



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS  
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Departamento de genética y biología molecular

**Análisis *in-silico* de interactomas en  
miRNAs endógenos de humano y  
mosquitos capaces de unirse a las  
regiones 3' UTR del genoma de  
distintos *flavivirus***

**TESIS**

Que para obtener el título de:  
**LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA**

Presenta:  
**DAVID RAMOS ESTEBAN**

Director de tesis: **Dr. Rodolfo Gamaliel Ávila Bonilla**

Codirector de tesis: **Dra. Carla García Morales**

Toluca de Lerdo, Edo Mex. Mayo 2024

# ÍNDICE

Abreviaturas .....	I
Listado de figuras, gráficos y tablas. ....	II
Resumen .....	1
1 Introducción .....	3
1.1 <i>Flavivirus</i> .....	3
1.1.1 Estructura y genoma de los <i>flavivirus</i> .....	3
1.1.2 Ciclo replicativo.....	6
1.1.3 Epidemiología .....	8
1.2 Biología de los MicroRNAs.....	10
1.2.1 Biogénesis, y mecanismos moleculares .....	10
1.2.2 Predicción de blancos.....	11
2 Antecedentes.....	13
2.1 miRNAs como antivirales y pro-virales.....	13
2.2 Aplicación de los miRNAs como vacunas .....	15
3 Objetivo .....	17
3.1 General .....	17
3.2 Particular .....	17
4 Justificación .....	18
5 Materiales y metodos.....	19
5.1 Set de datos. ....	19
5.2 Interacciones miRNA-genomas virales. ....	19
5.2.1 Algoritmos.....	19
<b>5.2.2 Procesamiento de datos</b> .....	<b>20</b>
5.3 Interacción y validación miRNA-mRNA .....	22

5.4 Análisis de Ontología (GO).....	23
6 Resultados.....	24
6.1 Set de datos .....	24
6.2 Interacción miRNA-genomas virales .....	24
6.3 Interacción miRNA-mRNA.....	36
6.4 Análisis de ontologías (GO).....	38
7 Discusión .....	42
8 Conclusión.....	48
9 Perspectivas .....	49
10 Bibliografía.....	50
11 Anexos .....	59
11.1 Anexo 1: Proteínas blanco de los miRNA de humano recuperados.....	59
11.2 Anexo 2: Proteínas blanco de los miRNA de <i>A.Aegypti</i> recuperados .....	67
11.3 Anexo 3: Proteinas blanco de los miRNA de <i>C. Quinquefasciatus</i> recuparados .....	80

## ABREVIATURAS

**miRNA:** micro-RNA

**KB:** Kilobases

**RNA:** Ácido ribonucleico

**mRNA:** RNA mensajero

**DENV:** Virus de Dengue

**JEV:** Virus de la encefalitis japonesa

**WNV:** Virus del Nilo occidental

**ZIKV:** Virus del zika

**MVEV:** Virus de la encefalitis del valle de Murray

**USUV:** Virus de Usutu

**YFV:** Virus de la fiebre amarilla

**UTR:** Región no traducida

**ORF:** Marco de lectura abierto

**DGCR8:** Proteína cofactorial síndrome de DiGeorge región cromosómica 8

**RISC:** Complejo de silenciamiento inducido por RNA.

**VHC:** Virus de la hepatitis C

**VIH:** Virus de inmunodeficiencia humana

**EEEV:** virus de la Encefalitis Equina del Este

**BVDV:** Virus de la diarrea viral bovina

**ER:** Retículo endoplasmático

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**OPS:** Organización Panamericana de la Salud

**NCBI:** the National Center for Biotechnology Information

**MFE:** Energía mínima libre

**FDR:** Tasa de descubrimientos falsos

## LISTADO DE FIGURAS, GRÁFICOS Y TABLAS.

### FIGURAS

Figura 1: Estructura del genoma viral de los <i>flavivirus</i> ..	4
Figura 2: Representación esquemática del ciclo de replicación de los <i>flavivirus</i> .....	8
Figura 3: Incidencias de infecciones por <i>flavivirus</i> en México. ....	9
Figura 4: Biogénesis de miRNA. ....	11
Figura 5: Análisis estadístico de las interacciones miRNA-3'UTR de <i>flavivirus</i> .....	26
Figura 6: Redes de interacción entre las regiones 3'UTR de <i>flavivirus</i> y miRNAs en RNAhybrid. ....	28
Figura 7: Heatmap de interacciones en sTarMir.....	30
Figura 8: Heatmap de interacciones en miRanda. ....	33
Figura 9: Heatmap de interacciones en INTA-RNA.....	35
Figura 10: Ontologías de proteínas blanco de miRNAs de humano.....	39
Figura 11: Ontologías de proteínas de <i>A. Aegypti</i> , blanco de los miRNAs evaluados. ....	40
Figura 12: Ontologías de proteínas de <i>C. Quinquefasciatus</i> , blanco de los miRNAs evaluados..	41

### TABLAS

Tabla 1: Proteínas virales y su función dentro del proceso de infección. ....	5
Tabla 2: Algoritmos de predicción de objetivos <i>in-silico</i> .....	12
Tabla 3: Ejemplos de relaciones entre miRNA de humano y virus.....	13
Tabla 4: Secuencias de virus utilizadas .....	19
Tabla 5: Interacciones realizadas.....	21
Tabla 6: Configuraciones realizadas en las plataformas de validación .....	22
Tabla 7: Interacciones obtenidas en RNAHybrid.....	24
Tabla 8: miRNAs con interacciones en las cuatro plataformas de predicción .....	36
Tabla 9: Proteínas objetivo de más de dos miRNAs de humano .....	36
Tabla 10: Proteínas objetivo de más de dos miRNAs de <i>A. Aegypti</i> .....	37
Tabla 11: Proteínas objetivo de más de dos miRNAs de <i>C. Quinquefasciatus</i> .....	38

## RESUMEN

Los microRNAs (miRNAs) son pequeñas moléculas de RNA que no codifican para ninguna proteína; por lo que son catalogados con RNAs no codificantes (ncRNAs). Estos se encuentran implicados en la regulación de la expresión a nivel post transcripcional; uno de los mecanismos de regulación es mediante su unión a las regiones no traducidas 3' (por sus siglas en ingles 3'UTR) del RNA mensajero blanco, lo cual fomenta la degradación de dicho mRNA y como consecuencia la reducción en la expresión de la proteínas. Por su parte la familia *flaviviridae*, son virus envueltos los cuales son transmitidos a humanos mediante artrópodos que fungen como vectores; el incremento de la contaminación, así como los cambios climáticos han proporcionado que las poblaciones de vectores incrementen y con ello el aumento de estas enfermedades virales, por lo que las infecciones por *flavivirus* se consideran un problema de salud pública.

Estudios han demostrado que la interacción de los miRNAs tanto del vector como del huésped pueden ocasionar cambios en el ciclo replicativo de los *flavivirus*. Estas interacciones pueden ser mediante la regulación de los genes en la célula huésped lo que reduce la expresión de proteínas elementales para la replicación de los virus; o mediante la interacción de los miRNA con los genomas virales. La interacción de los miRNA en los genomas virales ha sido poco estudiada a pesar de que se ha propuesto que dicha región puede ser un sitio blanco para la fabricación de virus atenuados y antivirales.

En el presente trabajo, se emplearon análisis bioinformáticos para demostrar el potencial de miRNAs endógenos de células humanas y de mosquitos para unirse a la región 3'UTR de varios *flavivirus*. Para ello se realizaron predicciones en cuatro algoritmos diferentes (RNAHybrid, StarMir, miRanda e Inta-RNA), donde se encontraron miRNAs que tiene la capacidad de unirse a todos los *flavivirus* analizados; además, de que se analizó su capacidad de unión mediante el empleo de dichos algoritmos para definir que miRNA tienen una mayor afinidad a la región 3' UTR del genoma de los *flavivirus*. Por último, se evaluó los mRNA blancos de los

miRNAs en la célula huésped esto con la finalidad de definir la función biológica de dichos miRNAs. gracias a las anotaciones (GO); de las proteínas resultantes de los mRNA afectados, se observó, que estas están relacionadas con procesos de regulación, asimismo se observó que estas proteínas se encuentran ubicadas principalmente en membranas de células implicadas en el proceso de infección de los *flavivirus*

Todo esto abre nuevas interrogantes para el estudio de miRNAs y su participación en las infecciones por *flavivirus*.

# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 *Flavivirus*

Los *flavivirus* son virus de RNA de cadena sencilla con polaridad positiva con un tamaño de genoma de aproximadamente 11 kilobases (kb), estos pueden ser transmitidos de vectores artrópodos tales como mosquitos y garrapatas a humanos, por lo que son conocidos como Arbovirus (Arthropod Borne Viruses)<sup>1</sup>. Los *flavivirus* causan una variedad de enfermedades humanas, entre las más destacadas se encuentran encefalitis y fiebres hemorrágicas. En esta familia se incluyen los principales patógenos con un potencial para causar una pandemia, como el virus del dengue (DENV), el virus de la encefalitis japonesa (JEV), el virus del Nilo occidental (WNV), virus del zika (ZIKV), y otros virus endémicos tales como, el virus de la encefalitis del valle de Murray (MVEV), el virus de Usutu (USUV) y el virus de la fiebre amarilla (YFV)<sup>2</sup>.

### 1.1.1 *Estructura y genoma de los flavivirus*

El genoma de los *flavivirus* está integrado por un marco de lectura abierto (ORF) flanqueado por una región cubierta 5'UTR corta (~ 100 nt) y una región más larga (~ 400 -600 nt) 3'-UTR carente de una cola poli-A<sup>1,3</sup> (fig. 1). La región terminal 5' del genoma puede dividirse en dos dominios. El primero de estos dominios se encuentra dentro de la 5' UTR y contiene la estructura ramificada del bucle del tallo A (SLA), una característica conservada en todo el género de los *flavivirus*<sup>4</sup>. El segundo terminal se extiende desde el 5'UTR hasta el ORF C. Este dominio contiene la región 5' río arriba de AUG (5'UAR) que se pliega en una segunda estructura de bucle de tallo (SLB), la región río abajo de AUG (DAR), la horquilla de la región de codificación C (cHP), la secuencia de ciclo 5'(5'CS) y el pseudonudo de 5'CS (DCS-PK)<sup>5,6</sup>.

La región terminal 3' del genoma de los *flavivirus* puede dividirse en tres dominios distintos, los cuales residen en la 3'UTR. El dominio 1, es el presenta las secuencias menos conservadas entre los *flavivirus* y es más notable por la presencia de dos estructuras de bucle de tallo (SLI y SLII)<sup>5,6</sup>. El dominio 2 contiene, dependiendo del

virus, una (ZIKV y YFV) o dos (DENV y JEV) estructuras conservadas en forma de campana, DB1 y DB2<sup>7</sup>. El dominio 3 contiene las secuencias 3' DAR, 3'CS y 3'UAR y está muy conservado en todos los miembros del género *flavivirus*, por último, este dominio contiene la estructura 3' stem-loop (3' SL), que está flanqueada en su extremo 5' por la horquilla corta (sHP)<sup>8</sup>.

Se ha demostrado que todos estos elementos desempeñan funciones en la replicación del RNA viral entre las que destacan, la circularización del genoma del flavivirus mediante la unión de las secuencias DAR, CS y UAR de las regiones 3' y 5',<sup>6</sup> la horquilla corta (sHP) es necesaria para la síntesis de ARN<sup>9</sup> y cHP desempeña un papel importante en el reconocimiento del codón de inicio.<sup>5</sup>

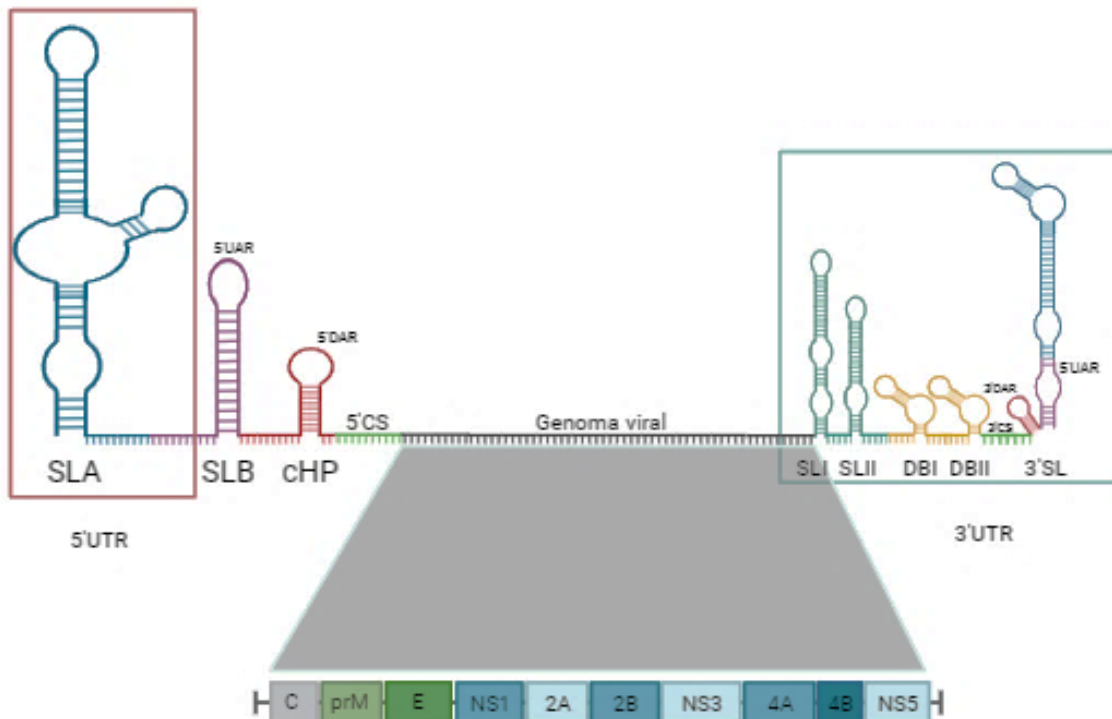


Figura 1: Estructura del genoma viral de los *flavivirus*. En rojo las estructuras características de la región 5'UTR, en esta se encuentra ubicado el bucle SLA, del dominio 1, además inician las estructuras SLB, 5'UAR, 5'DAR, cHP y 5'CS, estructuras que se unen a sus homólogos en la región 3'UTR en el proceso de replicación; encerrado en azul las estructuras de la región 3'UTR, dentro de esta se observan los bucles SLI y SLII, del primer dominio, los bucles de campana DBI y DBII del segundo dominio y las estructuras 3'UAR, 3'DAR y 3'CS del tercer dominio, finalmente se observa la organización del ORF de la poliproteína así como el orden de cada proteína traducida. Creado en BioRender.com.

Después de ser traducida, la poliproteína resultante de la región ORF es dividida por proteasas víricas y celulares, generando 10 proteínas virales maduras<sup>8</sup>, estas participan en el ensamblaje y replicación de los *flavivirus* (Tabla 1).

Tabla 1: Proteínas virales y su función dentro del proceso de infección.

