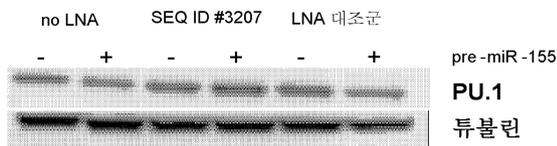


SEQ ID #3205 5'- GATAAGCT - 3'
 SEQ ID #3219 5'- CGTAATGA - 3'
 SEQ ID #3218 5'- GGTAAACT - 3'

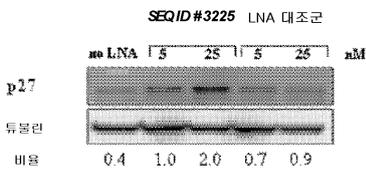
도면23



도면24

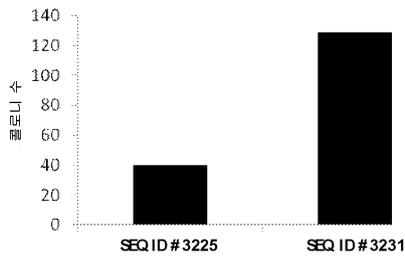


도면25



SEQ ID # 3225 5'- ATGTAGC -3'
 LNA 대조군 5'- GTAGACT -3'

도면26



도면27

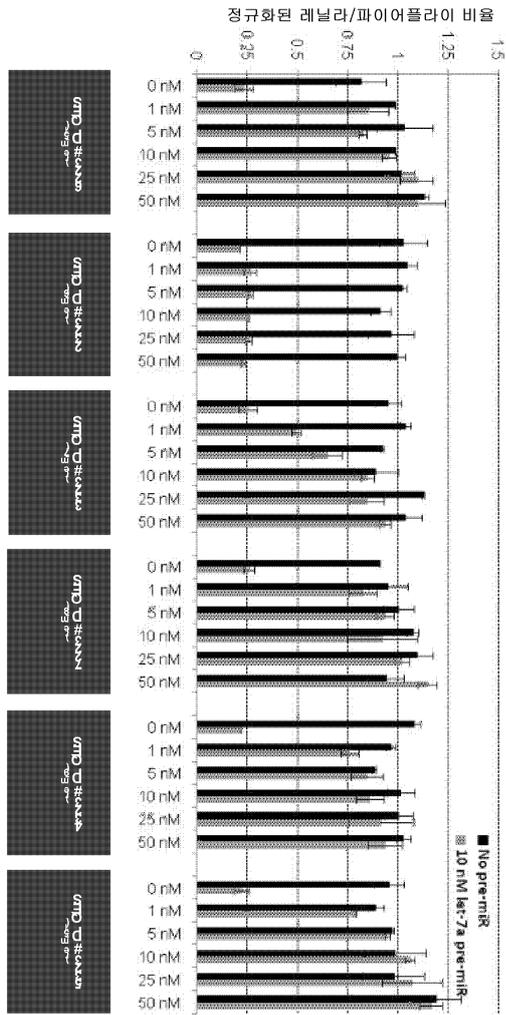
명칭	성숙한 miRNA 서열	S (2-8)	ES (2-9)	NE (9-16)	Total (2-16)
let-7a	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	N/A	N/A	N/A	N/A
let-7b	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	0	0
let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	0	0
let-7d	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	1	1
let-7e	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	1	0	1
let-7f	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	1	1
let-7g	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	1	1
let-7i	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	1	1
miR-98	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	0	0	1	1

번호	화합물	서열 (5' to 3') ^a	길이 (nt)	상보적인 표적(들)
1.	SEQ ID #3226	A-C-a-A-c-C-T-a-c-T-a-C-c-T-C	15	let-7a/b/c
2.	SEQ ID #3236	G-C-a-A-c-C-T-a-c-T-a-C-c-T-C	15	let-7d
3.	SEQ ID #3237	A-C-a-A-c-C-T-c-c-T-a-C-c-T-C	15	let-7e
4.	SEQ ID #3238	A-C-a-A-a-C-T-a-c-T-a-C-c-T-C	15	let-7g/i
5.	SEQ ID #3239	C-T-A-C-C-T-C	7	모든 멤버
6.	SEQ ID #3240	C-T-A-A-C-T-C	7	없음
7.	SEQ ID #3227	A-C-T-A-C-C-T-C	8	let-7e을 제외한 모든 멤버
8.	SEQ ID #3232	T-A-C-C-T-C	6	모든 멤버
9.	SEQ ID #3234	T-N ₁ -C-T-A-C-C-T-C	9	모든 멤버 ^b
10.	SEQ ID #3235	T-N ₂ -C-T-A-C-C-T-C	9	모든 멤버 ^b

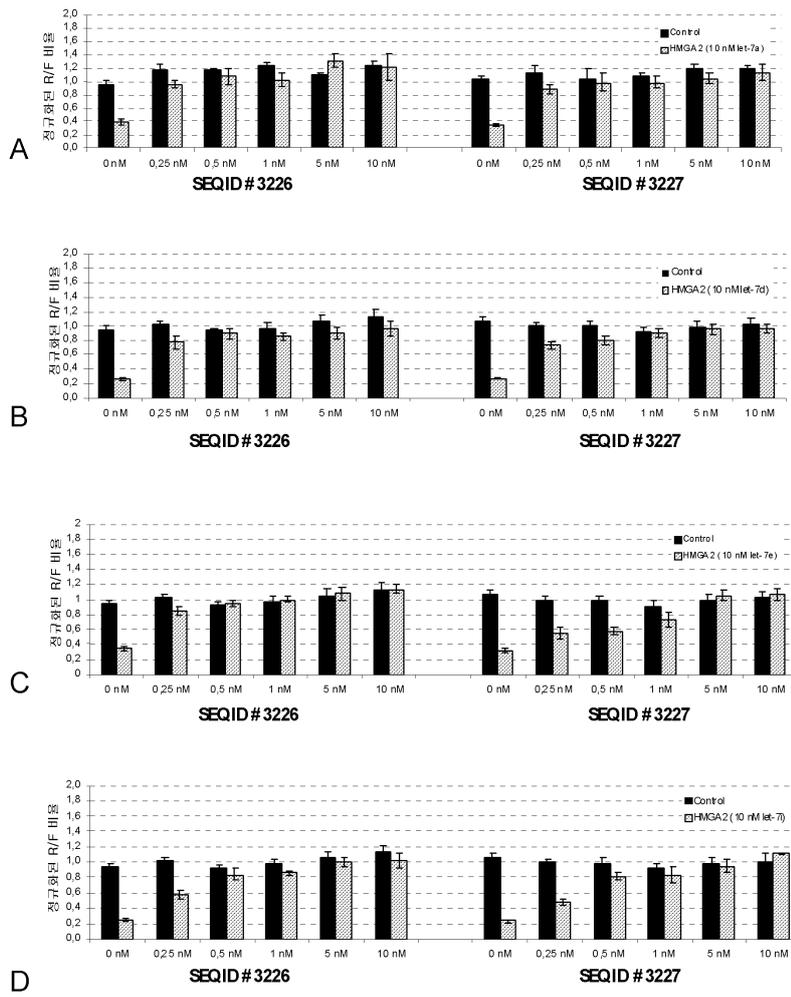
^a대문자와 소문자는 각각 LNA와 DNA를 나타낸다.

^b 9-mer들은 두가지 모두 이론적으로 모든 멤버를 표적화하는데 이는 이들의 2번째 위치에서 이들이 2개의 서로 다른 범용성 하이브리다이즈 화학을 갖기 때문이다.