<b>Proteína</b>	<b>Función</b>
<b>C</b>	Determina la infectividad del virus, protege el genoma viral y participa en la formación de la envoltura del virus y el mantenimiento de la estructura espacial de la proteína E. <sup>1</sup>
<b>prM</b>	Evita la fusión prematura de la proteína E al cubrir los péptidos de fusión, durante el traslado al aparato de Golgi. <sup>1</sup>
<b>E</b>	Dirige la unión viral, la fusión de membranas, la penetración y la hemaglutinación. Está asociada con la virulencia, la atenuación, el ensamblaje del virión, la estabilidad y maduración. <sup>10</sup>
<b>NS1</b>	Desempeña un papel importante en las estrategias de evasión e invasión inmunitaria al modular la maquinaria celular del huésped para la propagación eficaz del virus. <sup>11,12</sup>
<b>NS2A</b>	Promueve el ensamblaje y la replicación viral. Coordina, de un modo aún no muy bien definido, si el RNA genómico producido en cada ciclo de replicación se utiliza como nueva plantilla o si se asocia dentro de la nucleocápside durante el ensamblaje viral. <sup>13</sup>
<b>NS2B</b>	Ancla a la membrana del retículo endoplásmico el complejo NS2B-NS3, interactúa con el dominio proteasa de la proteína NS3 para actuar como cofactor de ésta. <sup>13,14</sup>
<b>NS3</b>	Posee en el extremo N-terminal un dominio proteasa similar a la tripsina (NS3-pro) y en el extremo C-terminal posee un dominio que actúa como trifosfatasa y como helicasa del RNA (NS3-Hel); ambas funciones son indispensables en la replicación viral. <sup>13</sup>
<b>NS4A</b>	Induce el reordenamiento de la membrana y la autofagia para mejorar la replicación viral. <sup>15</sup>

*Continuación tabla 1*

<b>NS4B</b>	Modula la respuesta inmunitaria del huésped suprimiendo la señalización del interferón $\alpha/\beta$ y la actividad de la helicasa NS3. <sup>16</sup>
<b>NS5</b>	En su extremo N-terminal posee actividad enzimática de metiltransferasa y guanidiltransferasa, responsables del capping y la metilación del extremo 5' del RNA genómico, mientras que, en el extremo C-terminal, se ubica el dominio de RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRps). <sup>17</sup> La proteína NS5 actúa como polimerasa durante la replicación y transcripción viral. <sup>13</sup>

*1.1.2 Ciclo replicativo*

El virus entra en las células del huésped por endocitosis mediada por receptores, entre los que incluyen integrinas  $\alpha$  v  $\beta$  3 , receptores de lectina tipo C (CD206, CD209, CLEC5A), receptores de fosfatidilserina TIM/TAM, proteínas de choque térmico 70 y 90, entre otros, (fig. 2). La internalización de la partícula viral se produce principalmente a través de endocitosis mediada por clatrina que entrega partículas virales al endosoma temprano,<sup>20</sup> la eliminación de la cubierta es inducida por el entorno de ácido de los endosomas, donde la proteína E entra en un estado activo e inicia la fusión de la envoltura viral con la membrana endosomal, liberando así el RNA del genoma viral en el citoplasma.<sup>16, 18</sup>

Una vez en el citoplasma, el RNA se transporta al retículo endoplásmico (RE) donde tiene lugar la traducción.<sup>19</sup> Las proteínas virales no estructurales (NS2A, NS2B, NS3, NS4A) median la replicación del RNA, que ocurre dentro de las invaginaciones de ER inducidas por virus, conocidas como paquetes de vesículas (VP).<sup>20</sup> Las proteasas celulares y virales coordinan el procesamiento de la poliproteína del flavivirus, el procesamiento entre prM-E y E-NS1 está mediado por una señalasa endógena y no requiere proteasa viral, una escisión distinta entre NS1-NS2A requiere una proteasa celular desconocida, los sitios de escisión restantes, NS2A-NS2B y NS2B-NS3, están mediados por NS3 en cis, mientras que el procesamiento entre NS3-NS4A y NS4B-NS5 está mediado por NS2B y NS3 en trans. Las proteínas NS4A y NS4B maduras se generan mediante escisión en dos sitios por

NS2B/NS3 y la señalasa celular.<sup>8</sup> Usando el genoma viral como molde, NS5 sintetiza RNA antisentido (-), generando intermedios replicativos de RNA bicatenario (ds). El (-) RNA sirve como molde para la síntesis adicional de RNA de sentido positivo.<sup>21</sup>

El proceso de ensamblaje comienza cuando los dímeros de la proteína C se asocian con el RNA viral de cadena (+)<sup>2</sup> que brota a través de las membranas del RE que contienen las proteínas E-prM. Durante el transporte a través de la vía secretora, las partículas inmaduras del virus pasan por etapas de maduración en el complejo de RE y Golgi que incluyen la glicosilación de prM y E, la maduración de los flavivirus comienza con la exposición al ambiente ácido de la red de Golgi y trans-Golgi. Este pH desencadena un reordenamiento conformacional de prM y E que hace que prM sea accesible a la escisión por la proteasa celular furina, produciendo la proteína M y el péptido pr, que permanece unido a la envoltura viral a pH ácido y continúa previniendo la fusión viral prematura. Un cambio de pH de ácido a neutro al salir del virus al espacio extracelular provoca la liberación del péptido pr de la superficie viral, lo que da como resultado un virus maduro infeccioso.<sup>2,8, 20, 21</sup>

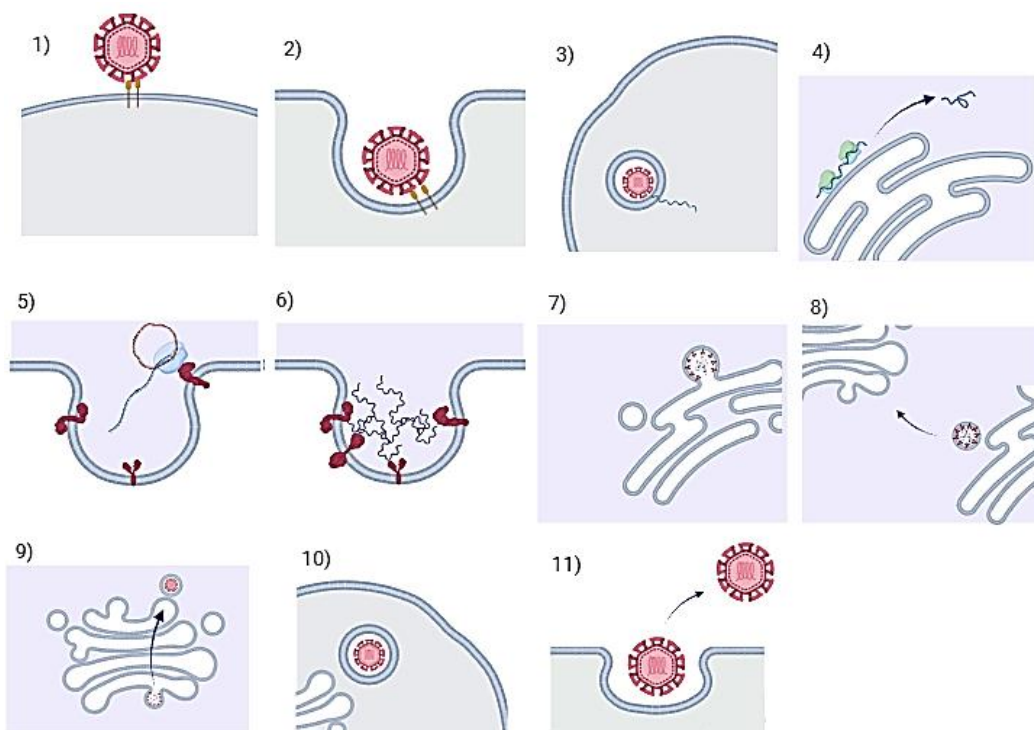


Figura 2: Representación esquemática del ciclo de replicación de los *flavivirus*. 1- Unión del virus a los receptores de la célula huésped. 2- Entrada del virus a la célula por endocitosis. 3- Liberación del genoma viral en el citoplasma, por acidificación de la vesícula proteolítica. 4- Traducción del genoma viral en una poliproteína 5- Replicación del genoma viral. 6- Interacción de las proteínas estructurales y el genoma viral 7-Ensamblado del virión inmaduro 8-Transporte al aparato de Golgi 9-Paso por el aparato de Golgi.10-Transporte del virión al exterior por medio de vesículas proteolíticas 11- Liberación del virión maduro. Creado en BioRender.com.

### 1.1.3 Epidemiología

Actualmente las enfermedades causadas por *flavivirus* son un problema de salud global, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2019 se registró el mayor número de casos de dengue jamás notificado en todo el mundo, tan solo en América se notificaron 3,1 millones de casos de dengue, de los que más de 25 000 se clasificaron como graves.<sup>22</sup> Por otro lado, la OMS calcula que cada año se producen en el mundo 200.000 casos de fiebre amarilla que causan unas 30.000 muertes.<sup>23</sup>

De acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud (OPS), en América hasta la semana epidemiológica 24 de 2020 se han notificado 856,555 casos sospechosos de enfermedad por el virus del Zika, de los cuales 249,934 han sido confirmados por laboratorio. Los países con mayor número de casos notificados son Brasil con 28,482 casos, Perú con 2500 y El Salvador con 817.<sup>24</sup> En 2012, se reportaron 286 defunciones en Estados Unidos causadas por el virus del Nilo occidental, el virus se importó en 1999 desde Israel y Túnez a Nueva York, donde se produjo un brote que posteriormente llevó el virus desde Canadá hasta Venezuela.<sup>25</sup>

En México, hasta la semana epidemiológica 42 de 2023, Los estados con mayor incidencia de casos confirmados de Dengue (fig. 3a), son: Yucatán (373.78), Quintana Roo (203.62), Morelos (138.08), Campeche (108.46) y Veracruz (91.76). mientras que los primeros seis casos registrados de infección por el virus del Nilo occidental ocurrieron en 2003 afectando tres estados de la frontera norte

(Chihuahua, Nuevo León y Sonora); a partir de entonces solo se han identificado casos aislados, en 2004 uno en Sonora, en 2006 uno en Chihuahua, tres en 2007 dos en Chihuahua y uno en Oaxaca y uno en 2012 en Chihuahua, fecha a partir de la cual no se han identificado casos (fig. 3b). Por otro lado el primer caso autóctono de enfermedad por el virus del Zika fue identificado en octubre de 2015; en el país hasta el cierre de 2019 (fig.3c), se han confirmado 12,935 casos de enfermedad por el virus del Zika.<sup>26</sup>

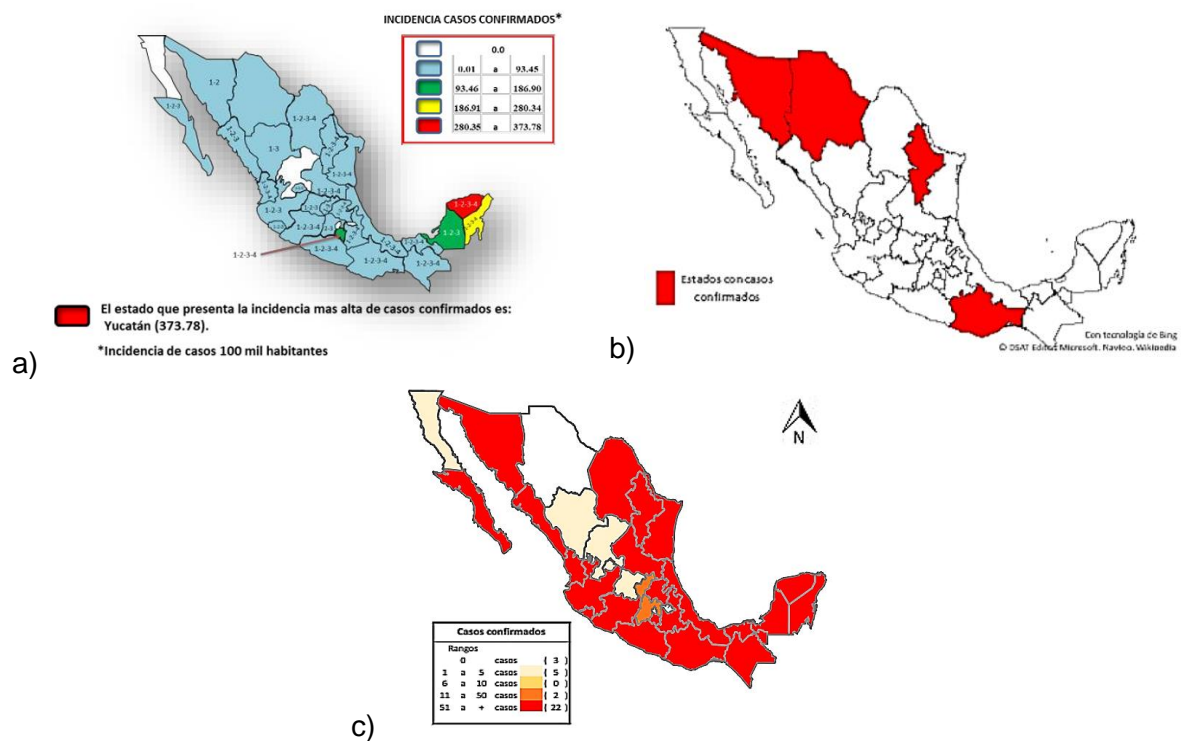


Figura 3: Incidencias de infecciones por *flavivirus* en México. a) Incidencia de serotipos y casos confirmados de Dengue por cada 100,000 habitantes hasta la semana epidemiología 42 de 2023, reportado por la secretaria de salud donde se observa que Yucatán es el estado con la mayor cantidad de casos confirmados de dengue, b) Estados con casos confirmados de infección por virus del Nilo occidental hasta el 2012. c) Incidencia de casos autóctonos del virus de Zika, hasta el cierre de 2019

## 1.2 **Biología de los MicroRNAs**

### 1.2.1 *Biogénesis, y mecanismos moleculares*

Los microRNA (miRNA) son RNA no codificantes que regulan los niveles transcritos y el estado de traducción de los RNA mensajeros (mRNA) la parte central del miRNA es la denominada “región semilla” la cual comprende una zona entre los nucleótidos 2 a 8, de la secuencia de miRNA, que tiene una complementariedad perfecta con la UTR 3' del mRNA <sup>27,28</sup>

En cuanto a la biogénesis de los miRNAs en eucariontes (fig. 3). El gen del miRNA es típicamente transcrito por la RNA polimerasa II como RNA primario (pri-miRNA), que se escinde en miRNA precursor (pre-miRNA) por los complejos de microprocesadores nucleares que consisten en la endonucleasa Ribonucleasa III Drosha y la proteína cofactorial síndrome de DiGeorge región cromosómica 8 (DGCR8), el pre-miRNA consiste en una horquilla de ~ 70 nt de longitud imperfectamente complementaria, la cual es exportada al citosol por la exportina-5. <sup>27, 28.29</sup>

En el citoplasma, Dicer escinde enzimáticamente el pre-miRNA del tallo-bucle a dúplex de miRNA de doble cadena de 22 nucleótidos de largo; por lo general, un brazo de la horquilla del pre-miRNA se convierte en el miRNA maduro, el cual es estable después de la escisión de Dicer y se incorpora en las proteínas Ago, Ago1 y Ago2 en el complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC) mientras que el otro brazo del pre-miRNA, (miRNA \*) se degrada rápidamente. <sup>29, 30,31</sup>

El complejo ribonucleoproteico miRNA:RISC regula la expresión génica mediante dos mecanismos diferentes, dependiendo de la complementariedad con las secuencias del miRNA al RNA mensajero (mRNA) blanco. Una coincidencia de complementariedad perfecta generalmente induce a la degradación del mRNA, como resultado de la actividad endonucleasa de Ago2. Por otro lado, la inhibición de la traducción se produce como resultado de una unión complementaria imperfecta del complejo RISC a las secuencias blanco <sup>28, 32,33</sup>