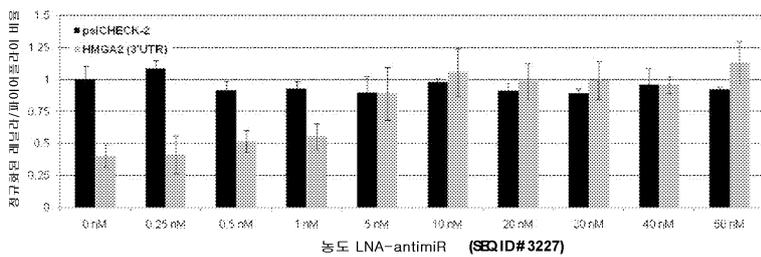
도면28



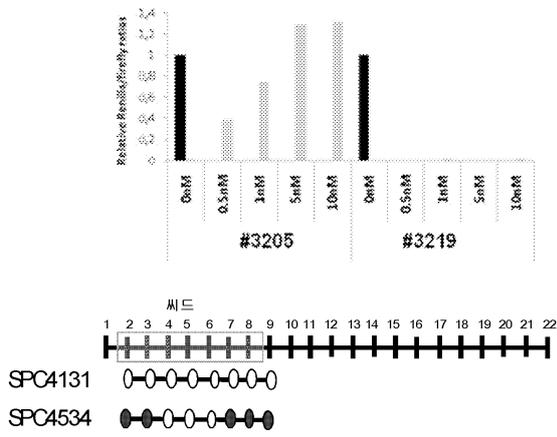
도면29



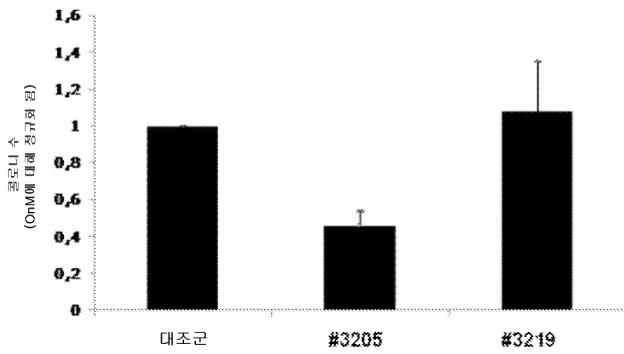
도면30



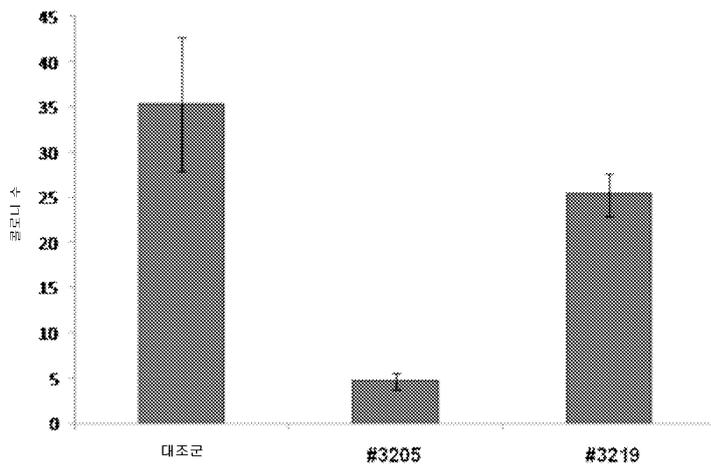
도면31



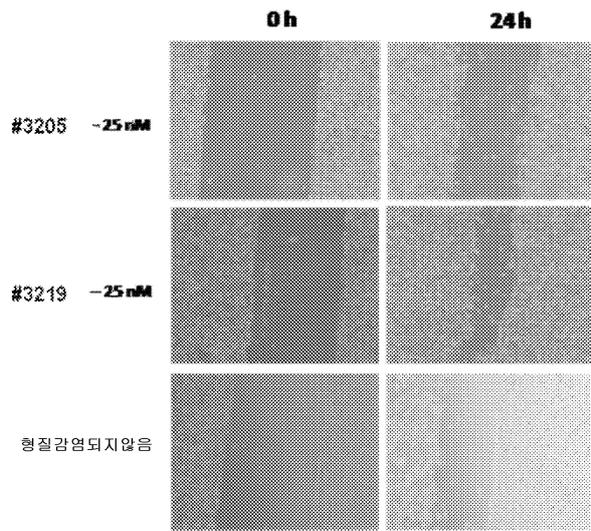
도면32



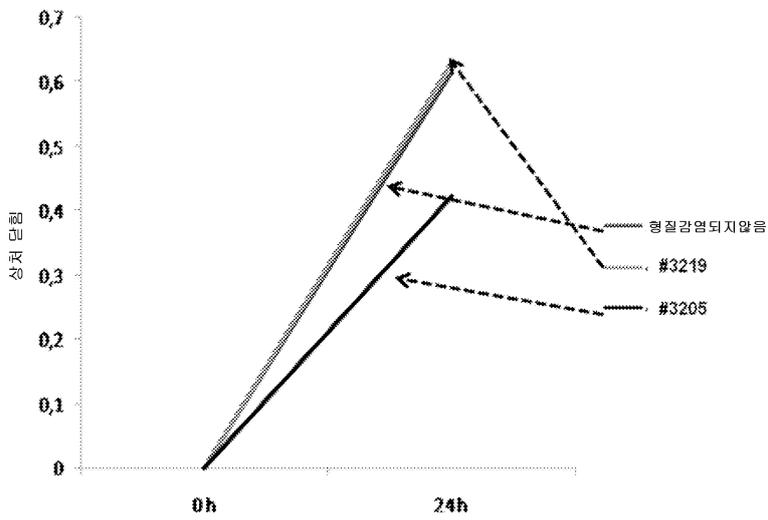
도면33



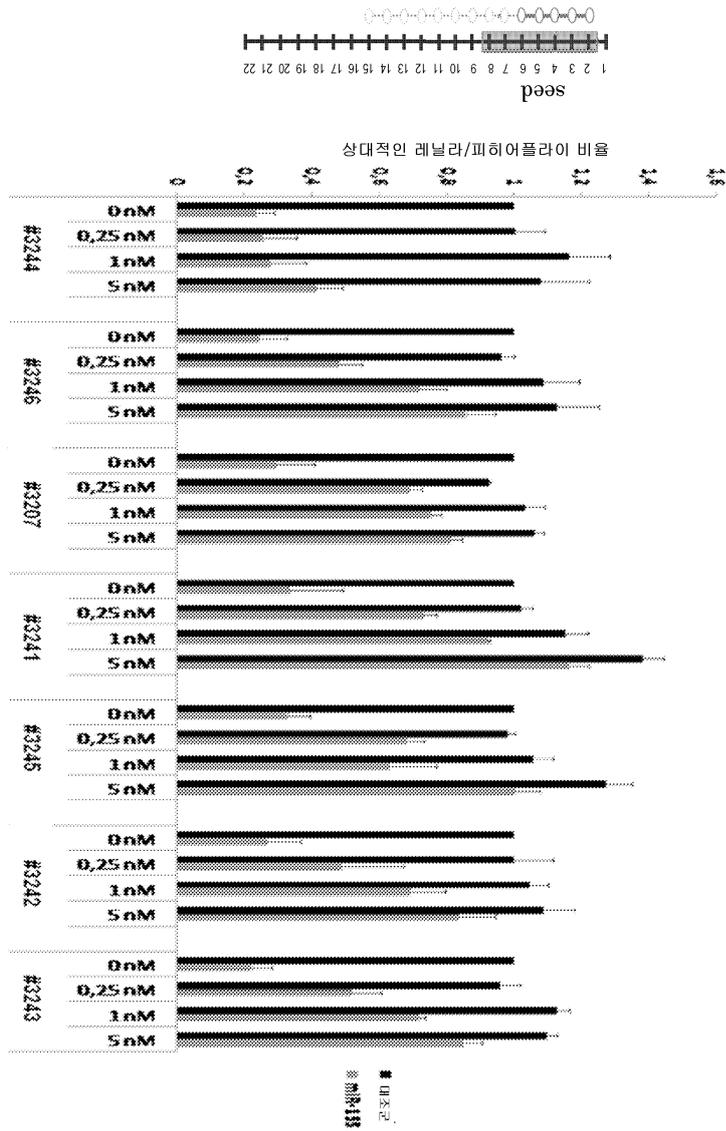
도면34



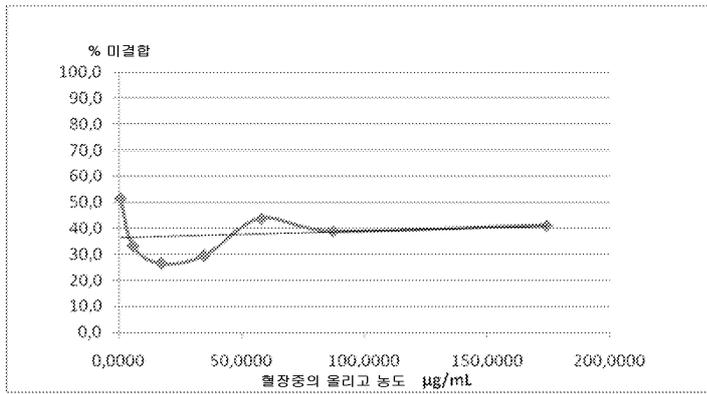
(A)



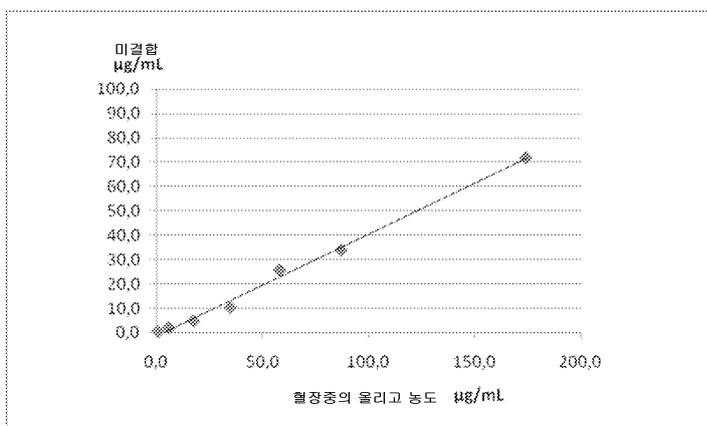
도면35



도면36



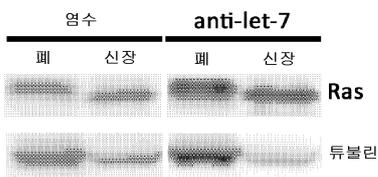
A)



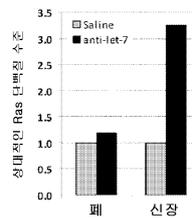
B)

도면37

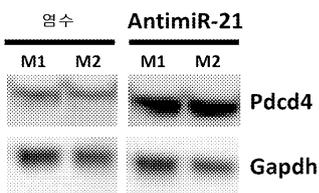
A



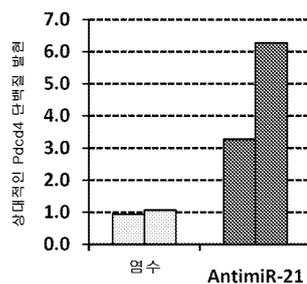
B



A



B



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Santaris Pharma A/S

<120> Micromirs

<130> 1051W0

<150> US 60/977497

<151> 2007-10-04

<150> US 60/979217

<151> 2007-10-11

<150> US 61/028062

<151> 2008-02-12

<150> EP08104780.5

<151> 2008-07-17

<160> 3787

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 15

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> Seedmer, optionally fully LNA phosphorothioate

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(15)

<223> Phosphorothioate linkages, LNAs at positions 1, 3, 4, 6, 7, 8,
 10, 12, 14 & 15 otherwise DNAnts.

<400> 1
 tcagtctgat aagct 15

<210> 2

<211> 8

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> LNA Oligomer

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(8)

<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 2
 gataagct 8
 <210> 3
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(15)

<223> Phosphorothioate linkages, LNAs at positions 1, 3, 5, 6, 7, 10,
 11, 12, 14 & 15 otherwise DNAnts.
 <400> 3
 tcacaattag catta 15
 <210> 4
 <211> 8
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(8)

<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 4
 tagcatta 8
 <210> 5
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial

<220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(15)

<223> Phosphorothioate linkages, LNAs at positions 1, 3, 6, 7, 8, 10,
 12, 14 & 15 otherwise DNAnts.

<400> 5	
ccattgtcac actcc	15
<210> 6	
<211> 8	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(8)	
<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
<400> 6	
cacactcc	8
<210> 7	
<211> 6	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(6)	
<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
<400> 7	
taagct	6
<210> 8	
<211> 7	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(7)	
<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
<400> 8	
ataagct	7
<210> 9	

<211> 9
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 9
 tgataagct 9
 <210> 10
 <211> 10
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(10)
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 10
 ctgataagct 10

 <210> 11
 <211> 12
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(12)
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 11
 gtctgataag ct 12
 <210> 12
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer

<220><221> misc_feature
 <222> (1)..(14)
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 12
 cagtctgata agct 14

 <210> 13
 <211> 8
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(8)
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 13
 tctgataa 8
 <210> 14
 <211> 8
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(8)
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 14
 atcagtct 8

 <210> 15
 <211> 8
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(8)
 <223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages

<400> 15	
tcaacatc	8
<210> 16	
<211> 8	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(8)	
<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
<400> 16	
ggtaaact	8
<210> 17	
<211> 8	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(8)	
<223> Fully LNA & Phosphorothioate linkages	
<400> 17	
cgtaatga	8
<210> 18	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(16)	
<223> LNA gapmer 3LNA- 9DNA-3LNA-1DNA, 5' FAM label, phosphorothioate linkages.	
<400> 18	
tcagtctgat aagcta	16

<210> 19
 <211> 8
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(8)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 19
 agcacttt 8
 <210> 20
 <211> 8
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(8)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 20
 atttgcac 8

 <210> 21
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <400> 21
 agcagacaat gtagc 15
 <210> 22
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <400> 22
 gtagccagat gtagc 15

<210> 23
 <211> 7
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(7)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages

<400> 23
 atgtagc 7

<210> 24
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <400> 24
 acaacctact acctc 15

<210> 25
 <211> 8
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(8)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages
 <400> 25
 actacctc 8

<210> 26
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <400> 26

cactgtcagc acttt	15
<210> 27	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<400> 27	
tgcatagatt tgcac	15
<210> 28	
<211> 7	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(7)	
<223> Full LNA & Phosphorothioate linkages	
<400> 28	
gtagact	7
<210> 29	
<211> 6	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(6)	
<223> Full LNA & Phosphorothioate linkages	
<400> 29	
tacctc	6
<210> 30	
<211> 7	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	

<222> (1)..(7)	
<223> Full LNA & Phosphorothioate linkages	
<400> 30	
ctacctc	7
<210> 31	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(9)	
<223> Full LNA & Phosphorothioate linkages, N = Universal base	
<400> 31	
tntacctc	9
<210> 32	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<220><221> misc_feature	
<222> (1)..(9)	
<223> Full LNA	
& Phosphorothioate linkages, N = Universal base	
<400> 32	
tntacctc	9
<210> 33	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> artificial	
<220><223> LNA Oligomer	
<400> 33	
gcaacctact acctc	15
<210> 34	
<211> 15	

<212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <400> 34
 acaacctcct acctc 15
 <210> 35
 <211> 15
 <212>
 > DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <400> 35
 acaaactact acctc 15
 <210> 36
 <211> 7
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(7)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages,
 <400> 36
 ctacctc 7
 <210> 37
 <211> 7
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(7)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages,
 <400> 37
 ctaactc 7
 <210> 38

<211> 9
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(9)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages,
 <400> 38
 ttagcatta 9
 <210> 39
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature

 <222> (1)..(9)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages,
 <400> 39
 ttagcatta 9
 <210> 40
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 40
 uagcacgcgc uaccacuaug uc 22
 <210> 41
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 41
 ucuuagugga agugacgugc ugug 24
 <210> 42
 <211> 23
 <212> RNA

<213> Epstein Barr virus

<400> 42

uacauaacca uggaguuggc ugu 23

<210> 43

<211> 22

<212> RNA

<213> Epstein Barr virus

<400> 43

gccaccuuu ugguucugua ca 22

<210> 44

<211> 21

<212> RNA

<213> Epstein Barr virus

<400> 44

acgcacacca ggcugacugc c 21

<210> 45

<211> 24

<212> RNA

<213> Epstein Barr virus

<400> 45

ucagacaguu uggugcgua guug 24

<210> 46

<211> 22

<212> RNA

<213> Epstein Barr virus

<400> 46

uccuguggug uuuggugugg uu 22

<210> 47

<211> 23

<212> RNA

<213> Epstein Barr virus

<400> 47

uguaacuugc caggacggc uga 23

<210> 48
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 48
 aaccggcucg uggcucguac ag 22
 <210> 49
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 49
 uaaaugcugc aguaguaggg au 22
 <210> 50
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 50
 uaccuacgc ugccgauuua ca 22
 <210> 51
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 51
 gucagugguu uuguuuccuu ga 22
 <210> 52
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 52
 uuagauagag ugggugugug cucu 24
 <210> 53
 <211> 23
 <212> RNA

<213> Epstein Barr virus
 <400> 53
 uguaugccug gugucccuu agu 23
 <210> 54
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 54
 uaagaggacg caggcauaca ag 22
 <210> 55
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 55
 uaucggaagu uugggcuucg uc 22
 <210> 56
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 56
 ucaaguucgc acuuccuaua ca 22
 <210> 57
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 57
 uuuuguuugc uugggaaugc u 21
 <210> 58
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 58
 acaucccccg caaacaugac aug 23
 <210> 59

<211> 24
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 59
 aaggagcgau uuggagaaaa uaaa 24

<210> 60
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 60
 uauuuucugc auucgcccuu gc 22

<210> 61
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 61
 caugaaggca cagccuguua cc 22

<210> 62
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 62
 uagcaggcau gucucauuc c 21

<210> 63
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 63
 cgcaccacua gucaccaggu gu 22

<210> 64
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus

<400> 64	
accuaguguu aguguugugc u	21
<210> 65	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Epstein Barr virus	
<400> 65	
gaccugaucg ugcuggugug cu	22
<210> 66	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Epstein Barr virus	
<400> 66	
caaggugaau auagcugccc aucg	24
<210> 67	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Epstein Barr virus	
<400> 67	
cggggaucgg acuagccuua ga	22
<210> 68	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Epstein Barr virus	
<400> 68	
uaagguuggu ccaauccaau gg	22
<210> 69	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Epstein Barr virus	
<400> 69	
caucauaguc caguguccag gg	22
<210> 70	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Epstein Barr virus

 <400> 70
 ccuggaccuu gacuaugaaa ca 22
 <210> 71
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 71
 uacgguuucc uagauuguac ag 22
 <210> 72
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 72
 gucacaauca auggggucgu aga 23
 <210> 73
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 73
 uaacacuca uggguccgu agu 23

 <210> 74
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 74
 uacuggacce ugaauuggaa ac 22
 <210> 75
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Epstein Barr virus
 <400> 75

uaaccugauc agccccggag uu	22
<210> 76	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Epstein Barr virus	
<400> 76	
uaucuuuugc ggcagaaau ga	22
<210> 77	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Epstein Barr virus	
<400> 77	
aaaucuguu gcagcagaua gc	22
<210> 78	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Epstein Barr virus	
<400> 78	
uaacgggaag uguguaagca ca	22
<210> 79	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Human cytomegalovirus	
<400> 79	
aagugacggu gagauccagg cu	22
<210> 80	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Human cytomegalovirus	
<400> 80	
ucguccucc cuucucacc g	21
<210> 81	
<211> 20	

<212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 81
 uaacuagccu ucccgugaga 20
 <210> 82
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 82
 ucaccagaau gcuaguuugu ag 22
 <210> 83
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 83
 ucguugaaga caccuggaaa ga 22
 <210> 84
 <211> 22
 <212> RNA
 <213>
 Human cytomegalovirus
 <400> 84
 uuuccaggug uuuucaacgu gc 22
 <210> 85
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 85
 ggggaugggc uggcgcgcgg 20
 <210> 86
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 86
 ugcgucucgg ccucguccag a 21

<210> 87
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 87
 aaccgcucag uggcucggac c 21

<210> 88
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 88
 uccgaacgcu aggucgguuc uc 22

<210> 89
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 89
 auccacuugg agagcucceg cgg 23

<210> 90
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 90
 agcggucugu ucagguggau ga 22

<210> 91
 <211> 20
 <212> RNA
 <213>
 Human cytomegalovirus
 <400> 91
 ucacgguccg agcacaucca 20

<210> 92
 <211> 22
 <212> RNA

<213> Human cytomegalovirus
 <400> 92
 gauugugccc ggaccguggg cg 22
 <210> 93
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 93
 cgacauggac gugcagggg au 22
 <210> 94
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 94
 ugacaagccu gacgagcg u 21

 <210> 95
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Human cytomegalovirus
 <400> 95
 uuaugauagg ugugacgaug uc 22
 <210> 96
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 96
 ugagguagua gguuguauag uu 22
 <210> 97
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 97
 cuauacauc uacugucuuu c 21
 <210> 98

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <
 400> 98
 ugagguagua gguugugugg uu 22
 <210> 99
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 99
 cuauacaacc uacugccuuc cc 22
 <210> 100
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 100
 ugagguagua gguuguaugg uu 22
 <210> 101
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 101
 uagaguuaca ccugggagu ua 22

 <210> 102
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 102
 agagguagua gguugcauag uu 22
 <210> 103
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 103
 cuauacgacc ugcugccuuu cu 22
 <210> 104
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 104
 ugagguagga gguuguauag uu 22
 <210> 105
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 105
 cuauacggcc uccuagcuuu cc 22
 <210> 106
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 106
 ugagguagua gauuguauag uu 22
 <210> 107
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 107
 cuauacauc uauugccuuc cc 22
 <210> 108
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 108
 cuauacaguc uacugucuuu cc 22
 <210> 109

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 109
 ugagguagua guuuguacag uu 22
 <210> 110
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 110
 cuguacaggc cacugccuug c 21
 <210> 111
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 111
 ugagguagua guuugugcug uu 22
 <210> 112
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 112
 cugcgcaagc uacugccuug cu 22
 <210> 113
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 113
 uggaauguaa agaaguaugu au 22
 <210> 114
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 114

aacccguaga uccgaacuug ug	22
<210> 115	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 115	
caagcuugua ucuauaggua ug	22
<210> 116	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 116	
uacaguacug ugauaacuga a	21
<210> 117	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 117	
caguuaucac agugcugaug cu	22
<210> 118	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 118	
agcagcauug uacagggcua uga	23
<210> 119	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 119	
ucauagcccu guacaugcu gcu	23
<210> 120	
<211> 23	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 120
 ucaaaugcuc agacuccugu ggu 23
 <210> 121
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 121
 acggauguu gagcauguc ua 22
 <210> 122
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 122
 aaaagugcuu acagucagg uag 23

 <210> 123
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 123
 cugcaaugua agcacuucuu ac 22
 <210> 124
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 124
 uaaagugcug acagucaga u 21
 <210> 125
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 125
 ccgcacugug gguacuugcu gc 22

<210> 126
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 126
 agcagcauug uacagggcua uca 23
 <210> 127
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 127
 uaccuguag aaccgaauu gug 23
 <210> 128
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 128
 caaaucgua ucuagggaa ua 22
 <210> 129
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 129
 uaccuguag aaccgaauu gug 23

 <210> 130
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 130
 acagauucga ucuagggga au 22
 <210> 131
 <211> 21
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 131
 uugcucacug uucuuccua g 21
 <210> 132
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 132
 aagcauucu ucauugguug g 21
 <210> 133
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 133
 uuuccggcuc gcguggugu gu 22
 <210> 134
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 134
 ccgucgccg cacccgagcc g 21
 <210> 135
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 135
 gagggucuug ggagggaugu gac 23
 <210> 136
 <211> 27
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 136
 cacuguaggu gauggugaga gugggca 27

<210> 137
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 137
 ccugcagcga cuugauggcu ucc 23
 <210> 138
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 138
 agaggauacc cuuuguaugu u 21
 <210> 139
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 139
 uaggacacau ggucuacuuc u 21
 <210> 140
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 140
 cuccugagcc auucugagcc uc 22
 <210> 141
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 141
 agccugauua aacacaugcu cuga 24
 <210> 142
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 142
 gugccagcug cagugggga g 21
 <210> 143
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 143
 cccggagcca ggaugcagcu c 21

 <210> 144
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 144
 ucguggccug guccauua u 21
 <210> 145
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 145
 ucugcaggu uugcuugag 20
 <210> 146
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 146
 uguucaugua gauguuaag c 21
 <210> 147
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 147
 ucagcuggcc cucuuuc 18
 <210> 148

<211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 148
 uggcaggag gcuggaggg g 21
 <210> 149
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 149
 ucacuguuca gacaggcgga 20
 <210> 150
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 150
 uggaguguga caaugguguu ug 22

 <210> 151
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 151
 aacgccauua ucacacuaaa ua 22
 <210> 152
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 152
 ccccaccucc ucucuccu g 21
 <210> 153
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 153

gugaggacuc gggaggugg	19
<210> 154	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 154	
ugagccccug ugccgcccc ag	22
<210> 155	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 155	
guggguacgg cccagugggg gg	22
<210> 156	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 156	
ucaccagccc uguguuccu ag	22
<210> 157	
<211> 26	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 157	
gugagggcgau gcaggccugg augggg	26
<210> 158	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 158	
cgugccacce uuuucccag	20
<210> 159	
<211> 20	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 159
 ucacaccugc cucgcccccc 20
 <210> 160
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 160
 gugggcgggg gcaggugugu g 21
 <210> 161
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 161
 cucucaccac ugccccucca cag 23
 <210> 162
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 162
 gugucugggc ggacagcugc 20
 <210> 163
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 163
 ugagcccugu ccucccgag 20
 <210> 164
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 164

ucggccugac cacccacccc ac	22
<210> 165	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 165	
ccucuucucc uugucucucc ag	22
<210> 166	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 166	
uccuucugcu ccguccecca g	21
<210> 167	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 167	
cuuccucguc ugucugcccc	20
<210> 168	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 168	
uaaggcacgc ggugaagcc	20
<210> 169	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 169	
cguguucaca gcggaccuug au	22
<210> 170	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 170
 aacuggauca auuauaggag ug 22
 <210> 171
 <211> 26
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 171
 aaguaguugg uuuguagag augguu 26

 <210> 172
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 172
 aagugaucua aaggccuaca u 21
 <210> 173
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 173
 aauggauuuu uggagcagg 19
 <210> 174
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 174
 acccgucccg uucgucccg ga 22
 <210> 175
 <211> 27
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 175

accuucuugu auaagcacug ugcuaaa	27
<210> 176	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 176	
acgcccucc ccccuucuu ca	22
<210> 177	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 177	
acggugcugg auguggccuu u	21
<210> 178	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 178	
acucuagcug ccaaaggcgc u	21
<210> 179	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 179	
agaaggaau ugaauucauu ua	22
<210> 180	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 180	
agagaagaag aucagccugc a	21
<210> 181	
<211> 24	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 181
 agccuggaag cuggagccug cagu 24
 <210> 182
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 182
 aggaugagca aagaaaguag auu 23
 <210> 183
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 183
 cggaugagca aagaaagugg uu 22
 <210> 184
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 184
 aggcaugac uucucacuag cu 22
 <210> 185
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 185
 agugaaugau gguucugac c 21

 <210> 186
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 186
 aguuaggauu aggucgugga a 21