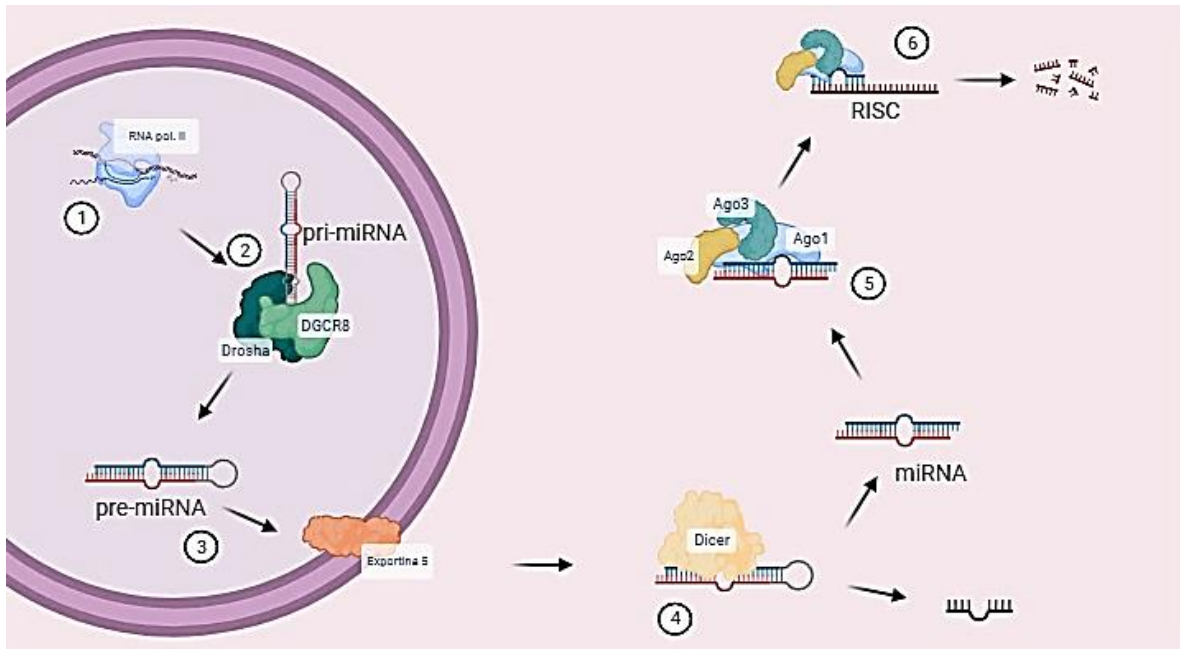


Figura 4: Biogénesis de miRNA. 1-Trascricpción del gen del miRNA, por parte de la RNA polimerasa II. 2- Escisión del pri-miRNA a pre-miRNA por los complejos de microprocesadores nucleares 3- Traspote del pre-miRNA al citoplasma por la trasportina-5. 4- Unión del pre-miRNA con Dicer y formación del miRNA maduro, por escisión de la horquilla del pre-miRNA 5- Formación del complejo RISC, 6- unión del complejo RISC con el mRNA para su degradación. Creado en BioRender.com.

### 1.2.2 Predicción de blancos.

Los miRNA representan un mecanismo epigenético que regula la expresión génica en muchos procesos homeostáticos y condiciones patológicas dentro de las células.<sup>34</sup> El reto de estas predicciones radica en definir el mRNA blanco al cual el miRNA se une; esto debido a que se ha reportado que los miRNAs pueden presentar múltiples sitios de unión a diferentes mRNA o un solo miRNA puede unirse a más de un sitio del mRNA<sup>35</sup> Con el fin de desarrollar algoritmos computacionales que identifiquen genes blanco de miRNA, se han desarrollado algoritmos de predicción que se basan en su capacidad termodinámica de unión de los miRNAs a las miRNAs, esto a partir de datos experimentales que han previamente demostrado como es el mecanismo biológico de acción de los microRNA (Tabla 2).<sup>36,37</sup>

Tabla 2: Algoritmos de predicción de objetivos *in-silico*

<b>Algoritmo</b>	<b>Función</b>	<b>Especies</b>
<b>RNAhybrid</b>	Este algoritmo calcula la energía libre mínima de los híbridos miRNA-objetivo utilizando principios termodinámicos.	Humano Mosca Gusano
<b>Inta- RNA</b>	un programa para la predicción rápida y precisa de interacciones entre dos moléculas de RNA. Predice las interacciones RNA-RNA mediante un enfoque basado en energía.	Cualquier genoma de NCBI
<b>sTarMir</b>	Predice primero las estructuras secundarias del objetivo, posteriormente, se predicen los posibles sitios de unión de miRNA	Humano Ratón Gusano
<b>miRanda</b>	Este algoritmo identifica los dúplex miRNA-MRNA diana, teniendo en cuenta los emparejamientos erróneos, los huecos	Cualquier secuencia ingresada

## 2 ANTECEDENTES

### 2.1 *miRNAs como antivirales y pro-virales*

Los virus de RNA de cadena sencilla polaridad positiva, presentan una estructura que asemeja a los mRNA propios de las células a las que infectan, lo que potencialmente permite la unión directa de los miRNAs al RNA viral, y promueve una interacción entre ellos. Hasta el momento se han identificado dos posibles fenómenos en la interacción directa de los miRNAs con los genomas virales: el primero de ellos pueden ejercer un efecto antiviral que conlleva a la inhibición de la replicación del genoma viral mediante su degradación. El segundo se les ha atribuido un efecto pro-viral dado que su unión puede estabilizar el genoma del virus para favorecer la replicación viral, también se ha observado relaciones indirectas entre miRNAs y los genomas virales las regulaciones a la alta o a la baja de los primeros afecta el desarrollo de la infección viral.<sup>38</sup> Algunos ejemplos de estas interacciones en células de humanos son mostrados en la tabla 3.

Tabla 3: Ejemplos de relaciones entre miRNA de humano y virus

miRNA	Mecanismo	Referencia
miR-28-5p° miR-150° miR-223° miR-382°	Regula la represión traduccional del RNA del VIH-1, durante la infección por VIH-1 de células T CD4 + <i>in vitro</i> .	[39]
MiR-132°	Promueve la replicación viral en células T Jurkat, así como la reactivación en células con infección latente de VIH-1	[40]

## Continuación tabla 3

<b>miR-142-3p*</b>	Previene la traducción del genoma EEEV entrante y la replicación del virus en macrófagos humanos y murinos, así como en células dendríticas	[41]
<b>miR-323*</b> <b>miR-491*</b> <b>miR-654*</b>	inhiben la replicación del virus de la influenza AH1N1 a través de la unión al gen PB1. El análisis mutacional mostró que los tres miRNA se unen a la misma región conservada del gen PB1	[42]
<b>miR-30e*</b>	suprimió significativamente la replicación de DENV al promover la producción de IFN- $\beta$ dependiente de NF- $\kappa$ B	[43]
<b>miR-122°</b>	Presenta interacción con el virus de la hepatitis C (VHC) ya que en lugar de unirse a la 3' UTR, miR-122 se une a la 5' UTR del VHC, evitando la actividad de la exonucleasa del huésped y la degradación del RNA	[44]
<b>miR-17°</b>	Se une a la región 3' UTR del genoma del virus de la diarrea viral bovina (BVDV) aumentando tanto la traducción viral como la estabilidad del RNA.	[45]
<b>miR-432°</b>	La regulación a la baja, mediada por la infección de JEV conduce a la regulación al alza de SOCS5, lo que ayuda al virus a evadir la respuesta antiviral celular.	[46]
<b>miR-146a°</b>	DENV aumenta el nivel de expresión, lo que apoya la replicación viral al amortiguar la producción de IFN.	[47]

°miRNA con actividad pro-viral. \*miRNA con actividad antiviral

## 2.2 Aplicación de los miRNAs como vacunas

Actualmente existen excesos fármacos para la prevención de infecciones por *flavivirus* y los existentes no son tan efectivos y seguros como se espera en algunas situaciones debido a mutaciones y variaciones de los virus. Las vacunas existentes anti-*flavivirus* están basados en diferentes enfoques y características estructurales importantes de estos virus.<sup>48</sup>

Las vacunas vivas atenuadas son muy eficaces en la estimulación de la protección inmunitaria a largo plazo y son de bajo cost,<sup>49</sup> la vacuna 17D contra YFV se desarrolló en la década de 1993 y ha demostrado ser segura y eficaz dada su capacidad de inducir las respuesta inmunitaria innata y adaptativa, originando anticuerpos contra la proteína de envoltura además que regula la respuesta antiinflamatoria y proinflamatoria,<sup>50,51</sup> sin embargo estas proteínas al ser virus atenuados, las mutaciones pueden restaurar la virulencia de los virus en el cuerpo humano, además de provocar efectos secundarios graves.<sup>51,48</sup>

Las vacunas inactivadas son desarrolladas a partir de material inactivado del virus, este tipo de vacunas son relativamente seguras y sencillas de producir, pero el efecto inmunitario es bajo al igual que su tiempo de respuesta,<sup>48</sup> ejemplo de estas son las dos vacunas, FSME-IMMUN® (Pfizer) y Encepur® (GlaxoSmithKline), las cuales utilizan el virus completo de TBEV inactivado con formalina como antígeno.<sup>52</sup>

Las vacunas de recombinación genética utilizan la ingeniería genética, para aislar el gen del antígeno y transferirlo a otro sistema vivo para su expresión,<sup>48,53</sup> en este tipo de vacuna se encuentran las vacunas recombinantes, Dengvaxia® (Sanofi Pasteur) es un ejemplo de este tipo de vacunas, utiliza el esqueleto del vector de la vacuna 17D en el que los genes que codifican las proteínas estructurales prM y E del YFV han sido reemplazados por los genes correspondientes de DENV-1,2,3 o 4.<sup>53</sup> Las vacunas de DNA y RNA, permiten la inyección de plásmidos modificados genéticamente que contienen secuencias que codifican antígenos, de modo que las células produzcan antígenos directamente, provocando así una respuesta inmunitaria protectora,<sup>48</sup>

Por último, se trabaja en el diseño de vacunas recombinantes de *flavivirus* genéticamente modificados con MRE (elementos de reconocimiento de miRNA), Heiss et.al; observaron que la neurovirulencia de TBEV/DEN4 en ratones se redujo o eliminó en gran medida mediante la introducción de la secuencia objetivo de miRNA let-7c, mir-9, mir-124a, mir-128a o mir-218, los virus que portaban un objetivo complementario para mir-9 o mir-124a tenían una replicación muy restringida en células neuronales primarias, tenían acceso limitado al SNC de ratones inmunodeficientes y conservaban la capacidad de inducir una fuerte respuesta inmune humoral en monos, sin embargo también se observó que una mutación de un solo nucleótido en la secuencia objetivo let-7c restauró el fenotipo neurovirulento del virus,<sup>54</sup> esto sugiere que los miRNA dirigidos a controlar la patogénesis de los *flavivirus* podrían representar un enfoque racional para la atenuación del virus y el desarrollo de vacunas.

### 3 OBJETIVO

#### 3.1 General

Identificar microRNAs endógenos de humano y mosquitos capaces de unirse a las regiones 3'UTR del genoma de distintos *flavivirus*, para determinar su potencial participación dentro de la replicación y patogénesis viral.

#### 3.2 Particular

- Obtener las regiones 3'UTR del genoma de los virus DENV1, DENV2, DENV3, DENV4, WNV1, WNV2, ZIKV, YFV, JEV, MVEV y USUV, para utilizarse como blancos en los análisis bioinformáticos.
- Obtener las secuencias de miRNA maduros a partir de los genomas de Homo sapiens, *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*, para emplearse como moléculas diana dentro de los análisis bioinformáticos.
- Realizar las interacciones in-silico de miRNA endógenos de humanos y mosquitos sobre la región 3'UTR de los genomas de *flavivirus* para determinar su posible participación en la replicación de los genomas virales.
- Determinar la unión de miRNA-mRNA endógenos, anotaciones funcionales de genes y rutas bioquímicas con el análisis de Ontología (GO) para definir su patogénesis dentro de este tipo de infecciones.

## 4 JUSTIFICACIÓN

Los *flavivirus* son virus con un potencial pandémico capaces de producir enfermedades a nivel mundial, por lo que su control en el vector o humano es de vital importancia para prevenir potenciales enfermedades. Los microRNA (miRNA) son RNA no codificantes que regulan los niveles transcritos y el estado de traducción de los RNA mensajeros (mRNA), además algunos estudios han demostrado que los miRNAs tienen potencial para ser utilizados como vacunas ya que regulan las vías de defensa del mosquito y humano contra la infección por *flavivirus*. Sin embargo, existen escasos estudios de todos los miRNAs en una célula capaces de realizar dicha función de manera global.

El principal problema radica en la acción de los miRNA sobre sus blancos de mRNA, ya que es difícil de caracterizar, porque cada miRNA tiene múltiples blancos de mRNA y viceversa; por lo tanto, la identificación correcta de una interacción sigue siendo un desafío. En este trabajo se pretende utilizar herramientas bioinformáticas con la finalidad de predecir los blancos de los miRNAs hacia los genomas virales y a mRNA de la célula con la finalidad de contribuir al avance en el descubrimiento de moléculas capaces de regular la replicación de dichos virus.

## 5 MATERIALES Y METODOS

### 5.1 Set de datos.

Se descargaron de la plataforma GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) de NCBI (the National Center for Biotechnology Information) las secuencias genómicas de los *flavivirus* descritos en la tabla 4 y de la base de datos MiRBase (<https://www.mirbase.org>) las secuencias de miRNAs maduros de humano (*Homo sapiens*; hsa.gff3) y dos especies de mosquito: *Aedes aegypti* (aae.gff3) y *Culex quinquefasciatus* (cfa.gff3).

Tabla 4: Secuencias de virus utilizadas

Virus	Código NCBI
Virus del dengue serotipo 1 (DENV1)	NC_001477.1
Virus del dengue serotipo 2 (DENV2)	NC_001474.2
Virus del dengue serotipo 3 (DENV3)	NC_001475.2
Virus del dengue serotipo 4 (DENV4)	NC_002640.1
Virus de la fiebre amarilla (YFV)	NC_002031.1
Virus de Zika (ZIKV)	NC_035889.1
Virus de la encefalitis japonesa (JEV)	NC_001437.1
Virus de la encefalitis del valle de Murray (MVEV)	NC_000943.1
Virus de Usutu (USUV)	NC_006551.1
Virus del Nilo Occidental serotipo 1 (WNV1)	NC_009942.1
Virus del Nilo Occidental serotipo 2 (WNV2)	NC_001563.2

### 5.2 Interacciones miRNA-genomas virales.

#### 5.2.1 Algoritmos

**RNAhybrid:** Este algoritmo calcula la energía libre mínima de los híbridos miRNA-objetivo utilizando principios termodinámicos. Integra parámetros de hélice, restricciones de bucle y tiene en cuenta las oscilaciones G:U dentro de la región semilla. Una hibridación favorable ocurre típicamente alrededor de  $-20 \text{ kcal/mol}^{55}$

**Inta-RNA:** es un programa para la predicción rápida y precisa de interacciones entre dos moléculas de RNA predice las interacciones RNA-RNA mediante un enfoque basado en energía que se basa en dos suposiciones: (1) la accesibilidad de los sitios de interacción es importante para la formación de la interacción, y (2) se requiere una región semilla para iniciar la interacción. La puntuación de energía de una interacción RNA-RNA predicha, es la suma de las siguientes contribuciones: la energía libre de hibridación de las secuencias que interactúan, y las energías libres necesarias para desplegar los sitios de interacción en ambas moléculas de RNA. La energía libre necesaria para desplegar el sitio de interacción, es decir, hacerlo accesible, se calcula a partir del conjunto termodinámico de todas las estructuras secundarias que pueden formarse a partir de la secuencia de RNA.<sup>56</sup>

**miRanda:** Este algoritmo identifica los dúplex miRNA-MRNA diana, teniendo en cuenta los emparejamientos erróneos, los huecos y los emparejamientos de bases tambaleantes. Se extiende más allá de la región semilla para predecir todos los posibles sitios diana de miRNA.<sup>57</sup>

**sTarMir:** Asigna una probabilidad logística como medida de confianza en el sitio predicho. Para una interacción miRNA: mRNA, STarMir predice primero las estructuras secundarias del objetivo, posteriormente, se predicen los posibles sitios de unión de miRNA para sitios sin semilla con una estabilidad híbrida de -15 kcal/mol o inferior devolviendo el resultado como un  $\Delta G$  de la interacción. Para cada sitio, se calcula una lista de características basadas en la secuencia y la estructura, estas características son utilizadas por el modelo para calcular una probabilidad logística como medida de confianza en el sitio predicho<sup>58</sup> las mejores interacciones son aquellas con un valor muy negativo del  $\Delta G$  y un valor cercano a uno en la probabilidad logística.