<210> 187	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 187	
auauaugaug acuuagcuuu u	21
<210> 188	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 188	
acaggugagg uucuugggag cc	22
<210> 189	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 189	
uuccugagac ccuuuaccu guga	24
<210> 190	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 190	
uuccugagac ccuaacuugu ga	22
<210> 191	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 191	
acggguuagg cucuugggag cu	22
<210> 192	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	

<400> 192	
ucacaaguca ggcucuuggg ac	22
<210> 193	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 193	
ucguaccgug aguaauaug cg	22
<210> 194	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 194	
cauuauuacu uuugguacgc g	21
<210> 195	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 195	
aucccaccuc ugccacca	18
<210> 196	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 196	
auggauaagg cuuuggcuu	19
<210> 197	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 197	
augggugaau uuguagaagg au	22
<210> 198	

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 198
 augguacccu ggcauacuga gu 22
 <210> 199
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 199
 caagucuuau uugagcaccu guu 23

 <210> 200
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 200
 caggaugugg ucaaguguug uu 22
 <210> 201
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 201
 ccucagggcu guagaacagg gcu 23
 <210> 202
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 202
 ccuguugaag uguaaucccc a 21
 <210> 203
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>

> 203	
cgggcguggu gguggggg	18
<210> 204	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 204	
cuggacugag ccgugcuacu gg	22
<210> 205	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 205	
ucggauccgu cugagcuugg cu	22
<210> 206	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 206	
cugaagcuca gagggcucug au	22
<210> 207	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 207	
cuggagauau ggaagagcug ugu	23
<210> 208	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 208	
cuuggcaccu agcaagcacu ca	22
<210> 209	
<211> 26	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 209
 gaugaugaug gcagcaaaau cugaaa 26
 <210> 210
 <211> 25
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 210
 gggcgacaaa gcaagacucu uucuu 25
 <210> 211
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 211
 gucccuguuc aggcgcca 18
 <210> 212
 <211> 17
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 212
 ucccuguucg ggcgcca 17
 <210> 213
 <211> 17
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 213
 gugggggaga ggcuguc 17

 <210> 214
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 214

uaaagagccc uguggagaca	20
<210> 215	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 215	
uacguagaua uauauguauu uu	22
<210> 216	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 216	
uaguacugug cauaucaucu au	22
<210> 217	
<211> 17	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 217	
ucauauugcu ucuuucu	17
<210> 218	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 218	
ucacagugaa ccggucucu u	21
<210> 219	
<211> 17	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 219	
ucccaccgcu gccaccc	17
<210> 220	
<211> 17	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 220
 ucgccuccuc cucuccc 17

<210> 221
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 221
 ucguuugccu uuuucugcuu 20

<210> 222
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 222
 ucuacaaagg aaagcgcuu cu 22

<210> 223
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 223
 ucuauacaga cccuggcuu uc 22

<210> 224
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 224
 ucugggcaac aaagugagac cu 22

<210> 225
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 225
 ugcaggacca agaugagccc u 21

<210> 226	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 226	
ugcuggauca gugguucgag uc	22
<210> 227	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 227	
uggacugccc ugaucuggag a	21
<210> 228	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 228	
uggaguccag gaucugcau uuu	23
<210> 229	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 229	
aagcccuac ccaaaaagu au	22
<210> 230	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 230	
aagcccuac ccaaaaagc au	22
<210> 231	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	

<400
> 231
cuuuuugcgg ucugggcuug c 21
<210> 232
<211> 19
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 232
uggauuuuug gaucaggga 19
<210> 233
<211> 24
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 233
uggcccugac ugaagaccag cagu 24
<210> 234
<211> 25
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 234
ugggaacggg uuccggcaga cgcug 25
<210> 235
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 235
uggguggucu ggagauuugu gc 22
<210> 236
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 236
ugugagguug gc auuguu cu 22
<210> 237

<211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 237
 uuaggccgca gaucugggug a 21
 <210> 238
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 238
 uuagggcccu ggcuccaucu cc 22
 <210> 239
 <211> 17
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 239
 uucaaguaau ucaggug 17
 <210> 240
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 240
 uucauucggc uguccagaug ua 22
 <210> 241
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 241
 uucuggaauu cugugagagg ga 22

 <210> 242
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 242	
uugagaagga ggcugcug	18
<210> 243	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 243	
uugcagcugc cugggaguga cuuc	24
<210> 244	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 244	
uugggacaua cuuaugcuaa a	21
<210> 245	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 245	
uuuagagacg gggucuugcu cu	22
<210> 246	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 246	
uuugaggcua cagugagaug ug	22
<210> 247	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 247	
uuuucacuc uaaugggaga ga	22
<210> 248	
<211> 18	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 248
 acguuggcuc ugguggug 18

<210> 249
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 249
 acucggcgug gcgucggucg ug 22

<210> 250
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 250
 gcaugggugg uucagugg 18

<210> 251
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 251
 cagugcaaug uaaaaaggc au 22

<210> 252
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 252
 > 252
 uucacauugu gcuacugucu gc 22

<210> 253
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 253

cagugcaaug augaaagggc au	22
<210> 254	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 254	
acucuuccc uguugcacua c	21
<210> 255	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 255	
uaacagucua cagccauggu cg	22
<210> 256	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 256	
accguggcuu ucgauuguua cu	22
<210> 257	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 257	
cagggaggug aaugugau	18
<210> 258	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 258	
gaugaugcug cugaugcug	19
<210> 259	
<211> 22	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400>
 > 259
 ucaaaacuga ggggcacuuu cu 22
 <210> 260
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 260
 ccagacagaa uucuaugcac uuuc 24
 <210> 261
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 261
 uuuggucucc uucaaccagc ug 22
 <210> 262
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 262
 uuuggucucc uucaaccagc ua 22
 <210> 263
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 263
 ugugacuggu ugaccagagg gg 22
 <210> 264
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 264
 uauggcuuuu uauuccuaug uga 23

<210> 265
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 265
 uauagggauu ggagccgugg cg 22
 <210> 266
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 266
 uauggcuuuu cauuccaug uga 23
 <210> 267
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 267
 auguagggcu aaaagccaug gg 22
 <210> 268
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 268
 acuccauuug uuuugaugau gga 23
 <210> 269
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 269
 caucaucguc ucaaagagu cu 22
 <210> 270
 <211> 23
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 270
 uuauugcuua agaauacgcg uag 23
 <210> 271
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 271
 agcugguguu gugaaucagg ccg 23
 <210> 272
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 272
 gcuacuucac aacaccaggg cc 22
 <210> 273
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 273
 gcuauuucac gacaccaggg uu 22
 <210> 274
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 274
 ggagacgcfg cccuguugga gu 22
 <210> 275
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 275
 ucuacagugc acgugucucc ag 22
 <210> 276

<211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 276
 uaccacaggg uagaaccacg g 21

<210> 277
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 277
 cagugguuuu acccuauuggu ag 22

<210> 278
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 278
 uaacacuguc ugguaaagau gg 22

<210> 279
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 279
 caucuuccag uacaguguug ga 22

<210> 280
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 280
 uguaguuuu ccuacuuuau gga 23

<210> 281
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 281	
cauaaaguag aaagcacuac u	21
<210> 282	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 282	
ugagaugaag cacuguagcu c	21
<210> 283	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 283	
ggugcagugc ugcaucucug gu	22
<210> 284	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 284	
uacaguauag augauguacu	20
<210> 285	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 285	
ggauaucauc auauacugua ag	22
<210> 286	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 286	
guccaguuuu cccaggauc ccu	23
<210> 287	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 287
 ggauuccugg aaauacuguu cu 22
 <210> 288
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 288
 cuccguuugc cuguuucgcu g 21
 <210> 289
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 289
 cucggcgcgg ggcgcgggcu cc 22
 <210> 290
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 290
 ugagaacuga auuccauggg uu 22

 <210> 291
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 291
 ccucugaaau ucaguucuc ag 22
 <210> 292
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 292

ugcccugugg acucaguucu gg	22
<210> 293	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 293	
ugagaacuga auuccauagg cu	22
<210> 294	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 294	
guguguggaa augcuucugc	20
<210> 295	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 295	
gcccucggcc cgugcacccc g	21
<210> 296	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 296	
gcccgcgugu ggagccaggu gu	22
<210> 297	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 297	
gugugcgaa augcuucugc ua	22
<210> 298	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 298
 ucagugcacu acagaacuuu gu 22
 <210> 299
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 299
 aaaguucuga gacacuccga cu 22
 <210> 300
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 300
 ucagugcauc acagaacuuu gu 22
 <210> 301
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 301
 aaguucuguu auacacucag gc 22
 <210> 302
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 302
 ucuggcuccg ugucuucacu ccc 23
 <210> 303
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 303
 agggaggac gggggcugug c 21

<210> 304
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 304
 ucucccaacc cuuguaccag ug 22

 <210> 305
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 305
 cugguacagg ccugggggac ag 22

 <210> 306
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 306
 cuagacugaa gcuccuugag g 21

 <210> 307
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 307
 ucgaggagcu cacagucuag u 21

 <210> 308
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 308
 ucagugcaug acagaacuug g 21

 <210> 309
 <211> 22
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 309
 uugcauaguc acaaaaguga uc 22
 <210> 310
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 310
 aaaaccgucu aguuacaguu gu 22
 <210> 311
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 311
 cggcccgggc ugcugcuguu ccu 23

 <210> 312
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 312
 uccugcgcgu cccagaugcc c 21
 <210> 313
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 313
 uagguuaacc guguugccuu cg 22
 <210> 314
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 314
 aaucauacac gguugaccua uu 22
 <210> 315

<211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 315
 uuaaugcuaa ucgugauagg ggu 23
 <210> 316
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 316
 cuccuacaua uuagcauuua ca 22
 <210> 317
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 317
 uagcagcaca uaaugguuug ug 22
 <210> 318
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 318
 caggccauau ugucugccu ca 22

 <210> 319
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 319
 uagcagcaca ucaugguuuu ca 22
 <210> 320
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 320
cgaaucauua uuugcugcuc ua 22
<210> 321
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 321
uagcagcacg uaaauauugg cg 22
<210> 322
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400>
> 322
ccaguauuaa cugugcugcu ga 22
<210> 323
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 323
ccaauauaac ugugcugcuu ua 22
<210> 324
<211> 23
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 324
caaagugcuu acagucagg uag 23
<210> 325
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 325
acugcaguga aggcacuugu ag 22
<210> 326

<211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 326
 aacauucaac gcugucggug agu 23
 <210> 327
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 327
 accaucgacc guugauugua cc 22
 <210> 328
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 328
 accacugacc guugacugua cc 22
 <210> 329
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 329
 aacauucauu gcugucggug ggu 23
 <210> 330
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 330
 aacauucaac cugucgguga gu 22
 <210> 331
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 331

aaccaucgac cguugagugg ac	22
<210> 332	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 332	
aacaucauu guugucggug ggu	23
<210> 333	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 333	
uuuggcaaug guagaacuca cacu	24
<210> 334	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 334	
ugguucuaga cuugccaacu a	21
<210> 335	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 335	
uccagugccc uccucucc	18
<210> 336	
<211> 27	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 336	
auugaucauc gacacuucga acgcaau	27
<210> 337	
<211> 18	

<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 337	
ugaggcagua gauugaau	18
<210> 338	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 338	
uauggcacug guagaauuca cu	22
<210> 339	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 339	
gugaauuacc gaaggccau aa	22
<210> 340	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 340	
uggacggaga acugauaagg gu	22
<210> 341	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 341	
uggagagaaa ggcaguuccu ga	22
<210> 342	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 342	
aggggcuggc uuuccucugg uc	22

<210> 343
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 343
 caaagaauc uccuuuuggg cu 22
 <210> 344
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 344
 gcccaaaggu gaauuuuug gg 22
 <210> 345
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 345
 ucgugucuug uguugcagcc gg 22
 <210> 346
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 346
 ggcuaaca caggaccgg gc 22