### 5.2.2 *Procesamiento de datos*

Las secuencias FASTA de los *flavivirus* fueron procesadas usando el algoritmo bedtools (<https://bedtools.readthedocs.io/en/latest/>) para extraer la región 3'UTR de cada una de ellas, las cuales fueron utilizadas en las predicciones.

Las interacciones se predijeron en la plataforma RNAhybrid (<https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/rnahybrid/>). Se realizó la determinación de las interacciones entre los miRNA (Consulta) y las regiones 3'UTR de los virus (objetivos), según la tabla 5.

Tabla 5: Interacciones realizadas

<b>Especie miRNA de consulta</b>	<b>Objetivos</b>
<b><i>Homo sapiens</i></b> <b><i>Aedes aegypti</i></b>	DENV1, DENV2, DENV3, DENV4, ZIKV, YFV
<b><i>Homo sapiens</i></b> <b><i>Culex quinquefasciatus</i></b>	JEV, MVEV, USUV, MNV1, MNV2

De los resultados obtenidos se realizó un análisis exploratorio de datos, para evaluar su comportamiento, acorde a esto se realizó, un análisis de correlación basados en la energía libre mínima de hibridación (MFE; kcal/mol). Se empleó el coeficiente de correlación de Spearman para comparar las interacciones entre los miRNA y las 3'UTR de los distintos *flavivirus*. Correlaciones cercanas a 1 indicaban asociaciones positivas, sugiriendo que un MFE más bajo conducía a interacciones más fuertes con virus específicos, implicando sitios de unión de miRNA compartidos entre ellos. Por el contrario, correlaciones débiles cercanas a -1 implicaban asociaciones negativas, lo que indicaba que un MFE más alto daba lugar a interacciones más débiles entre el miRNA y los virus correlacionados, probablemente debido a la falta de sitios de unión comunes. Una correlación cercana a cero indicaba la ausencia de una relación clara entre el MFE y las interacciones miRNA-3'UTR.

Se conservaron los miRNAs que presentaron interacción con la región 3'UTR de todos los virus evaluados, así como un  $MFE \leq -20 \text{ kcal mol}^{-1}$  ( $-84 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) y un valor  $p < 0.05$ . Las correlaciones fueron evaluadas utilizando el lenguaje de programación R<sup>59</sup> y las interacciones se visualizaron con el programa Cytoscape.<sup>60</sup>

Para validar las interacciones de los miRNA conservados estas se realizaron nuevamente en las plataformas sTarMir (<https://sfold.wadsworth.org/cgi-bin/starmirtest2.pl>), miRanda (<http://www.microrna.org/microrna>) e Inta-RNA

([http://rna.informatik.unifreiburg.de/IntRNAA/Input.jsp?example=IntRNAA\\_2719983](http://rna.informatik.unifreiburg.de/IntRNAA/Input.jsp?example=IntRNAA_2719983)). En cada una de las plataformas, se ajustaron los parámetros descritos en la tabla 6, posteriormente se realizaron mapas de calor de los resultados, utilizando el entorno de R.

Tabla 6: Configuraciones realizadas en las plataformas de validación

Plataforma	Parámetro	Valor
RNAhibrid	Valor p aproximado	3utr_human * 3utr_fly °
	Modelo de predicción	V-CLIP based model (human) *°
sTarMir	Especie para predicción	Human ( <i>homo sapiens</i> ) *
		Other °
miRanda	umbral de energía de unión	-20 Kcal/mol *°
	umbral de puntuación	100 *°
	Apertura de huecos (GOP)	-9 *°
	extensión de huecos (GEP)	-4 *°
Inta-RNA	Número mínimo de pares de bases en semilla:	8 *°
	Número máximo de desajustes en semilla	2 *°

\* Configuración para miRNA de humano. °Configuración para miRNA de moquitos

### 5.3 Interacción y validación miRNA-mRNA

Los miRNAs que presentaron interacción con todos los genomas virales, en todas las plataformas, fueron propuestos para identificar sus interacciones con los mRNA de las células.

En el caso de humano los miRNAs conservados se ingresaron a la plataforma miRDB (<http://www.mirdb.org/>), esta plataforma predice los genes de las proteínas objetivo de los miRNAs en la célula, se contemplaron los 10 genes con la puntuación más alta para el análisis de ontologías; con el fin de validar dichas interacciones, se

descargó las secuencias de estos genes de NCBI y se realizó nuevamente la predicción en la plataforma RNAhybrid.

Para las especies de mosquitos se descargó el transcriptoma de ambas especies; *A. aegypti* (AegyptiLVP\_AGWG\_AnnotatedTranscripts.fasta), y *C. quinquefasciatus* (CquinquefasciatusJHB2020\_AnnotatedTranscripts.fasta) de la base de datos VectorBase (<https://vectorbase.org/vectorbase/app>), se realizó la predicción de las interacciones utilizando RNAhybrid y se consideraron los 10 genes con la puntuación más alta para el análisis de ontologías

#### **5.4 Análisis de Ontología (GO)**

De los mRNA encontrados se realizó el análisis de Ontología (GO) para la anotación funcional de genes y predicción de rutas bioquímicas. Para esto, se ingresaron las proteínas resultantes de los mRNA a la plataforma ShinyGo (<http://bioinformatics.sdstate.edu/go/>), en esta se seleccionaron las bases de datos GO biological Process, GO Cellular Component y GO Molecular Function; en las tres se fijó un FDR = 0.05 y se eliminaron las redundancias.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Set de datos

Se obtuvieron de NCBI 11 secuencias de *flavivirus* de las cuales 4, son serotipos de DENV y 2, serotipos de WNV, de miRBase se obtuvieron un total de 2693 miRNAs maduros de humano, 165 de *A. aegypti* y 93 de *C. quinquefasciatus*.

### 6.2 interacción miRNA-genomas virales

De las interacciones realizadas en RNAhybrid se obtuvieron los resultado presentados en la tabla 7, se muestran los miRNAs que presentaron interacción con por lo menos una región 3'UTR de *flavivirus*.

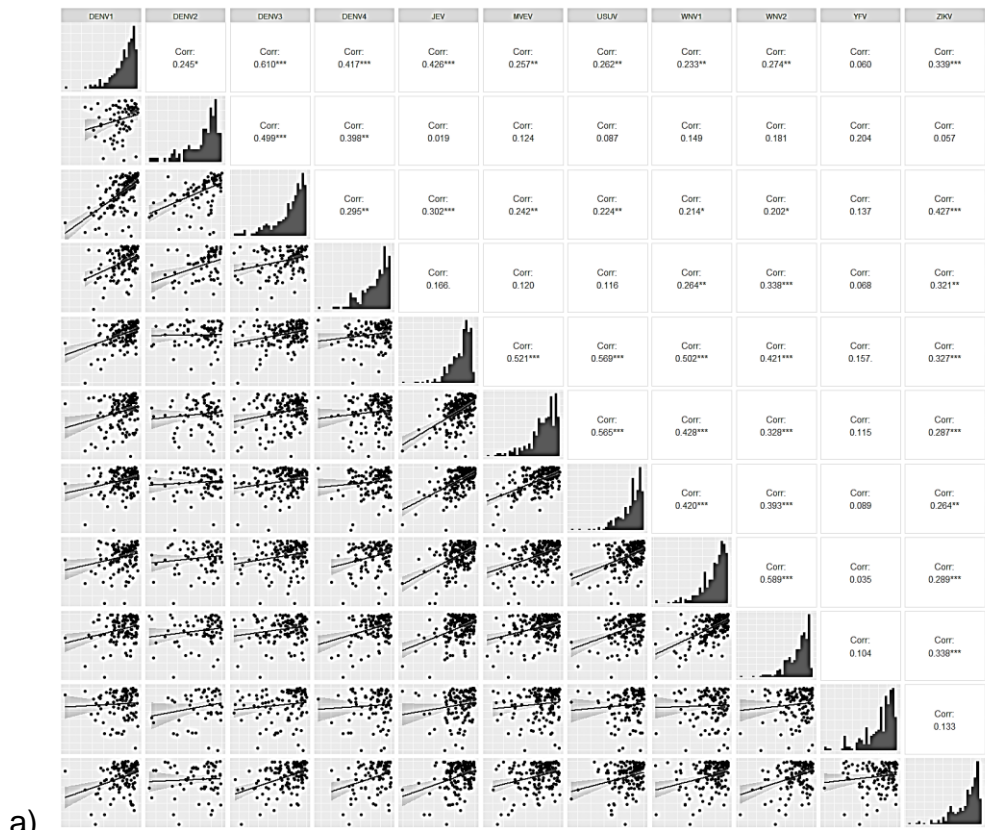
Tabla 7: Interacciones obtenidas en RNAHybrid

Consulta	Objetivo	Total miRNAs	Total interacciones
<b>Humano</b>	JEV, MVEV, USUV, WNV1, WNV2, DENV1, DENV2, DENV3, DENV4, YFV, ZIKV	792	2801
<b><i>C. quinquefasciatus</i></b>	JEV, MVEV, USUV, WNV1, WNV2	71	310
<b><i>A. Aegypti</i></b>	DENV1, DENV2, DENV3, DENV4, YFV y ZIKV	148	688

De estas interacciones se realizó un análisis exploratorio de datos, donde se observó que los datos no siguen una distribución lineal (fig. 5a-5c), ya que se observa un sesgo hacia la derecha, es decir la mayoría de las interacciones presentan valores cercanos al cero, indicando interacciones débiles entre miRNA y virus, basado en esto se realizó un análisis de correlación basados en la energía mínima libre de hibridación (MFE; kcal/mol), la cual indica que tan espontanea es la interacción, entre más negativa sea, más probable es que ocurra la interacción. Se

empleó el coeficiente de correlación de Spearman para comparar las interacciones entre los miRNA y las 3'UTR de los distintos *flavivirus*.

En el caso de humano se observó una fuerte correlación positiva entre los dos serotipos de WNV (0.83), mientras que, de los serotipos de dengue, DENV1-DENV3 (0.57) son que presenta una correlación significativa, todas estas correlaciones sugieren una alta afinidad del miRNA con la 3'UTR del genoma del *flavivirus* y en consecuencia sitios de unión parecidos entre ellos, por otro lado, DENV1-YFV (0.0) y JEV-DENV2(0.0) no presentan correlación, sugiriendo así una afinidad poco clara del miRNA con la 3'UTR. Finalmente, DENV2-DENV1 (-0.06) prácticamente no presentan relación entre ellos, a la par las correlaciones DENV2-MVEV (-0.11), DENV4-YFV (-0.13) y USUV-YFV (-0.17), presentan una ligera correlación negativa lo que se traduciría como sitios de unión diferente. En el caso de *A. Aegypti*, DENV1-DENV3 (0.69) es la correlación más significativa, mientras que DENV3-YFV (0.28) no presentan una correlación importante; con *C. Quinquefasciatus*, las correlaciones USUV-MVEV (0.60), MVEV-JEV (0.35); presentan respectivamente este mismo comportamiento.



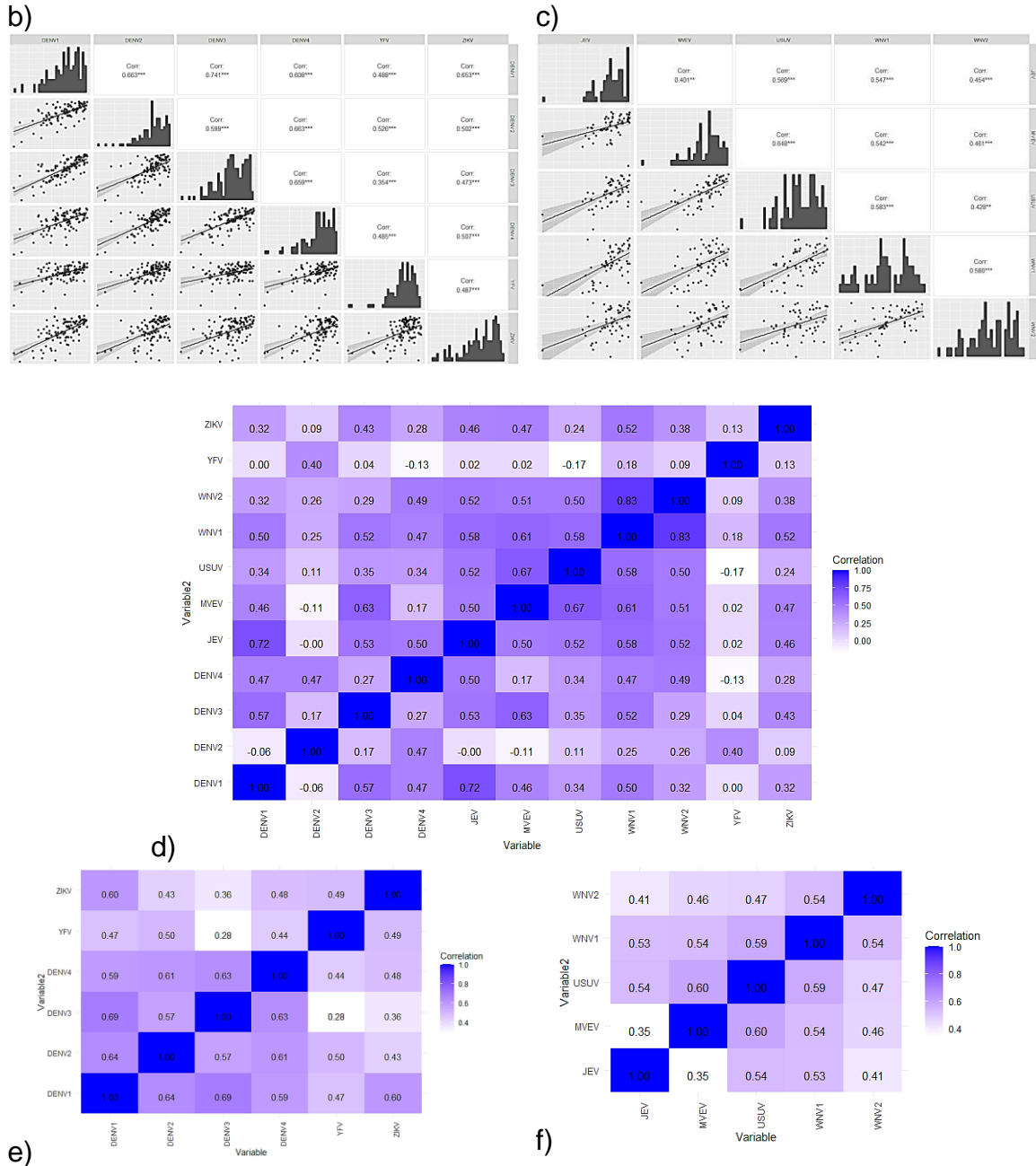


Figura 5: Análisis estadístico de las interacciones miRNA-3'UTR de *flavivirus*. Análisis exploratorio de datos a) humano, b) *A. aegypti*, c) *C. quinquefasciatus*; donde el diagrama de dispersión muestra una dispersión no lineal de los datos, la gráfica de frecuencias muestra un sesgo de los datos a la derecha, se presente también un análisis de correlación de Pearson, el cual no es una representación adecuada de datos. Análisis de correlación de Spearman, basados en el MFE de las interacciones entre los miRNA y las 3'UTR de los distintos *flavivirus*, d) humano, e) *A. aegypti*, f) *C. quinquefasciatus*.

De las interacciones obtenidas, de humano se conservaron 23 miRNAs (fig. 6A) de *C. quinquefasciatus* se seleccionaron 21 (fig. 6B) y de *A. Aegypti* se conservaron 33 (fig. 6C), todos estos presentaron interacción con todas las regiones 3'UTR evaluadas, un MFE  $\leq -20$  Kcal/mol y un valor  $p < 0,05$ .

De los miRNAs seleccionados, hsa-miR-6089 (-38.3), hsa-miR-6791 (-38.2) y hsa-miR-6756 (-36.1) para humano, aae-miR-263b-5p(-24.8), aae-miR-11-5p(-24.8), aae-miR-980-5p (-25.9) de *A. aegypti* y cqu-miR-79 (-38.4), cqu-miR-8(-25.3), cqu-miR-317(-22.9) de *C. quinquefasciatus*, mostraron las interacciones con las energías más negativas con la región 3'UTR de los *flavivirus* por lo que estos son los miRNAs que se presume presentaron una mayor interacción. Se evidencio también que las interacciones presentadas por los miRNAs de humano presentan valores MFE por debajo de -35.12 Kcal/mol en comparación a las interacciones presentadas por los miRNAs de ambas especies de mosquitos, las cuales presentan interacciones por arriba de este valor, lo que se puede entender que los miRNAs de humano presenta mayora afinidad por las regiones 3'UTR de los *flavivirus* en comparación que los miRNAs de mosquitos.

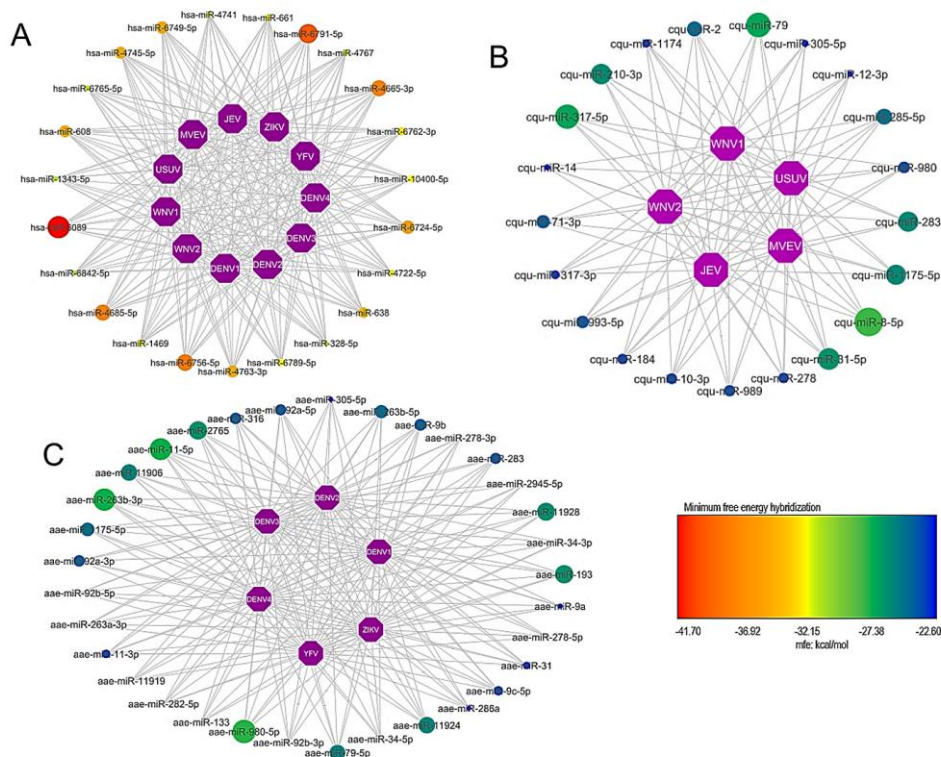
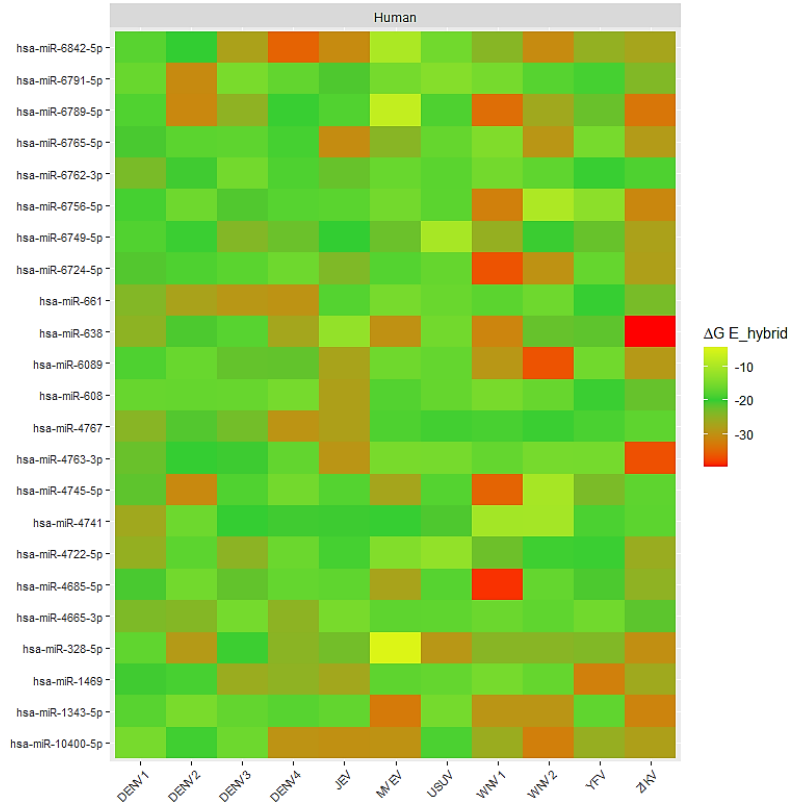


Figura 6: Red de interacción entre las regiones 3'UTR de *flavivirus* y miRNAs en RNAhybrid. Los círculos con diámetro más grandes representan valores MFE más negativos en los resultados por especie y el color de este a los resultados a nivel general, todo los miRNAs observados presentaron interacción con todos las regiones 3'UTR evaluadas,  $MFE < -20$  y valor  $p < 0.05$ . A – Red de interacciones de miRNAs de humano, B – Red de Interacción de miRNA de *C. quinquefasciatus*, C – Red de Interacción de miRNA de *A. aegypti*.

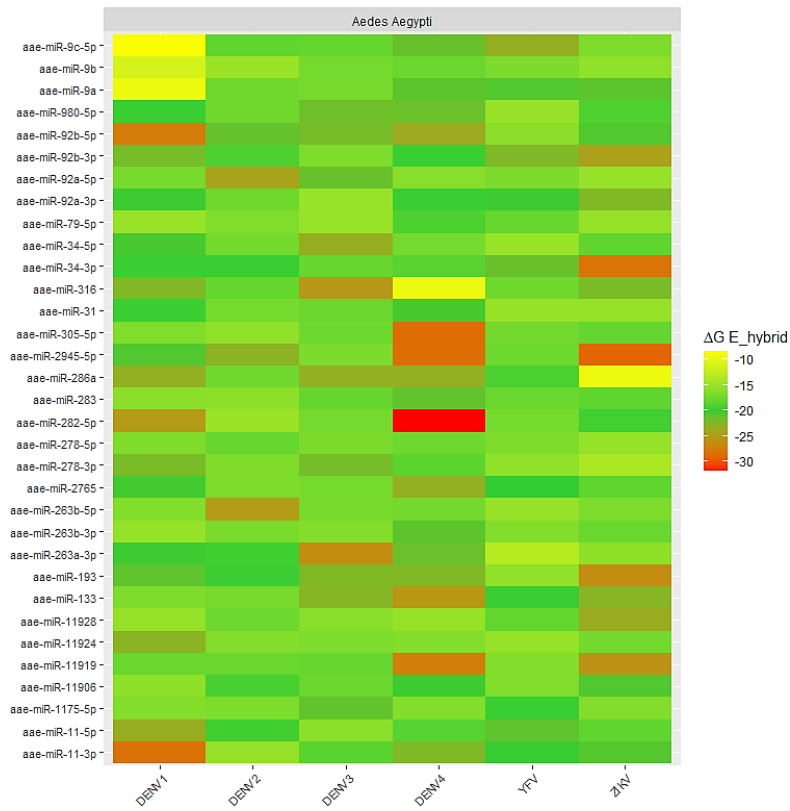
De los miRNAs seleccionados se ejecutó nuevamente la predicción de las interacciones en tres diferentes plataformas (sTarMir, RNA e Inta-RNA) siguiendo las condiciones y configuración previamente descritas con el fin de validar las interacciones arrojadas por RNAhybrid.

El algoritmo STarMir evalúa las estructuras secundarias de las secuencias evaluadas, predice el sitio de unión de estas y devuelve una respuesta de la interacción como  $\Delta G$  de la energía de hibridación, (equivalente al MFE) obteniendo respuesta en todas las predicciones. En esta plataforma las interacciones de los miRNAs de humano (fig. 7a) que presentaron un  $\Delta G$  más negativo fueron hsa-miR638|ZIKV y hsa-miR-4885-5p|WNV1, por otro lado, la interacción hsa-miR-328-5p|MVEV es la que presento el  $\Delta G$  más positivo. Además de eso ZIKV fue quien presento las interacciones con los  $\Delta G$  más negativos en contraposición a USUV que presento los  $\Delta G$  más positivos, mientras que los miRNAs, hsa-miR-10400-5p y hsa-miR-6762-3p mostraron este mismo comportamiento respectivamente.

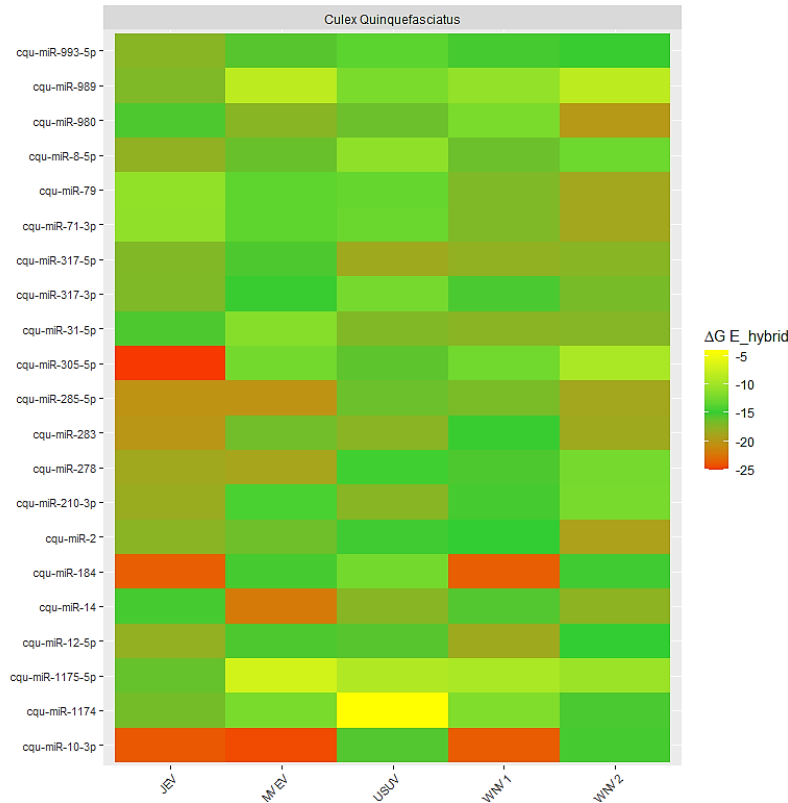
Para los miRNAs de *A. Aegypti* la interacción que presento el  $\Delta G$  más negativo fue aae-miR-282-5p|DENV4, por otro lado, las interacciones aae-miR-9c-5p/DENV1, aae-miR-9a|DENV1, aae-miR-316|DENV4 y aae-miR-286a|ZIKV son las que presentan el  $\Delta G$  más positivo, para el caso de *C. Quinquefasciatus* cqu-miR-10-3p y JEV mostraron el  $\Delta G$  más negativo en sus interacciones, en contraste con cqu-miR-1175-5p y USUV con el  $\Delta G$  más positivo de todas las interacciones realizadas en esta especie (fig. 7c).



a)



b)



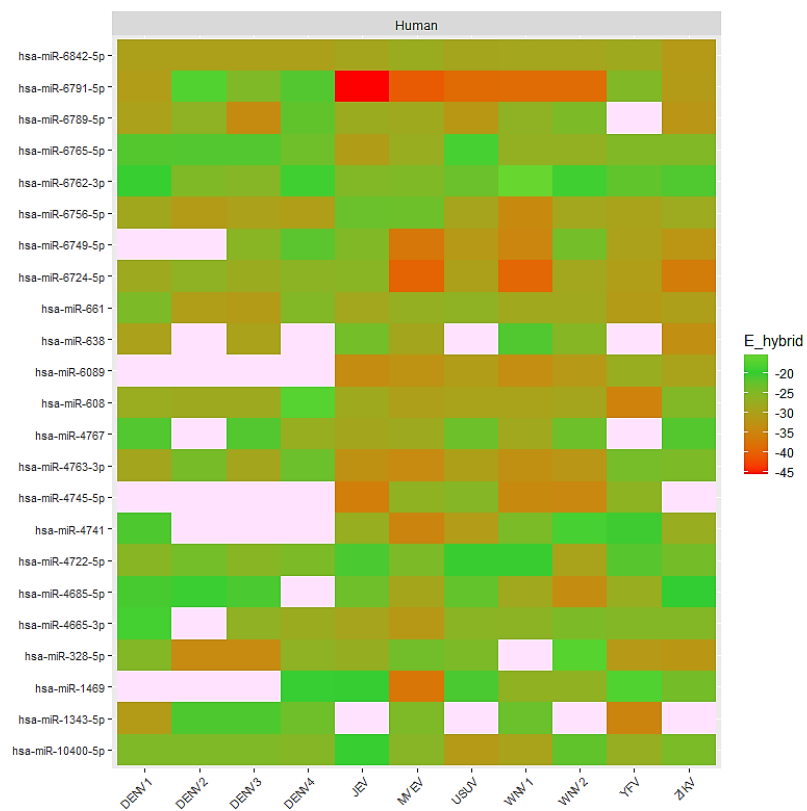
c)

Figura 7: Heatmap de interacciones en sTarMir. El algoritmo STarMir devuelve una respuesta como  $\Delta G$  de la energía de hibridación, obteniendo respuesta en todas las predicciones. a) Interacciones de miRNAs de humano, b) Interacciones de miRNAs de *A. Aegypti*, c) interacciones de miRNAs de *C. quinquefasciatus*.