 <210> 347
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 347
 cuccacaug cagguuugc a 21
 <210> 348
 <211> 21
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 348
 caucccuugc augguggagg g 21
 <210> 349
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 349
 uaaggugcau cuagugcaga uag 23
 <210> 350
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 350
 acugcccuuaa gugcuccuuc ugg 23
 <210> 351
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 351
 uaaggugcau cuagugcagu uag 23
 <210> 352
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 352
 ugcccuaaa gcccucucug gc 22
 <210> 353
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 353
 ugauauguuu gauauuuag gu 22

<210> 354
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 354
 cggcggggac ggcgauuggu c 21
 <210> 355
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 355
 cgcaggggcc gggugcucac cg 22
 <210> 356
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 356
 ugagugccgg ugccugcccu g 21
 <210> 357
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 357
 ugauauguuu gauauugggu u 21
 <210> 358
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 358
 caacggauc caaaagcag cug 23
 <210> 359
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 359
 gcugcgcuuug gauuucgucc cc 22
 <210> 360
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 360
 ccaguccugu gccugccgcc u 21

 <210> 361
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 361
 ugaguaccgc caugucuguu ggg 23
 <210> 362
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 362
 caccaggcau ugugucucc 20
 <210> 363
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 363
 uaccagagc augcagugug aa 22
 <210> 364
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 364
 ucugccccc cgcugcugc ca 22
 <210> 365

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 365
 cccugugccc gcccacuuc ug 22
 <210> 366
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 366
 ggaggggucc cgcacuggga gg 22
 <210> 367
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 367
 ccccagggcg acgcggcggg 20

 <210> 368
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 368
 accuugccuu gcugcccggg cc 22
 <210> 369
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 369
 cugaccuaug aaugacagc c 21
 <210> 370
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 370

cugccaaauuc cauaggucac ag 22

<210> 371

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400>

> 371

aacuggccua caaaguccca gu 22

<210> 372

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 372

ugggucuuug cgggcgagau ga 22

<210> 373

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 373

aacuggcccu caaagucccg cu 22

<210> 374

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 374

cgggguuuug agggcgagau ga 22

<210> 375

<211> 22

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 375

uguaacagca acuccaugug ga 22

<210> 376

<211> 22

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 376
 ccaguggggc ugcuguuauug ug 22
 <210> 377
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 377
 uagcagcaca gaaauuugg c 21
 <210> 378
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 378
 ccaauuugg cugugcugcu cc 22
 <210> 379
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 379
 uagguaguuu cauguuguug gg 22
 <210> 380
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 380
 cggcaacaag aaacugccug ag 22
 <210> 381
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 381

uagguaguuu ccuguuguug gg	22
<210> 382	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 382	
uucaccaccu ucuccaccca gc	22
<210> 383	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 383	
gguccagagg ggagauaggu uc	22
<210> 384	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 384	
cccaguguuc agacuaccug uuc	23
<210> 385	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 385	
acaguagucu gcacauuggu ua	22
<210> 386	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 386	
cccaguuuu agacuaucug uuc	23
<210> 387	
<211> 23	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 387
 ugugcaaauc uaugcaaaac uga 23
 <210> 388
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 388
 aguuuugcau aguugcacua ca 22

 <210> 389
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 389
 ugugcaaauc caugcaaaac uga 23
 <210> 390
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 390
 aguuuugcag guuugcaucc agc 23
 <210> 391
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 391
 aguuuugcag guuugcauuu ca 22
 <210> 392
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 392

uaacacuguc ugguaacgau gu	22
<210> 393	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 393	
caucuuaccg gacagugcug ga	22
<210> 394	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 394	
uaauacugcc ugguaaugau ga	22
<210> 395	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 395	
caucuuacug ggcagcauug ga	22
<210> 396	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 396	
uaauacugcc ggguaaugau gga	23
<210> 397	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 397	
cgucuuacc agcaguguuu gg	22
<210> 398	
<211> 20	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 398
 agagguauag ggcaugggaa 20
 <210> 399
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 399
 uuccuaugca uauacuucuu ug 22
 <210> 400
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 400
 gugaaauguu uaggaccacu ag 22
 <210> 401
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 401
 uucccuuugu cauccaugc cu 22
 <210> 402
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 402
 uccuucauc caccggaguc ug 22

 <210> 403
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 403
 uggaauguaa ggaagugugu gg 22

<210> 404
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 404
 auaagacgag caaaaagcuu gu 22
 <210> 405
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 405
 auaagacgaa caaaagguuu gu 22
 <210> 406
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 406
 uaaagugcuu auagucagg uag 23
 <210> 407
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 407
 acugcauuau gagcacuuaa ag 22
 <210> 408
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 408
 caaagucuc auagucagg uag 23
 <210> 409
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 409
 acuguaguau gggcacuucc ag 22

<210> 410
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 410
 uagcuuauca gacugauguu ga 22

<210> 411
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 411
 caacaccagu cgaugggcug u 21

<210> 412
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 412
 cugugcgugu gacagcggu ga 22

<210> 413
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 413
 uucccuugu cauccuucgc cu 22

<210> 414
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 414
 uaacaguc cagucacggc c 21

<210> 415

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 415
 acagcaggca cagacaggca gu 22
 <210> 416
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 416
 ugccugucua cacuugcugu gc 22

 <210> 417
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 417
 augaccuaug aaugacaga c 21
 <210> 418
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 418
 uaaucucagc uggcaacugu ga 22
 <210> 419
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 419
 aaaucucugc aggcaaaugu ga 22
 <210> 420
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>

> 420	
uacugcauca ggaacugauu gga	23
<210> 421	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 421	
uugugcuuga ucuaaccaug u	21
<210> 422	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 422	
augguuccgu caagcaccou gg	22
<210> 423	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 423	
caugguucug ucaagcaccg cg	22
<210> 424	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 424	
agaguugagu cuggacgucc cg	22
<210> 425	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 425	
agaauugugg cuggacacu gu	22
<210> 426	
<211> 21	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 426
 ugauugucca aacgcaauuc u 21
 <210> 427
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 427
 aagcugccag uugaagaacu gu 22
 <210> 428
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 428
 aguucuucag uggcaagcuu ua 22
 <210> 429
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 429
 ccacaccgua ucugacacuu u 21
 <210> 430
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 430
 ccaccaccgu gucugacacu u 21
 <210> 431
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 431

acacagggcu guugugaaga cu	22
<210> 432	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 432	
agcuacauug ucugcugggu uuc	23
<210> 433	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 433	
accuggcaua caauguagau uu	22
<210> 434	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 434	
agcuacaucu ggcucuggg u	21
<210> 435	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 435	
cucaguagcc aguguagauc cu	22
<210> 436	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 436	
ugucaguuuug ucaaaauacc ca	22
<210> 437	
<211> 22	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 437
 cguguauuug acaagcugag uu 22

<210> 438
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 438
 caagucacua gugguuccgu u 21

<210> 439
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 439
 aucacauugc cagggauuuc c 21

<210> 440
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 440
 gggguuccug gggauuggau uu 22

<210> 441
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 441
 aucacauugc cagggauuac c 21

<210> 442
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 442
 uggguuccug gcaugcugau uu 22

<210> 443
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 443
 uggcucaguu cagcaggaac ag 22
 <210> 444
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 444
 ugccuacuga gcugauauca gu 22

 <210> 445
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 445
 ugccuacuga gcugaaacac ag 22
 <210> 446
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 446
 caugcacuu gucucggucu ga 22
 <210> 447
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 447
 aggcggagac uugggcaauu g 21
 <210> 448
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400
> 448
uucaaguaau ccaggauagg cu 22
<210> 449
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 449
ccuauucuug guuacuugca cg 22
<210> 450
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 450
ccuauucuug auuacuuguu uc 22
<210> 451
<211> 21
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 451
uucaaguaau ucaggauagg u 21
<210> 452
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 452
ccuguucucc auuacuuggc uc 22
<210> 453
<211> 21
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 453
uucacagugg cuaaguuccg c 21
<210> 454

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 454
 agggcuuagc ugcuuugag ca 22
 <210> 455
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 455
 uucacagugg cuaaguucug c 21
 <210> 456
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 456
 agagcuuagc ugauugguga ac 22
 <210> 457
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 457
 cacuagauug ugagcuccug ga 22
 <210> 458
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 458
 aaggagcuca cagucuauug ag 22

 <210> 459
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 459	
gagggguuggg uggaggcucu cc	22
<210> 460	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 460	
aggcccccc cucaaucug u	21
<210> 461	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 461	
auguaugugu gcaugugcau g	21
<210> 462	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 462	
agcagaagca gggagguucu ccca	24
<210> 463	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 463	
uaugugggau gguaaacgc uu	22
<210> 464	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 464	
ugguuuaccg ucccacauac au	22
<210> 465	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 465
 uagcaccauc ugaaaucggu ua 22

 <210> 466
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 466
 acugauuucu uuugguguuc ag 22

 <210> 467
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 467
 uagcaccauu ugaaaucagu guu 23

 <210> 468
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 468
 gcugguuucac uauggugguu uaga 24

 <210> 469
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 469
 cugguuucac auggugcguu ag 22

 <210> 470
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 470

uagcaccauu ugaaaucggu ua	22
<210> 471	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 471	
ugaccgauuu cuccuggugu uc	22
<210> 472	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 472	
uauacaaggg cagacucucu cu	22
<210> 473	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 473	
cagugcaaua guauugucaa agc	23
<210> 474	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 474	
cagugcaaug auauugucaa agc	23
<210> 475	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 475	
uaagugcuuc cauguuuugg uga	23
<210> 476	
<211> 23	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400>
 > 476
 acuuaaacgu ggauguacuu gcu 23
 <210> 477
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 477
 uaagugcuuc cauguuuuag uag 23
 <210> 478
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 478
 acuuuaacau ggaagugcuu uc 22
 <210> 479
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 479
 uaagugcuuc cauguuucag ugg 23

 <210> 480
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 480
 uuuuacaugg gguuaccugc ug 22
 <210> 481
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 481
 uaagugcuuc cauguuugag ugu 23

<210> 482
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 482
 acuuuaacau ggaggcacuu gc 22
 <210> 483
 <211> 17
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 483
 uaagugcuuc caugcuu 17
 <210> 484
 <211> 17
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 484
 uaaauugcuuc cauguuu 17
 <210> 485
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 485
 uguaaacauc cucgacugga ag 22
 <210> 486
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 486
 cuuucagucg gauguuugca gc 22
 <210> 487
 <211> 22
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 487
 uguaaacauc cuacacucag cu 22
 <210> 488
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 488
 cugggaggug gauguuuacu uc 22
 <210> 489
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 489
 uguaaacauc cuacacucuc agc 23
 <210> 490
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 490
 cugggagagg guuguuuacu cc 22
 <210> 491
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 491
 cugggagaag gcuguuuacu cu 22
 <210> 492
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 492
 uguaaacauc cccgacugga ag 22
 <210> 493

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 493
 cuuucaguca gauguuugcu gc 22

<210> 494
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 494
 uguaaacauc cuugacugga ag 22

<210> 495
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 495
 cuuucagucg gauguuuaca gc 22

<210> 496
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 496
 aggcaagaug cuggcauagc u 21

<210> 497
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 497
 ugcuaugcca acauauugcc au 22

<210> 498
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 498	
uauugcacau uacuaaguug ca	22
<210> 499	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 499	
caauuuagug ugugugauau uu	22
<210> 500	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 500	
aaaagcuggg uugagagggc ga	22
<210> 501	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 501	
aaaagcuggg uugagagggc aa	22
<210> 502	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 502	
aaaagcuggg uugagagggg	20
<210> 503	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 503	
aaaagcuggg uugagagga	19
<210> 504	
<211> 21	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 504
 cacauuacac ggucgaccuc u 21
 <210> 505
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 505
 aggguguccg uggcgcguuc gc 22
 <210> 506
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 506
 acugccccag gugcugcugg 20
 <210> 507
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 507
 cgcauccccu agggcauugg ugu 23
 <210> 508
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 508
 ccuaguaggu guccaguaag ugu 23
 <210> 509
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 509

ccucugggcc cuuccuccag	20
<210> 510	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 510	
cuggccucucu cugcccuucc gu	22
<210> 511	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 511	
aacacaccug guuaaccucu uu	22
<210> 512	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 512	
gcaaagcaca cggccugcag aga	23
<210> 513	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 513	
ucucugggcc ugugucuuaag gc	22
<210> 514	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 514	
gccccugggc cuauccuaga a	21
<210> 515	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 515
 cuagguauagg ucccagggau cc 22
 <210> 516
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 516
 ucaagagcaa uaacgaaaaa ugu 23
 <210> 517
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 517
 uuuuucauaa uugcuccuga cc 22
 <210> 518
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 518
 cuccuauaug augccuuucu uc 22
 <210> 519
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 519
 gaacggcuuc auacaggagu u 21
 <210> 520
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 520
 uccagcauca gugauuuugu ug 22

<210> 521
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 521
 aacaauaucc uggugcugag ug 22

 <210> 522
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 522
 ugagcgccuc gacgacagag ccg 23

 <210> 523
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 523
 ucccuguccu ccaggagcuc acg 23

 <210> 524
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 524
 gugcauugua guugcauugc a 21

 <210> 525
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 525
 caauguuucc acagugcauc ac 22

 <210> 526
 <211> 20
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 526
 gugcauugcu guugcauugc 20
 <210> 527
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 527
 cagugccucg gcagugcagc cc 22
 <210> 528
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 528
 uuauaaagca augagacuga uu 22

 <210> 529
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 529
 uccgucucag uuacuuuaua gc 22
 <210> 530
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 530
 ucucacacag aaaucgcacc cgu 23
 <210> 531
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 531
 aggggugcua ucugugauug a 21
 <210> 532

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 532
 gcugacuccu aguccagggc uc 22
 <210> 533
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 533
 ugucugcccg caugccugcc ucu 23
 <210> 534
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 534
 uggcaguguc uuagcugguu gu 22
 <210> 535
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 535
 caaucagcaa guauacugcc cu 22
 <210> 536
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 536
 caaucacuaa cuccacugcc au 22
 <210> 537
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 537	
uaggcagugu cauuagcuga uug	23
<210> 538	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 538	
aaucacuaac cacacggcca gg	22
<210> 539	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 539	
aggcagugua guuagcugau ugc	23
<210> 540	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 540	
ucccccaggu gugauucuga uuu	23
<210> 541	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 541	
uuaucagaau cuccaggggu ac	22
<210> 542	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 542	
aacacaccua uucaaggauu ca	22
<210> 543	

<211> 24
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 543
 aaucuuugga accuaggugu gagu 24
 <210> 544
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 544
 aauugcacgg uauccaucug ua 22
 <210> 545
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 545
 cggguggauc acgaugcaau uu 22
 <210> 546
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 546
 uaaugcccu aaaaauccuu au 22
 <210> 547
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 547
 aauugcacuu uagcaauggu ga 22
 <210> 548
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 548

acuguugcua auaugcaacu cu	22
<210> 549	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 549	
aauaaauacau gguugaucuu u	21
<210> 550	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 550	
agaucgaccg uguuauauuc gc	22
<210> 551	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 551	
gccugcuggg guggaaccug gu	22
<210> 552	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 552	
aagugccgcc aucuuuugag ugu	23
<210> 553	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 553	
acucaaacug ugsgggcacu	20
<210> 554	
<211> 23	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 554
 aaagugcugc gacauuugag cgu 23
 <210> 555
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 555
 gaagugcuuc gauuuugggg ugu 23
 <210> 556
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 556
 acucaaaug ggggcgcuu cc 22

 <210> 557
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 557
 uuauauaca accugauaag ug 22
 <210> 558
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 558
 cuuauacagau uguauuguuaa uu 22
 <210> 559
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 559
 auauauaca accugcuaag ug 22

<210> 560
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 560
 cuuagcaggu uguauuauca uu 22
 <210> 561
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 561
 uuuguucguu cggcucgcgu ga 22
 <210> 562
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 562
 aucauagagg aaaauccacg u 21
 <210> 563
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 563
 guagauucuc cuucuaugag ua 22

 <210> 564
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 564
 aucauagagg aaaauccaug uu 22
 <210> 565
 <211> 21
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 565
 aacauagagg aaauccacg u 21
 <210> 566
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 566
 aucacacaaa ggcaacuuuu gu 22
 <210> 567
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 567
 agagguugcc cuuggugaau uc 22
 <210> 568
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 568
 acuggacuug gagucagaag g 21
 <210> 569
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 569
 cuccugacuc cagguccugu gu 22
 <210> 570
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 570
 ugguagacua uggaacguag g 21

<210> 571
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 571
 uauguaacau gguccacuaa cu 22
 <210> 572
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 572
 uauguaauu gguccacauc uu 22
 <210> 573
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 573
 ugguugacca uagaacaugc gc 22
 <210> 574
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 574
 uauacaaggg caagcucucu gu 22
 <210> 575
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 575
 gaaguuguuc gugguggauu cg 22
 <210> 576
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 576	
agaucagaag gugauugugg cu	22
<210> 577	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 577	
auuccuagaa auuguucaua	20
<210> 578	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 578	
gaauguugcu cggugaaccc cu	22
<210> 579	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 579	
agguuacccg agcaacuuug cau	23
<210> 580	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 580	
aaauaaacac agauggccug u	21
<210> 581	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 581	
uaguagaccg uauagcguac g	21
<210> 582	

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 582
 uauguaacac gguccacuaa cc 22
 <210> 583
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 583
 acuucaccug guccacuagc cgu 23
 <210> 584
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 584
 aucaacagac auuauuggg cgc 23

 <210> 585
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 585
 acuggacuua gggucagaag gc 22
 <210> 586
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 586
 agcucggucu gaggccccuc agu 23
 <210> 587
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 587

ugaggggcag agagcgagac uuu 23
 <210> 588
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 588

cagcagcaau ucauguuuug aa 22
 <210> 589
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 589

caaaacguga ggcgcugcua u 21
 <210> 590
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 590

aaugacacga ucacucccg uga 23
 <210> 591
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 591

aucgggaaug ucguguccgc cc 22
 <210> 592
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 592

uaauacuguc ugguaaaacc gu 22
 <210> 593
 <211> 21

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 593
 ugucuugcag gccgucaugc a 21
 <210> 594
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 594
 caggucgucu ugcaggcguu cu 22
 <210> 595
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 595
 ucuuggagua ggucauuggg ugg 23
 <210> 596
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 596
 cuggauggcu ccuccauguc u 21
 <210> 597
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 597
 aucaugaugg gcuccucggu gu 22
 <210> 598
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 598

uugcauaugu aggauguccc au	22
<210> 599	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 599	
uggcagugua uuguuagcug gu	22
<210> 600	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 600	
aggcagugua uuguuagcug gc	22
<210> 601	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 601	
uuuugcgaug uguuccuaau au	22
<210> 602	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 602	
uugggaucan uuugcaucca ua	22
<210> 603	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 603	
uuuugcaua uguuccugaa ua	22
<210> 604	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 604
 aaaccguuac cauuacugag uu 22
 <210> 605
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 605
 aacuguuugc agaggaaacu ga 22

 <210> 606
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 606
 cucaucugca aagaaguaag ug 22
 <210> 607
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 607
 agguuguccg uggugaguuc gca 23
 <210> 608
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 608
 uagugcaaua uugcuuauag ggu 23
 <210> 609
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 609

accuaucaa uauugucucu gc	22
<210> 610	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 610	
gcaguccaug ggcauuaca c	21
<210> 611	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 611	
uauugccuu uggacuacau cg	22
<210> 612	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 612	
ucacuccucu ccuccgucu u	21
<210> 613	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 613	
aagacgggag gaaagaagg ag	22
<210> 614	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 614	
ucaggcucag uccccuccg au	22
<210> 615	
<211> 22	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 615
 gucauacacg gcucuccucu cu 22
 <210> 616
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 616
 agaggcuggc cgugaugaau uc 22
 <210> 617
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 617
 cggggcagcu caguacagga u 21
 <210> 618
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 618
 uccuguacug agcugccccg ag 22
 <210> 619
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 619
 aaucguacag ggacauccag uu 22
 <210> 620
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 620
 aaucguacag ggacauccac uu 22

<210> 621
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 621
 uugaaaggcu auuucuuggu c 21
 <210> 622
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 622
 cccagauaau ggcacucuca a 21
 <210> 623
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 623
 gugacaucac auauacggca gc 22
 <210> 624
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 624
 caaccuggag gacuccaugc ug 22
 <210> 625
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 625
 ccauggaucu ccagguggu 20
 <210> 626
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 626	
cuaaugcaag auucccuucu ac	22
<210> 627	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 627	
aguggggaac ccuuccauga gg	22
<210> 628	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 628	
aggaccugcg ggacaagauu cuu	23
<210> 629	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 629	
ugaaggucua cugugugcca gg	22
<210> 630	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 630	
uuguacaugg uaggcuuua uu	22
<210> 631	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 631	
ugaaacauac acgggaaacc uc	22
<210> 632	

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 632
 aaacaacau ggugcacuuc uu 22
 <210> 633
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 633
 ugaguauuac auggccauc uc 22

 <210> 634
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 634
 cagcagcaca cugugguuug u 21
 <210> 635
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 635
 caaacacac ugugguuua ga 22
 <210> 636
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 636
 uuucaagcca gggggcguu uuc 23
 <210> 637
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>

> 637	
aaucaucacag caagucugug cu	22
<210> 638	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 638	
uuuagacuug cagugauguu u	21
<210> 639	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 639	
uaauccuugc uaccugggug aga	23
<210> 640	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 640	
augcaccugg gcaaggauuc ug	22
<210> 641	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 641	
aaugcacccg ggcaaggauu cu	22
<210> 642	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 642	
aaucuuugu cccuggguga ga	22
<210> 643	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 643
 aaugcaccug ggcaaggauu ca 22
 <210> 644
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 644
 auccuugcua ucugggugcu a 21
 <210> 645
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 645
 uagcagcggg aacaguucug cag 23
 <210> 646
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 646
 agaccuggu cugcacucua uc 22
 <210> 647
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 647
 cgucaacacu ugcugguuuc cu 22

 <210> 648
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 648

gggagccagg aaguauugau gu	22
<210> 649	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 649	
uaaggcaccc uucugaguag a	21
<210> 650	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 650	
uuuugcaccu uuuggaguga a	21
<210> 651	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 651	
ugauuguagc cuuuuggagu aga	23
<210> 652	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 652	
uacuccagag ggcgucacuc aug	23
<210> 653	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 653	
uacugcagac guggcaauca ug	22
<210> 654	
<211> 22	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 654
 ugauugguac gucuguggu ag 22

<210> 655
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 655
 uacugcagac aguggcaauc a 21

<210> 656
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 656
 uacucaggag aguggcaauc ac 22

<210> 657
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 657
 gugucuuug cucugcaguc a 21

<210> 658
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 658
 aagucguc auagcugagg uc 22

<210> 659
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 659
 cacucagccu ugaggcacu uuc 23

<210> 660	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 660	
uaaaauucac cuuucugaga agg	23
<210> 661	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 661	
uucacagga ggugucau	18
<210> 662	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 662	
uucacaagga ggugucuuu au	22
<210> 663	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 663	
uucucaagga ggugucguu au	22
<210> 664	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 664	
auugacacuu cugugaguag a	21
<210> 665	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	

<400
 > 665
 gagugccuuc uuuuggagcg uu 22
 <210> 666
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 666
 uucuccaaaa gaaagcacuu ucug 24
 <210> 667
 <211> 18
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 667
 ugcuuuccuuu cagagggg 18
 <210> 668
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 668
 uucucgagga aagaagcacu uuc 23
 <210> 669
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 669
 aucuggaggu aagaagcacu uu 22
 <210> 670
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 670
 ccucuagaug gaagcacugu cu 22
 <210> 671