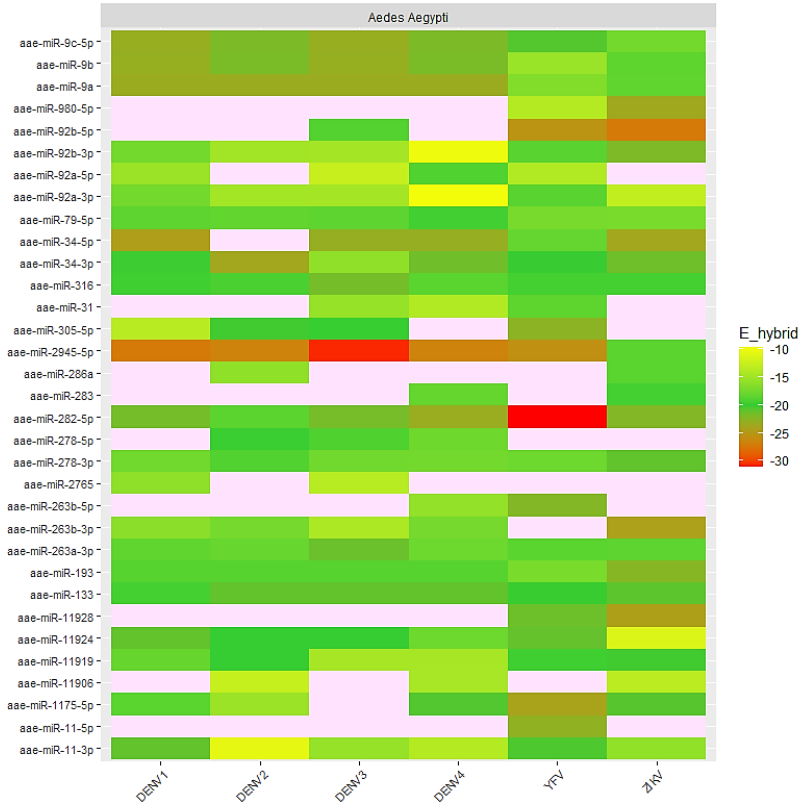
La plataforma miRanda da prioridad a los heterodúplex que se pueden presentar en la interacción predicha y presenta resultados como energía de hibridación; de las interacciones de los miRNAs de humano (fig. 8a), el miRNA hsa-miR-4745-5p es el que presenta el menor número de interacciones (6), mismo caso con DENV2 que presento 8 interacciones sin resultados, por otro lado, hsa-miR-6791-5p, es el miRNA que presenta las energías de hibridación con los valores más negativos.

*A. aegypti*, es de las tres especies, el que presenta más interacciones sin resultados, así como la energía de hibridación con los valores más positivos, aae-miR-2945-5p y aae-miR282-5p son los miRNAs que presentan las interacciones con los valores más negativos, en contraposición a aae-miR-11-5p que presento solo un resultado en todas las interacciones realizadas, por el otro lado, DENV1 y DENV2 son los

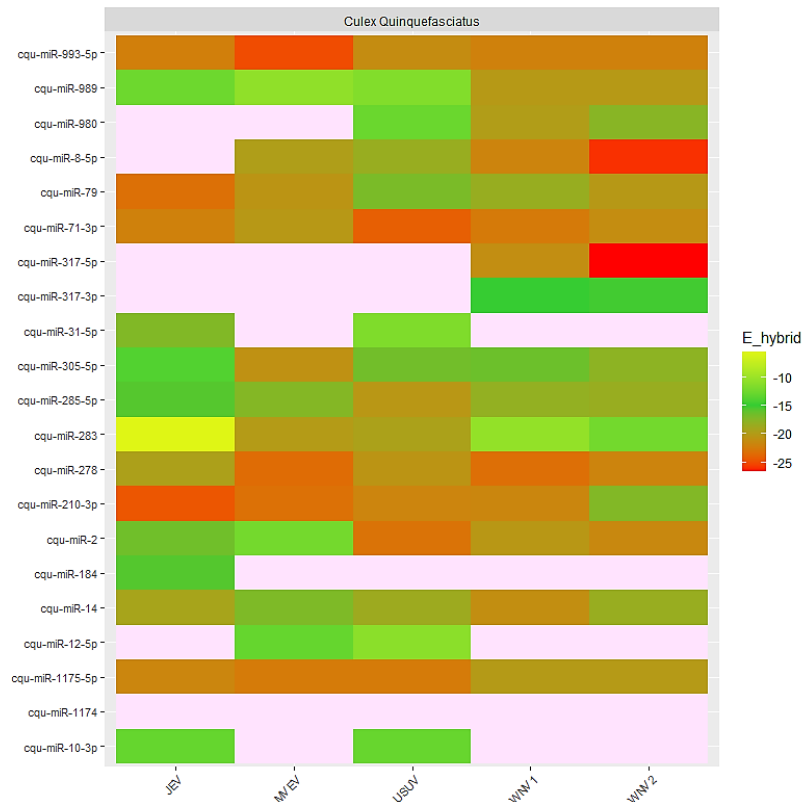
virus que presentan la mayor cantidad de interacciones con resultados (fig. 8b). Finalmente *C. quinquefasciatus* presenta el miRNA cqu-miR-1174 sin resultados en las interacciones, mientras que cqu-miR-993-5p y cqu-miR-210-3p son los que presentan los valores más negativos, en tanto que WNV2 presenta las dos interacciones con los valores más negativos (fig. 8c).



a)



b),

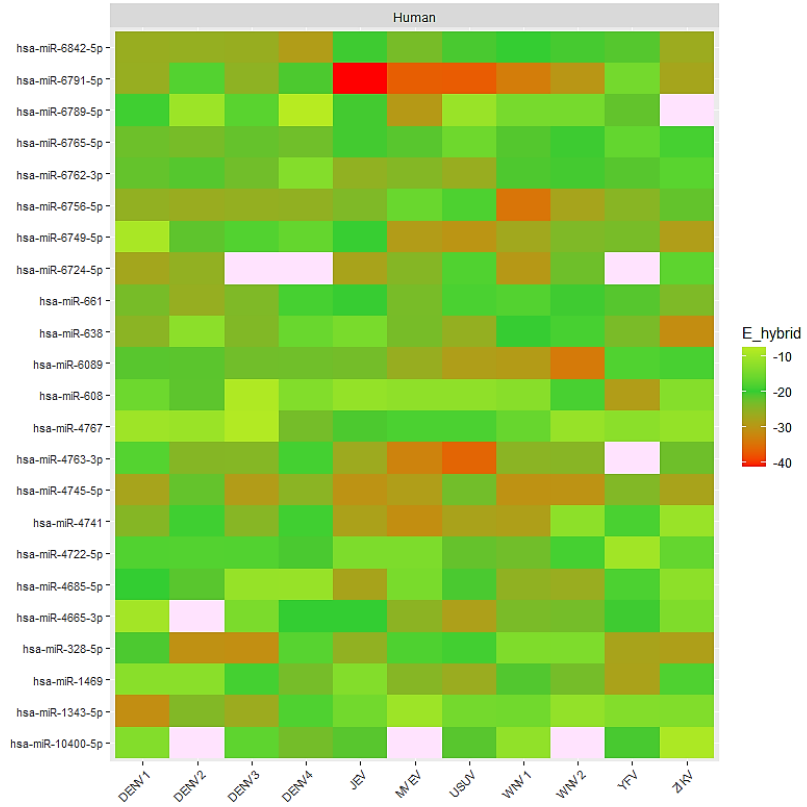


c)

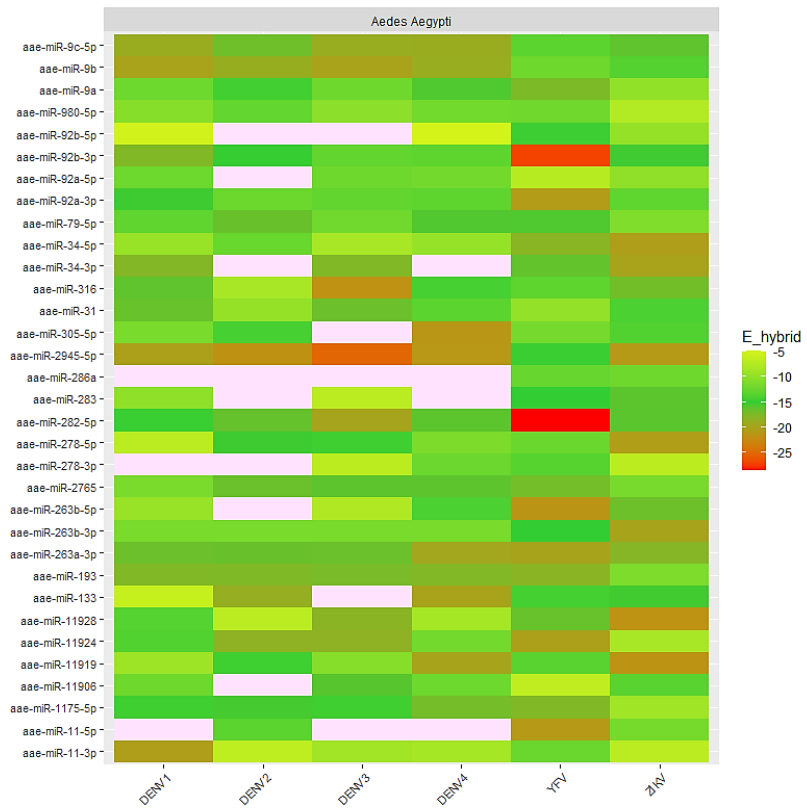
Figura 8: Heatmap de interacciones en miRanda. Este algoritmo arroja un resultado como energía de hibridación, presentando interacciones sin resultado, representados en color rosa. a) Interacciones de miRNAs de humano, b) Interacciones de miRNAs de *A. Aegypti*, c) interacciones de miRNAs de *C. quinquefasciatus*.

Por último, la plataforma Inta-RNA basa sus predicciones en la energía que se requiere para desplegar el sitio de unión de ambas moléculas y la energía para realizar la hibridación, presentando el mismo comportamiento que la plataforma anterior arrojando interacciones sin resultado, nueve para el caso de humano (fig. 9a), de las cuales hsa-miR-6724-5p y hsa-miR-10400-5p presentan tres cada uno y los virus DENV2 y YFV dos cada uno, por otro lado, la interacción hsa-miR-6791-5p|JEV presento la interacción con la energía de hibridación más negativa, y en general es el miRNA que presenta las interacciones con la energía más negativa,

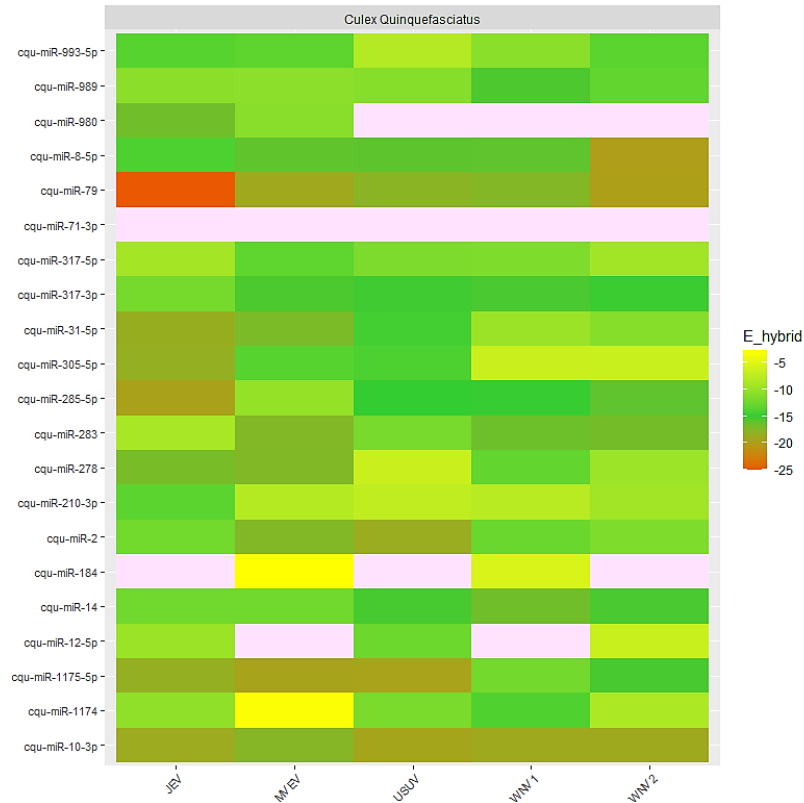
Para *A. Aegypti* 11 miRNAs no obtuvieron resultado en por lo menos una interacción, siendo el miRNA aae-miR-286a quien presento solo dos interacciones, DENV2 fue el virus que más interacciones sin resultados con un total de 8, caso contrario a ZIKV y YFV los cuales presentaron interacción con todos los miRNAs, este último presentando la energía más negativa en su interacción con los miRNAs aae-miR282-5p, aae-miR-92b-5p. Con *C. quinquefasciatus*, la interacción cqu-miR-79|JEV fue la interacción con la energía de hibridación más negativa, el miRNA cqu-miR-71-3p no presentó ninguna interacción, y los miRNAs cqu-miR-980 y cqu-miR-184 no presentaron tres de las cinco interacciones realizadas, de los virus; USUV, WNV1 y WNV2 también presentaron tres interacciones sin resultados.



a),



b),



c),

Figura 9: Heatmap de interacciones en INTA-RNA. Este algoritmo arroja un resultado como energía, presentando interacciones sin resultado, representados en color rosa. a) Interacciones de miRNAs de humano, b) Interacciones de miRNAs de *A. Aegypti*, c) interacciones de miRNAs de *C. quinquefasciatus*.

Al observar los resultados de todas las plataformas se obtuvo miRNAs que presentaron todas las interacciones en las cuatro plataformas evaluadas, 8 el caso de humano, 14 en *A. Aegypti* y 12 para *C. quinquefasciatus* (Tabla 8), de estos miRNAs, se realizó la búsqueda de sus mRNA blancos en las células.

Tabla 8: miRNAs con interacciones en las cuatro plataformas de predicción

<b>Humano</b>	<b><i>Aedes aegypti</i></b>		<b><i>Culex quinquefasciatus</i></b>	
miR-4722-5p	miR-11-3p	miR-316	miR-1175-5p	miR-285-5p
miR-608	miR-11919	miR-79-5p	miR-14	miR-305-5p
miR-661	miR-11924	miR-92a-3p	miR-2	miR-71-3p
miR-6756-5p	miR-193	miR-92b-3p	miR-210-3p	miR-79
miR-6762-3p	miR-263a-3p	miR-9a	miR-278	miR-989
miR-6765-5p	miR-282-5p	miR-9b	miR-283	miR-993-5p
miR-6791-5p	miR-2945-5p	miR-9c-5p		
miR-6842-5p				

### 6.3 Interacción miRNA-mRNA

Al realizar las predicciones de los mRNA objetivos de los miRNAs propuestos (Anexo 1), en el caso de humano, de las interacciones resultantes se obtuvieron 4 proteínas que presentaron interacción con mínimo dos miRNAs (Tabla 9), se observó que la secuencia de reconocimiento del miRNA hsa-mir-608, está presente en tres de las cuatro proteínas rescatadas, resaltando la proteína NFIC que presenta actividad dentro del proceso de replicación de adenovirus.

Tabla 9: Proteínas objetivo de más de dos miRNAs de humano

<b>Proteína</b>	<b>Descripción</b>	<b>miRNAs</b>
<b>IQSEC2</b>	Factor de intercambio de nucleótidos de guanina para las proteínas de unión a GTP ARF	hsa-mir-608 hsa-mir-6756-5p hsa-mir-6842-5p
<b>NFIC</b>	Reconoce y se une a la secuencia palindrómica 5'-TTGGCNNNNNGCCAA-3' presente en promotores celulares y en el origen de replicación del adenovirus tipo 2.	Hsa-mir-608 hsa-mir-6756-5p hsa-mir-6842-5p
<b>MDGA1</b>	Puede funcionar inhibiendo la actividad de NLGN2.	Hsa-mir-608 hsa-mir-6791-5p
<b>IL1RAP</b>	Correceptor de IL1RL2 en el sistema de señalización IL-36	hsa-mir-6762-3p hsa-mir-6791-5p

Con *A. Aegypti* de las proteínas objetivo (Anexo 2) se observaron 7 proteínas como objetivo de dos miRNAs cada una, es de mención que las proteínas A0A6I8TB27 y A0A6I8TAR8, presentan la misma actividad, y ambas también son objetivo de miR-9c-5p (Tabla 10).

Tabla 10: Proteínas objetivo de más de dos miRNAs de *A. Aegypti*

<b>Proteína</b>	<b>Descripción</b>	<b>miRNAs</b>
<b>A0A0P6IUE5</b>	Actividad catalítica (guanilato ciclasa)	miR-11-3p miR-9b
<b>A0A903U949</b>	Elemento de la vía de señalización TORC1 que actúa como mediador de diversas señales y que reprime la transcripción de la RNA polimerasa III.	miR-11-3p miR-79-5p
<b>A0A903VK54</b>	Proteína que contiene el dominio de la región de unión al ligando del receptor	miR-11924 miR-2945-5p
<b>A0A903VMD1</b>	Subtipo de receptor NMDA de canales iónicos activados por glutamato con alta permeabilidad al calcio y sensibilidad al magnesio dependiente del voltaje	miR-11924 miR-316
<b>A0A6I8TB27</b>	Proteína que contiene dominio tipo C3H1	miR-282-5p miR-9c-5p
<b>A0A6I8TAR8</b>	Proteína que contiene dominio tipo C3H1	miR-316 miR-9c-5p
<b>A0A089Z WV3</b>	Media la permeabilidad de los iones de sodio dependiente del voltaje de las membranas excitables.	miR-92a-3p miR-9a

*C. Quinquifasciatus* en sus blancos (Anexo 3) mostro al igual que humano 4 proteínas que comparten miRNAs, se observa que miR-993-5p se une a las cuatro proteínas, además para el caso de B0WH17 y B0WL15, comparte unión con miR-210-3p (Tabla 11).

Tabla 11: Proteínas objetivo de más de dos miRNAs de *C. Quinquefasciatus*

Proteína	Descripción	miRNAs
<b>B0WH17</b>	Proteasa m1 metaloproteasa de zinc	miR-210-3p miR-993-5p
<b>B0WL15</b>	Proteína 2 de resistencia a múltiples fármacos	miR-210-3p miR-993-5p
<b>B0WNC5</b>	Receptor tipo B del ácido gamma-aminobutírico	miR-278 miR-993-5p
<b>B0W9C4</b>	Portador de piruvato mitocondrial	miR-305-5p miR-993-5p

#### 6.4 Análisis de ontologías (GO)

Se realizó el análisis de ontologías de las proteínas codificadas por los mRNA afectados por los miRNA (mostradas en los anexos), este análisis se dividió en tres aspectos; procesos biológicos, funciones celulares y ubicación en la célula.

En humano en el primer aspecto, se observan dos procesos impactados en mayor medida, por un lado, la señalización entre células, de manera particular en la señalización en las sinapsis y por el otro lado en la regulación negativa de la transcripción en varios niveles (fig. 10a), es interesante ver que el desarrollo de tejido adiposo se ve afectado en menor medida, se observan funciones relacionadas al proceso de regulación contemplados anteriormente, entre las que se notan la unión a secuencias específicas de DNA, unión a regiones reguladoras de transcripción, unión de la doble cadena de DNA (fig. 10b), por mencionar algunas. El análisis de la ubicación, arroja que las proteínas se encuentran en su mayoría en las membranas de los organelos, y de forma extracelular (en las sinapsis y en la unión entre células), otras se encuentran en la cromatina, y en menor medida en componentes celulares variados.

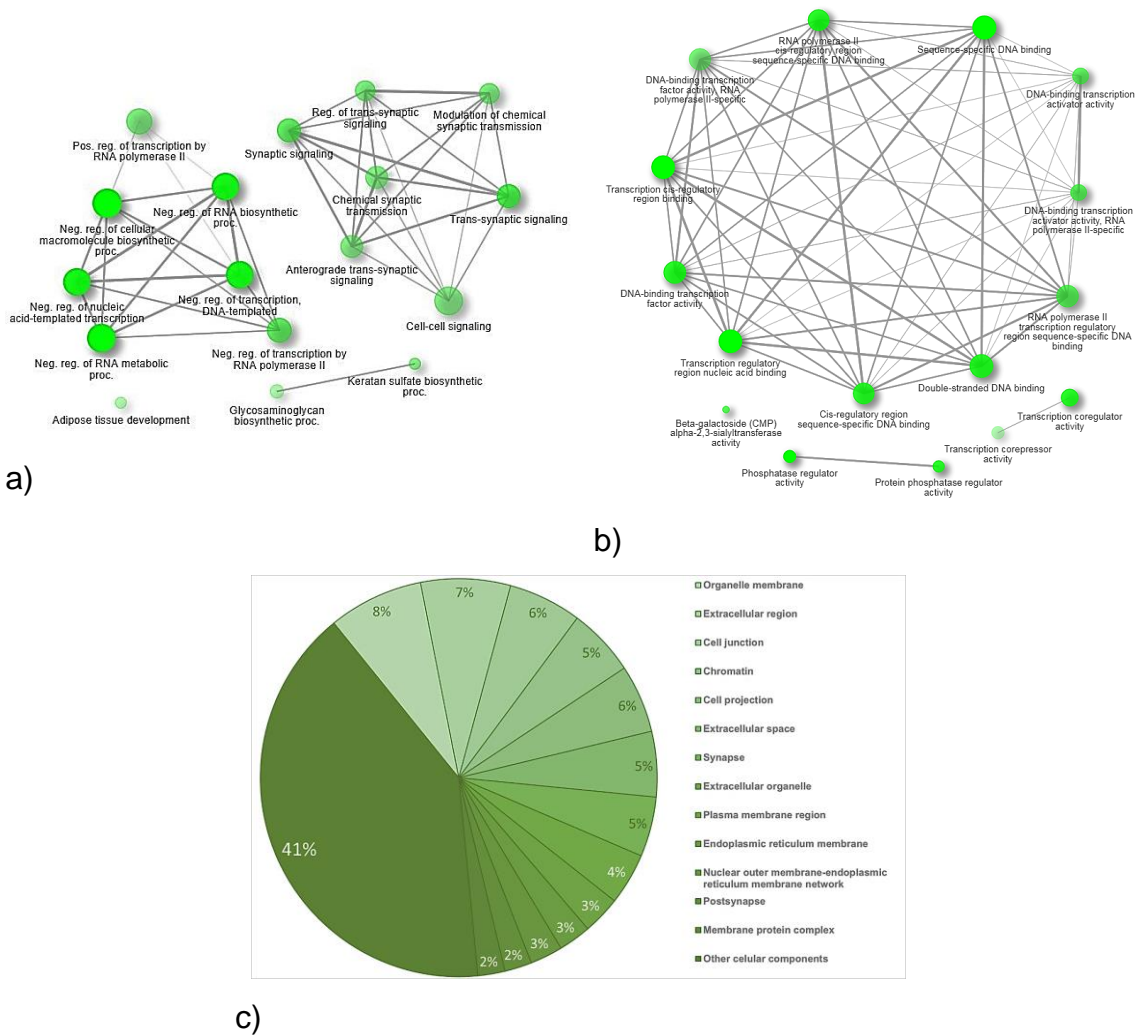


Figura 10: Ontologías de proteínas blanco de miRNAs de humano. a) Red de interacción de los procesos biológicos afectados por las proteínas evaluadas, se observan dos redes de proceso que no presentan relación entre ellas además de dos procesos que presentan relación entre ellos, pero no con las redes. b) Red de funciones celulares se observan la mayoría de las funciones relacionadas, dos pares de funciones relacionadas entre sí, pero independientes al resto y una función sin relación con ninguna otra, c) Recuento de componentes celulares donde se encuentran las proteínas evaluadas.

En *Aedes aegypti*, se observa que las proteínas, se encuentran presentes en lo que respecta a los procesos de regulación, en su mayoría negativa (biosíntesis de RNA, transcripción de DNA, producción de macromoléculas); dentro de sus funciones moleculares se pueden observar la regulación de los canales, la señalización de los

receptores transmembrana, actividades de receptores, todos estos interrelacionados, otras funciones que se ven afectadas son la regulación, co-regulación y co-represión de la actividad transcripcional, de su ubicación, es evidente que al igual que en humano, las proteínas se encuentran en su mayoría en las membranas de los organelos, y en la región extracelular.

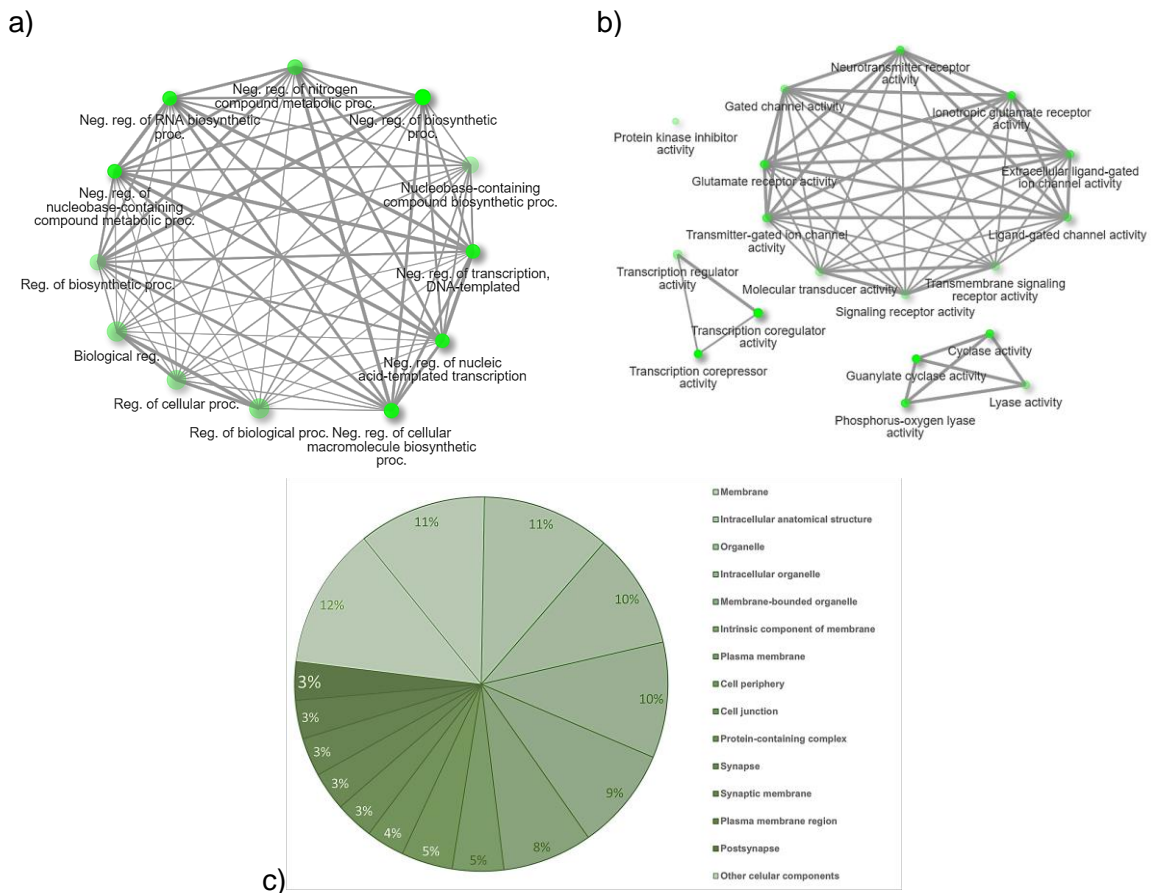


Figura 11: Ontologías de proteínas blanco de miRNAs de *A. Aegypti*. a) Red de interacción de los procesos biológicos, se observan todos los procesos relacionados entre sí. b) Red de funciones celulares se observa una red de funciones interrelacionadas, así como dos redes pequeñas que no presentan relación entre ellas. c) Recuento de componentes celulares donde se encuentran las proteínas evaluadas.

*C. quinquefasciatus* mostro que las proteínas blanco de los miRNA, se encuentran implicadas en los procesos de regulación en diferentes fases, entre las que se observan la actividad transferasa, fosforilación y quinasa, y al igual que los otros

dos organismos evaluados, estas proteínas se encuentran en su mayoría en las membranas celulares, en cuanto a sus funciones dentro de las células, se observa que la mayoría de las proteínas, presentan actividad catalítica, y de unión a compuestos orgánicos cíclicos o heterocíclicos, pero aparentemente estas actividades no presentan evidencia de relación entre ellas.