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 671
 aucgugcauc ccuuuagagu gu 22
 <210> 672
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 672
 ucgugcaucc cuuuagagug uu 22
 <210> 673
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 673
 aucgugcauc cuuuuagagu gu 22
 <210> 674
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 674
 gaaagcgcuu cccuuugcug ga 22
 <210> 675
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 675
 caaagcguc cccuuuagag gu 22

 <210> 676
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 676	
caaagcgcuu cucuuuagag ugu	23
<210> 677	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 677	
ucucuggagg gaagcacuuu cug	23
<210> 678	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 678	
caaagcgcuu cccuuuggag c	21
<210> 679	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 679	
cucuagaggg aagcacuuuc ug	22
<210> 680	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 680	
aaagcgcuuc ccuucagagu g	21
<210> 681	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 681	
gaaagcgcuu cucuuuagag g	21
<210> 682	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 682
 cucuagaggg aagcacuuuc uc 22

<210> 683
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 683
 aaagugcauc cuuuuagagu gu 22

<210> 684
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 684
 cucuagaggg aagcgcuuuc ug 22

<210> 685
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 685
 aaagugcauc cuuuuagagg uu 22

<210> 686
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 686
 aaagugcauc uuuuuagagg au 22

<210> 687
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 687

caaagugccu cccuuuagag ug	22
<210> 688	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 688	
aagugccucc uuuuagagug uu	22
<210> 689	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 689	
uucuccaaaa gggagcacuu uc	22
<210> 690	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 690	
aaagugcuuc ccuuuggacu gu	22
<210> 691	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 691	
cuccagaggg aaguacuuuc u	21
<210> 692	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 692	
aaagugcuuc cuuuuagagg g	21
<210> 693	
<211> 22	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400>
 > 693
 aaagugcuuc cuuuuagagg gu 22
 <210> 694
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 694
 aaagugcuuc ucuuuggugg gu 22
 <210> 695
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 695
 cuacaaaggg aagcccuuc 20
 <210> 696
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 696
 aaagugcuuc cuuuuagagg g 21

 <210> 697
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 697
 aagugcuucc uuuuagaggg uu 22
 <210> 698
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 698
 acaaagugcu uccuuuaga gugu 24

<210> 699
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 699
 acaaagugcu uccuuuaga gu 22
 <210> 700
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 700
 aacgcacuuc ccuuuagagu gu 22
 <210> 701
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 701
 aaaaugguuc ccuuuagagu gu 22
 <210> 702
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 702
 gaacgcgcuu ccuauagag ggu 23
 <210> 703
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 703
 gaaggcgcuu ccuuuggag u 21

 <210> 704
 <211> 22
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 704
 cuacaaaggg aagcacuuuc uc 22
 <210> 705
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 705
 gaaggcgcuu ccuuuagag cg 22
 <210> 706
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 706
 cuccagaggg augcacuuuc u 21
 <210> 707
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 707
 cucuugaggg aagcacuuuc ugu 23
 <210> 708
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 708
 gaaagugcuu ccuuuagag gc 22
 <210> 709
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 709
 cugcaaaggg aagccuuuc 20
 <210> 710

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 710
 ccucccacac ccaagguug ca 22

<210> 711
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 711
 caugccuuga guguaggacc gu 22

<210> 712
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 712
 ggagaaauua uccuuggugu gu 22

<210> 713
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 713
 uggugggcac agaaucugga cu 22

<210> 714
 <211> 25
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 714
 aaaggauucu gcugcgguc ccacu 25

<210> 715
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 721
 caaacuggc aauuacuuuu gc 22
 <210> 722
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 722
 aaaaguaauu gcgaguuuuu cc 22
 <210> 723
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 723
 caagaaccuc aguugcuuuu gu 22
 <210> 724
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 724
 aaaaguaauu gugguuuugg cc 22
 <210> 725
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 725
 caaaaaucuc aauuacuuuu gc 22
 <210> 726
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 726

aaaaguaauu gcgguuuuug cc 22
 <210> 727
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 727
 caaaaaccac aguuuuuuu gc 22
 <210> 728
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 728
 aaaaguaauu gugguuuuug cc 22
 <210> 729
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 729
 aaaaacugag acuacuuuuug ca 22
 <210> 730
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 730
 aaaaacugua auuacuuuu 19
 <210> 731
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 731
 aaaaacuguaa uuacuuuuugu ac 22
 <210> 732
 <211> 22

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 732
 aaaaguaauc gcgguuuuug uc 22
 <210> 733
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 733
 aaaaguaau gcggauuuug cc 22
 <210> 734
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 734
 aaaaguaau gcggucuuug gu 22
 <210> 735
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 735
 aaaaguacuu gcggauuuug cu 22
 <210> 736
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 736
 aaaaguauu gcggguuuug uc 22
 <210> 737
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 737
 caaagguauu uguguuuuu g 21

<210> 738
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 738
 caaaaguaau uguggauuuu gu 22

<210> 739
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 739
 ccaaaacugc aguuacuuuu gc 22

<210> 740
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 740
 uagcaaaaac ugcaguuacu uu 22

<210> 741
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 741
 ugacaacuau ggagugagcuc u 21

<210> 742
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 742
 agugccugag ggaguaagag ccc 23

<210> 743
 <211> 22
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 743
 ugucuuacuc ccucaggcac au 22
 <210> 744
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 744
 gcgaccacu cuugguuucc a 21
 <210> 745
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 745
 gcgaccuau cuugguuca g 21
 <210> 746
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 746
 gaaaucaagc guggugaga cc 22
 <210> 747
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 747
 aacaggugac ugguuagaca a 21
 <210> 748
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 748
 aaaacgguga gauuuuuuu u 21
 <210> 749

<211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 749
 gcuaguccug acucagccag u 21
 <210> 750
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 750
 aggguaagcu gaaccucuga u 21
 <210> 751
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 751
 auauuaccu uagcucacu uu 22
 <210> 752
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 752
 gaugagcuca uuguaauaug ag 22

 <210> 753
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 753
 guuugcacgg guggccuug ucu 23
 <210> 754
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 754	
ugagcugcug uaccaaaau	19
<210> 755	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 755	
uaaaguaaau augcaccaa a	21
<210> 756	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 756	
caaaguuuua gaucuuugaa gu	22
<210> 757	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 757	
aaaguagcug uaccuuugc	20
<210> 758	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 758	
agguugacau acguuucc	19
<210> 759	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 759	
aggcacggug ucagcagc	19
<210> 760	

<211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 760
 gggcgccugu gaucccaac 19
 <210> 761
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 761
 aguauguucu uccaggacag aac 23
 <210> 762
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 762
 auguaaaaau guauacacac 20
 <210> 763
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 763
 aguuaaugaa uccuggaaag u 21
 <210> 764
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 764
 cgaaaacagc aauuaccuuu gc 22
 <210> 765
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 765

ugaguuggcc aucugaguga g	21
<210> 766	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 766	
guccgcucgg cgguggccca	20
<210> 767	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 767	
cugaagugau guguaacuga ucag	24
<210> 768	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 768	
cacgcucaug cacacaccca ca	22
<210> 769	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 769	
ugagugugug ugugugagug ugu	23
<210> 770	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 770	
gagccaguug gacaggagc	19
<210> 771	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 771
 aagaugugga aaaauggaa uc 22
 <210> 772
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 772
 auucuaauu cuccacgucu uu 22
 <210> 773
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 773
 uagauaaaau auugguaccu g 21

 <210> 774
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 774
 cuucuugugc ucuaggauug u 21
 <210> 775
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 775
 uucauuuggu aaaaaccgcg auu 23
 <210> 776
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 776
 uugagaauga ugaaucauaa gg 22

<210> 777
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 777
 ucuuguguuc ucuagaucag u 21
 <210> 778
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 778
 uaacugguug aacaacugaa cc 22
 <210> 779
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 779
 uuacaguugu ucaaccaguu acu 23
 <210> 780
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 780
 caaagaggaa ggucccauu c 21

 <210> 781
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 781
 uuaugguuug ccugggacug ag 22
 <210> 782
 <211> 19
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 782
 ugggcguauc uguaugcua 19
 <210> 783
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 783
 uaugcauugu auuuuuaggu cc 22
 <210> 784
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 784
 uuuccauagg ugaugaguca c 21
 <210> 785
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 785
 uggccacaa ugguuagaa c 21
 <210> 786
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 786
 ugagaaccac gucugcucug ag 22
 <210> 787
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 787
 ucagaacaaa ugccguucc caga 24

<210> 788	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 788	
uaauuuuug uuaagcuag u	21
<210> 789	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 789	
gagcuuauuc auaaaaguc ag	22
<210> 790	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 790	
agaccauggg uucucaugu	20
<210> 791	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 791	
uugugucaau augcgaugau gu	22
<210> 792	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 792	
ugucucugcu gggguuucu	19
<210> 793	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	

<400> 793	
aggcaccagc caggcauugc ucagc	25
<210> 794	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 794	
gaagugugcc gugguguguc u	21
<210> 795	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 795	
aagccugccc ggcuccucgg g	21
<210> 796	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 796	
ugugucacuc gaugaccacu gu	22
<210> 797	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 797	
uacgucaucg uugucaucgu ca	22
<210> 798	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 798	
guugugucag uuuaucaaac	20
<210> 799	

<211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 799
 acuuacagac aagagccuug cuc 23
 <210> 800
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 800
 uggucuagga uuguuggagg ag 22
 <210> 801
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 801
 gacacgggcg acagcugcgg ccc 23

 <210> 802
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 802
 cacacacugc aauuacuuuu gc 22
 <210> 803
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 803
 aggcugcgga auucaggac 19
 <210> 804
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 804

uaaaucccau ggugccuucu ccu	23
<210> 805	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 805	
aaacuacuga aaaucaaga u	21
<210> 806	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 806	
guucaaauc agaucuaaa c	21
<210> 807	
<211> 25	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 807	
agggguggug uugggacagc uccgu	25
<210> 808	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 808	
aggguuuuc ucucaucucu	20
<210> 809	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 809	
ugagcuaau gugucuggg a	21
<210> 810	
<211> 23	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 810
 gcgaggaccc cucggggucu gac 23
 <210> 811
 <211> 25
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 811
 gcugggcagg gcuucugagc uccuu 25
 <210> 812
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 812
 aggaauguuc cuucuuugcc 20
 <210> 813
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 813
 gaacgccugu ucuugccagg ugg 23
 <210> 814
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 814
 uccgagccug ggucuccuc uu 22
 <210> 815
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 815

gggggucucc ggugcucgga uc	22
<210> 816	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 816	
agucuuugga ggguuugagc ag	22
<210> 817	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 817	
acucaaaacc cuucagugac uu	22
<210> 818	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 818	
agacuuccca uuugaaggug gc	22
<210> 819	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 819	
aaacucuacu uguccuucug agu	23
<210> 820	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 820	
gaccuggaca uguuugugcc cagu	24
<210> 821	
<211> 20	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 821
 auggagauag auauagaaau 20
 <210> 822
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 822
 ggcuagcaac agcgcuuacc u 21

 <210> 823
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 823
 acagucugcu gagguuggag c 21
 <210> 824
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 824
 aucccuugca ggggcuguug ggu 23
 <210> 825
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 825
 cacaagguau ugguaauuacc u 21
 <210> 826
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 826

uaguaccagu accuuguguu ca	22
<210> 827	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 827	
agggggaaag uucuauaguc c	21
<210> 828	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 828	
gacuauagaa cuuucccccu ca	22
<210> 829	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 829	
agcugucuga aaaugucuu	19
<210> 830	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 830	
gugagucucu aagaaaagag ga	22
<210> 831	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 831	
ucuaguaaga guggcagucg a	21
<210> 832	
<211> 22	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 832
 augcugacau auuuacuaga gg 22
 <210> 833
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 833
 uggguuuacg ugggagaac u 21
 <210> 834
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 834
 guucuccaa cguaagccca gc 22
 <210> 835
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 835
 aguauucugu accaggaag gu 22
 <210> 836
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 836
 agaccggcc cagaccucag c 21

 <210> 837
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 837
 gugucugcuu ccugugga 19

<210> 838
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 838
 cuaauaguau cuaccacaau aaa 23
 <210> 839
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 839
 aaccagcacc ccaacuuugg ac 22
 <210> 840
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 840
 acuugggcac ugaacaacaug ucc 23
 <210> 841
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 841
 ugugcuugcu cgucccgccc gca 23
 <210> 842
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 842
 acugggggcu uucgggcucu gcgu 24
 <210> 843
 <211> 25
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 843	
agggaucgcg ggcggguggc ggccu	25
<210> 844	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 844	
aucgcugcgg uugcgagcgc ugu	23
<210> 845	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 845	
augauccagg aaccugccuc u	21
<210> 846	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 846	
aaagacauag gauagaguca ccuc	24
<210> 847	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 847	
guccucucc aaaugugucu ug	22
<210> 848	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 848	
acuuguauc uagcucaggu ag	22
<210> 849	

<211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 849
 aguguggcuu ucuuagagc 19
 <210> 850
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 850
 ucuaggcugg uacugcuga 19

 <210> 851
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 851
 aagcagcugc cucugaggc 19
 <210> 852
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 852
 guggcugcac ucacuuccuu c 21
 <210> 853
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 853
 aagugugcag ggcacuggu 19
 <210> 854
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>

> 854	
aaaccugugu uguucaagag uc	22
<210> 855	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 855	
aggaggcagc gcucucagga c	21
<210> 856	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 856	
uuuaggauaa gcuugacuuu ug	22
<210> 857	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 857	
aauggcgcca cuagguugu g	21
<210> 858	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 858	
guguugaaac aaucucuacu g	21
<210> 859	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 859	
uaugucugcu gaccaucacc uu	22
<210> 860	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 860
 uggugggccg cagaacaugu gc 22
 <210> 861
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 861
 auaauacaug guuaaccucu uu 22
 <210> 862
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 862
 aaauuuauac agucaaccuc u 21
 <210> 863
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 863
 ggcagguucu cacccucucu agg 23
 <210> 864
 <211> 25
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 864
 ggcggaggga aguaggucg uuggu 25
 <210> 865
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 865

cuugguucag ggagggucc ca	22
<210> 866	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 866	
uacccauugc auaucggagu ug	22
<210> 867	
<211> 24	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 867	
ugccuggguc ucuggccugc gcgu	24
<210> 868	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 868	
ucccacguug uggcccagca g	21
<210> 869	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 869	
aggcggggcg ccgctggacc gc	22
<210> 870	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 870	
gguggcccgg ccgugccuga gg	22
<210> 871	
<211> 23	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 871
 uauucauuua uccccagccu aca 23

<210> 872
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 872
 acuggcuagg gaaaaugauu ggau 24

<210> 873
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 873
 accaggaggc ugaggcccu 20

<210> 874
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 874
 ugucacucgg cucggcccac uac 23

<210> 875
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 875
 uccgguucuc agggcuccac c 21

<210> 876
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 876
 aggaagcccu ggaggggcug gag 23

<210> 877
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 877
 uggugcggag agggcccaca gug 23
 <210> 878
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 878
 cugaugccc ucaccgcuca 20

 <210> 879
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 879
 uggaagacua gugauuuugu ugu 23
 <210> 880
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 880
 caacaaauc cagucugcca ua 22
 <210> 881
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 881
 caacaaauc cagucuaccu aa 22
 <210> 882
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400
> 882
aaggagcuua caaucuagcu ggg 23
<210> 883
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 883
caacuagacu gugagcuucu ag 22
<210> 884
<211> 17
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 884
ucucgcuggg gccucca 17
<210> 885
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 885
ugcggggcua gggcuaacag ca 22
<210> 886
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 886
cuguugccac uaaccucaac cu 22
<210> 887
<211> 22
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 887
uuugugaccu gguccacuaa cc 22
<210> 888

<211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 888
 cggcucuggg ucuguggga 20
 <210> 889
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 889
 uggaggagaa ggaaggugau g 21
 <210> 890
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 890
 acuccagccc cacagccuca gc 22
 <210> 891
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 891
 ucugcucaua cccaugguu ucu 23
 <210> 892
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 892
 ugcaccaugg uugucugagc aug 23
 <210> 893
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 893	
cugggaucuc cggggucuug guu	23
<210> 894	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 894	
ugagaccucu gggguucugag cu	22
<210> 895	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 895	
uccaguacca cgugucaggg cca	23
<210> 896	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 896	
caguaaaaa gauucauccu ugu	23
<210> 897	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 897	
gcaggaacuu gugagucucc u	21
<210> 898	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 898	
cugcccuggc ccgagggacc ga	22
<210> 899	
<211> 21	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 899
 ccuggaaaca cugagguugu g 21

<210> 900
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 900
 uauaccucag uuuuaucaagg ug 22

<210> 901
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 901
 uggugguuua caaaguuuu ca 22

<210> 902
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 902
 uggauuucuu ugugaucac ca 22

<210> 903
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 903
 guagaggaga uggcgcaggg 20

<210> 904
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 904

uccucuucuc ccuccucca g	21
<210> 905	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 905	
aggcagcggg guguagugga ua	22
<210> 906	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 906	
uccauuacac uaccugccu cu	22
<210> 907	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 907	
cgcgggugcu uacugacccu u	21
<210> 908	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 908	
cgggucggag uuagcucaag cgg	23
<210> 909	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 909	
gugaacgggc gccauccga gg	22
<210> 910	
<211> 21	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400>
 > 910
 uacucaaaaa gcugucaguc a 21
 <210> 911
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 911
 gacugacacc ucuuugggug aa 22
 <210> 912
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 912
 uuaauaucgg acaaccuug u 21
 <210> 913
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 913
 uacuuggaaa ggcaucaguu g 21

 <210> 914
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 914
 ugcaacgaac cugagccacu ga 22
 <210> 915
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 915
 ugcaacuuac cugagucuu ga 22

<210> 916	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 916	
cacugugucc uuucugcgua g	21
<210> 917	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 917	
cacuggcucc uuucugggua ga	22
<210> 918	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 918	
ucuuugguua ucuagcagua uga	23
<210> 919	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 919	
auaagcuag auaaccgaaa gu	22
<210> 920	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 920	
ggggagcugu ggaagcagua	20
<210> 921	
<211> 25	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 921
 cuagugaggg acagaaccag gauuc 25
 <210> 922
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 922
 gcagcagaga auaggacuac guc 23
 <210> 923
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 923
 gucagcggag gaaaagaaac u 21
 <210> 924
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 924
 agagucuugu gaugucuugc 20
 <210> 925
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 925
 uauugcacuu gucccggccu gu 22
 <210> 926
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 926
 agguugggau cgguugcaau gcu 23
 <210> 927

<211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 927
 ggguggggau uuguugcauu ac 22

<210> 928
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 928
 uauugcacuc gucccgccu cc 22

<210> 929
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 929
 agggacggga cgcgugcag ug 22

<210> 930
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 930
 caaagugcug uucgucagg uag 23

<210> 931
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 931
 acugcugagc uagcacuucc cg 22

<210> 932
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 932	
ugugcgcagg gagaccucuc cc	22
<210> 933	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 933	
ugucuacuac uggagacacu gg	22
<210> 934	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 934	
ccaguuaccg cuuccgcuac cgc	23
<210> 935	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 935	
acaguagagg gaggaaucgc ag	22
<210> 936	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 936	
auccgcgcuc ugacucucug cc	22
<210> 937	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 937	
ugcccuuaaa ggugaaccca gu	22
<210> 938	
<211> 24	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400>
 > 938
 uggggagcug aggcucuggg ggug 24
 <210> 939
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 939
 aaggcagggc cccgcuccc c 21
 <210> 940
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 940
 cacccggcug ugugcacaug ugc 23
 <210> 941
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 941
 ucuucucugu uuuggccaug ug 22

 <210> 942
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 942
 cugacuguug ccguccuca g 21
 <210> 943
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 943

aaauuuauugu acaucggaug ag	22
<210> 944	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 944	
uucaacgggu auuuauugag ca	22
<210> 945	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400>	
> 945	
uuuggcacua gcacauuuuu gu	23
<210> 946	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 946	
aaucaugugc agugccaaua ug	22
<210> 947	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 947	
ugagguagua aguuguauug uu	22
<210> 948	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 948	
aaccguaga uccgaucuug ug	22
<210> 949	
<211> 22	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 949
 caagcucgcu ucuauggguc ug 22
 <210> 950
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 950
 cacccguaga accgaccuug cg 22
 <210> 951
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 951
 caagcucgug ucuguggguc cg 22
 <210> 952
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Herpes simplex virus 1
 <400> 952
 uggaaggacg ggaaguggaa g 21
 <210> 953
 <211> 24
 <212> RNA
 <213> Herpes simplex virus 1
 <400> 953
 ccugagccag ggacgagugc gacu 24
 <210> 954
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Herpes simplex virus 1
 <400> 954
 ucgcacgcgc ccggcacaga cu 22

<210> 955
 <211> 20
 <212> RNA
 <213> Herpes simplex virus 1
 <400> 955
 cugggacugu gcgguuggga 20

<210> 956
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Herpes simplex virus 1
 <400> 956
 cuugccuguc uaacucgcu gu 22

<210> 957
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Herpes simplex virus 1
 <400> 957
 gguagaguuu gacaggaag ca 22

<210> 958
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Herpes simplex virus 1
 <400> 958
 gucagagau ccaaccucc gg 22

<210> 959
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Herpes simplex virus 1
 <400> 959
 cacuuccgu ccuuccauc c 21

<210> 960
 <211> 23
 <212> RNA

<213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 960
 auuacaggaa acugggugua agc 23
 <210> 961
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 961
 uaguguuguc cccccgagug gc 22
 <210> 962
 <211> 22
 <212> RNA
 <213>
 > Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 962
 ugguguuguc cccccgagug gc 22
 <210> 963
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 963
 uuaaugcuua gccugugucc ga 22
 <210> 964
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 964
 accaggccac cauuccucuc cg 22
 <210> 965
 <211> 22
 <212>
 RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 965
 aacuguaguc cgggucgauc ug 22

<210> 966
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 966
 ucacauucug aggacggcag cga 23
 <210> 967
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 967
 ucgcggucac agaaugugac a 21
 <210> 968
 <211>
 22
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 968
 uagaauacug aggccuagcu ga 22
 <210> 969
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 969
 agcuaaacgg caguacucua gg 22
 <210> 970
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 970
 uaggaugccu ggaacuugcc gg 22
 <210> 971

 <211> 22
 <212> RNA

<213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 971
 ugaugguuuu cgggcuguug ag 22
 <210> 972
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 972
 ccagcagcac cuaauccauc gg 22
 <210> 973
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 973
 ugaucccaug uugcuggcgc u 21
 <
 <210> 974
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 974
 uaggcgcgac ugagagagca cg 22
 <210> 975
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 975
 cuggguauac gcagcugcgu aa 22
 <210> 976
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Kaposi sarcoma-associated herpesvirus
 <400> 976
 acccagcugc gaaaccccg cu 22

<210> 977
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(14)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages,
 <400> 977
 cacgattagc atta 14
 <210> 978
 <211> 6
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(6)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages,
 <400> 978
 gcatta 6

 <210> 979
 <211> 7
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220><223> LNA Oligomer
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(7)
 <223> Full LNA & Phosphorothioate linkages,
 <400> 979
 agcatta 7

 <210> 980
 <211> 10

<212> DNA

<213> artificial

<220><223> LNA Oligomer

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(10)

<223> Full LNA & Phosphorothioate linkages,

<400> 980

attagcatta

10