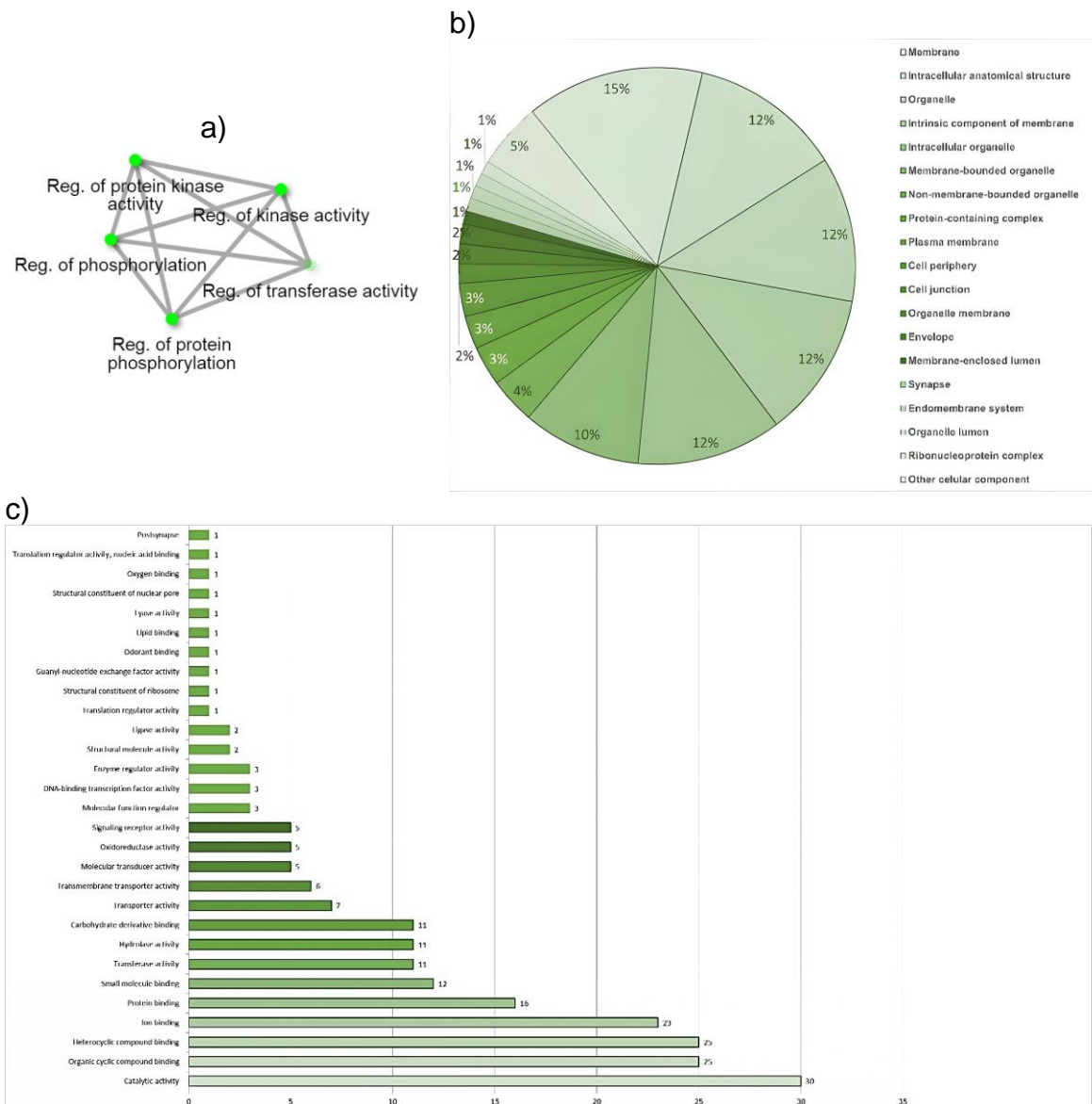


Figura 12: Ontologías de proteínas blanco de miRNAs de *C. quinquefasciatus*. a) Red de interacción de los procesos biológicos, se observan como resultado 5 procesos relacionados entre sí. b) Recuento de componentes celulares donde se encuentran las proteínas evaluadas. c) Recuento de funciones celulares de las proteínas evaluadas.

## 7 DISCUSIÓN

Los miRNAs tienen la capacidad de unirse a los genomas de especies de *flavivirus* en concreto, se ha demostrado por ejemplo miR-484, miR-744 y miR-133a facilitan la replicación de DENV en células Vero al apuntar y aumentar la 3'UTR del genoma<sup>61</sup> y se han propuesto a miR-133a, miR-484 y miR-744 que podrían regular negativamente la replicación de DENV al apuntar a la 3'UTR del genoma de DENV.<sup>62</sup>

Los *flavivirus* presentan un genoma RNA de cadena positiva, conservado en diferentes grados entre las diferentes especies,<sup>63</sup> por lo que se puede suponer que, los miRNAs tienen la capacidad de unirse a más de un tipo de *flavivirus*, esto abre aún más la posibilidad de aumentar el número de infecciones que se pretenden controlar, con la misma molécula, mediante su uso como vacunas, no obstante se ha investigado poco sobre esta aplicación, y su repercusión en los procesos normales de la célula.

Este estudio toma esto como base y mediante análisis bioinformáticas permite evaluar de manera más eficaz este tipo de interacciones, permitiendo así evaluar varios *flavivirus* de manera simultánea, además de incluir a los vectores (mosquitos) responsables de su trasmisión y no solo al huésped (humano) ya que el incremento de la contaminación, así como los cambios climáticos han propiciado que las poblaciones de vectores incrementen y con ello el aumento de las enfermedades causadas por estos virus.

Predecir mediante análisis bioinformáticas la interacción entre un miRNA y sus blancos es difícil ya que durante el proceso se enfrenta a situaciones complejas, iniciando con que los miRNA tiene la capacidad de unirse a una gran cantidad de mRNA y en consecuencia tienen una gran cantidad de blancos,<sup>64</sup> aunado a esto la presencia de heterodúplex; nucleótidos no emparejados en la región semilla,<sup>65</sup> dificulta aún más estas predicciones, esto último presento un reto en este estudio más adelante, sin embargo lo primero supone una ventaja pues no solo permitió

poner en evidencia que los miRNAs tiene la capacidad de unirse a regiones específicas del genoma de los *flavivirus* (la región 3'UTR en este caso) también permitió identificar miRNAs de humano que tienen la capacidad de unirse a las 11 regiones 3'UTR de los *flavivirus* evaluados, además con el análisis estadístico, se observó que estas interacciones presentan correlaciones que sugieren sitios de unión a miRNA conservados entre ellos<sup>66</sup> ya que presentan correlaciones positivas entre virus, mayormente entre los serotipos del mismo *flavivirus*, esto permite considerar miRNAs que interactúen con varios *flavivirus*, también notar las correlaciones negativas a las que se debe prestar atención, pues indican sitios de unión diferentes o poco conservados entre los *flavivirus* evaluados, proponiendo así que estos virus evolucionaron de maneras diferentes, estas diferencias nos permite visualizar un poco su historia evolutiva, como han evolucionado y la similitudes entre ellos.

En el análisis de los miRNAs de mosquitos, adicional a las situaciones expuestas anteriormente, el análisis se enfrentó a algoritmos diseñados para miRNAs de mamíferos y a la falta de algoritmos especializados, pero aun con estas limitantes, se logró observar interacciones de los miRNAs con los *flavivirus* y al igual que en humano, miRNAs que se unían a todas las regiones 3'UTR evaluadas; es importante mencionar que se sesgaron los *flavivirus* en función de la especie de mosquito, así mismo el análisis estadístico revelo correlaciones positivas entre los *flavivirus*, lo que podría indicar una afinidad invariable entre los miRNAs de mosquito y los *flavivirus*. Al comparar ambos análisis es de notar las diferencias entre las correlaciones de miRNAs humanos y miRNAs de mosquito, esto abre la posibilidad de una mayor exploración experimental, pues indican procesos de interacción diferentes.

Otro reto que se enfrenta al realizar estos análisis de interacciones es la aparición de falsos positivos o negativos<sup>67</sup> para contrarrestar esto es importante tomar en cuenta el grado de confiabilidad del algoritmo en donde se realizan las predicciones, de manera general todo los algoritmos, devuelven junto con la predicción un índice de confiabilidad, así, algoritmos más robustos permiten obtener resultados más

confiables; RNAhybrid devuelve como índice de confiabilidad un valor  $p$ ; en este estudio se colocó de manera arbitraria un valor  $p = 0.05$ , es decir cualquier interacción con un valor  $p$  por debajo de este valor fue considerado como un resultado estadísticamente significativo, es por demás mencionar que los miRNAs anteriormente mencionados cumplen esta condición en los tres organismos evaluados.

El validar una interacción permite dar mayor confiabilidad a que esta ocurra realmente en un sistema vivo, el uso de herramientas que presenten algoritmos de predicción diferentes permite evaluar la interacción desde diferentes perspectivas, confirmado y dando mayor soporte a la interacción.<sup>68</sup> Los miRNAs que presentaron interacción con todas las regiones 3'UTR, se sometieron nuevamente a la predicción de esas interacciones en tres algoritmos diferentes (sTarMir, miRanda, Inta-RNA), cada uno presenta una forma diferente de predecir los objetivos de miRNA.

En sTarMir los miRNAs de las tres especies obtuvieron datos, hay que destacar que este algoritmo devuelve un resultado como un  $\Delta G$  y como índice de confiabilidad un logaritmo de probabilidad es decir, calcula que tan espontánea es la interacción y que tan probable es que ocurra, por lo que los resultados de esta plataforma solo confirman que una interacción entre los miRNAs y las regiones 3'UTR son termodinámicamente favorables, sin embargo, este algoritmo predice sitios de unión fuera de la región semilla, por lo que devuelve la interacción más probable, pero que no necesariamente se da en la región semilla, otro punto observado es que los miRNAs de humano presentan  $\Delta G$  más negativos en comparación con los obtenidos por ambas especies de mosquitos, en otras palabras las interacciones entre los miRNAs de humano son más espontáneas que las observadas en los miRNAs de mosquitos, este comportamiento, se observó también en el análisis inicial en RNAhybrid, por lo que será interesante evaluar las razones de este fenómeno.

En las otras dos plataformas (miRanda e Inta-RNA), existieron interacciones que no presentaron resultado, esto genera dos posibilidades, la primera que efectivamente no exista la interacción y la segunda, que sea la configuración de la propia

plataforma; el número de nucleótidos en la región semilla, y el número de bases emparejadas en los heterodúplex, originan la necesidad de configuraciones muy específicas para la obtención de resultados en una interacción, al utilizar una sola configuración para todas las interacciones, se abre la posibilidad de que la ausencia de resultados se deba más a una configuración no adecuada, que a la ausencia propia de la interacción. Sin embargo, el realizar una configuración específica para cada interacción es forzar la interacción y en consecuencia falsos positivos.

miRanda, calcula las interacciones de manera similar a RNAhybrid ya que devuelve un resultado como energía de hibridación, pero el índice de confiabilidad es un porcentaje de probabilidad, así nos indica que tan probable es la interacción dentro de una configuración arbitraria, este algoritmo al igual que sTarMir predice sitios fuera de la región semilla, la diferencia radica en que este último predice la mejor interacción posible y miRanda solo predice la interacción en base a la configuración dada.

De los tres algoritmos utilizados, inta-RNA predice las interacciones de una forma bastante particular, ya que este algoritmo, basa sus predicciones en un balance de energías, por un lado, la energía para desplegar los sitios de interacción y por el otro la energía necesaria para realizar la hibridación; tomando en cuenta la configuración programada, todo esto en la región semilla, la interacción es más óptima, mientras más negativa sea la energía total y la energía de hibridación; cuando la interacción no es óptima, simplemente no la muestra.

Al conjuntar los resultados de los cuatro algoritmos se observó que sólo ocho miRNAs humanos seguían mostrando interacción con las once secuencias 3' UTR. Como era de esperar, debido a las diferencias en cuanto al tipo de resultados arrojados por cada algoritmo, los datos de MFE mostraron variabilidad. Sin embargo, miR-6842-5p y miR-661 mostraron una gran similitud en los resultados de las predicciones, de estos, miR-661 se tiene antecedente de su participación dentro del proceso de infección de algunas especies evaluadas en este estudio (DENV), por lo que resulta prometedor su aplicación en el resto de los *flavivirus* valorados.<sup>69</sup>

Por el lado de los mosquitos, se observó que 14 miRNAs de *A. Aegypti* y 12 de *C. quinquefasciatus*, siguieron mostrando interacción con las regiones 3'UTR evaluadas, sin embargo, en todos los algoritmos se observaron valores más positivos en comparación con los datos arrojados por los miRNAs de humano. Esta diferencia puede atribuirse a que los programas no fueron diseñados originalmente para miRNAs de invertebrados como se mencionó en un inicio; destacan entre los miRNAs del mosquito *A. Aegypti*, miR-9-C, miR-2945-5p, miR-1124 y miR-282-5p y de *C. Quinquefasciatus*, miR-79, todos estos mostraron predicciones MFE consistentes a través de los diferentes algoritmos. Con todo esto estos miRNAs se convierten en candidatos potenciales para futuras investigaciones.

Los efecto positivo o negativo de los miRNA celulares sobre la replicación del virus es causado por una interacción directa del miRNA con el genoma del virus o por la regulación de factores celulares que son importantes en la replicación del virus,<sup>70</sup> razón por la cual observar el papel de los miRNAs dentro de los procesos celulares, permite examinar la relación de la actividad de estos miRNAs, con procesos de infección viral.

En este estudio se evaluó las proteínas blanco de estos miRNAs dentro de la célula y en los miRNAs de humano evaluado, sorprendentemente hsa-mir-608, mostro gran presencia en estos resultados, al compartir tres proteínas como blanco, este miRNA, se conoce que desempeña un papel importante en varias enfermedades relacionadas con la inflamación<sup>71</sup> e infecciones por virus del herpes (HSV-1),<sup>72</sup> por lo que es intrigante observar cómo también puede estar relacionado en el proceso de infección de los *flavivirus*; al observar más detalladamente las proteínas compartidas como blanco entre miRNAs, se observa que MDGA1 se presenten en las comunicaciones entre las células neuronales, esto es curioso ya que algunos de los *flavivirus* evaluados, presentan afección en tejidos neurológicos,<sup>73,74</sup> estas observaciones arrojan interrogantes sobre la interacción virus-miRNA-proteína dentro de estos tejidos durante el proceso de infección viral.

Esta parte del estudio en los mosquitos se enfrentó nuevamente a la falta de plataformas especializadas para evaluar las interacciones entre los mRNA y los

miRNAs, añadiendo que a diferencia del proteoma de humano, el de mosquito aún se encuentra en construcción,<sup>75,76</sup> por lo que algunas de las proteínas identificadas como blanco de varios miRNAs, aún se encuentran en proceso de caracterización por lo que sus funciones son aún desconocidas, al igual se observó que los miRNA, comparten más proteínas blanco, esto podría deberse a la complejidad propia del genoma del mosquito y de los propios miRNAs.

Asimismo, se observó que las proteínas en común en los miRNAs de las tres especies se encuentran ubicadas en las membranas celulares, esto resulta notable ya que los procesos de replicación de los *flavivirus* se llevan en mayor parte en las membranas del retículo endoplasmático y en el aparato de Golgi, agregando además el proceso de unión y liberación del virus en las membranas plasmáticas, por mencionar la proteína MDGA1 se encuentra unida a la membrana postsináptica y bloquea la interacción de NL2 con NRX y suprime el desarrollo de sinapsis inhibitoria,<sup>77</sup> esto abre la posibilidad que las proteínas encontradas se vean afectada en la infección de un *flavivirus*.

## 8 CONCLUSIÓN

Los miRNA tienen la capacidad de unirse a la región 3'UTR de no solo un *flavivirus*, sino que son capaces de unirse a un número mayor de estos, por lo que su uso como métodos de diagnóstico o para el desarrollo de terapias se observa prometedor.

Se observa que los *flavivirus* presentan sitios de unión conservados entre ellos ya que la correlación en el comportamiento sus interacciones con miRNA es evidente. En las interacciones entre *flavivirus* y miRNA de mosquitos, las correlaciones positivas sugieren una fuerte afinidad, a diferencia de las interacciones humanas con varios *flavivirus* que muestran correlaciones negativas.

Las predicciones de interacciones deben ser evaluadas con precaución, ya que los miRNAs que se unen a todos los *flavivirus* evaluados encontrados inicialmente, se redujo significativamente al ser evaluados en diferentes plataformas.

La predicción de interacciones en las cuatro plataformas arrojó a miR-6842-5p y miR-661 de humano, miR-9-C, miR-2945-5p, miR1124 y miR-282-5p de *A. Aegypti*. y de *C. Quinquefasciatus*, miR-79, como candidatos para evaluar su interacción con los *flavivirus* de manera experimental.

Los miRNAs comparten proteínas como blanco y se percibió que estas presentan actividades similares, las anotaciones arrojan que estas se encuentran muy relacionadas con procesos de regulación, resulta intrigante puesto que se podría inferir que estas proteínas participan de alguna forma en el proceso de infección viral, sumando a esto que la mayoría de estas se encuentran presentes en las membranas donde ocurre el proceso de infección viral; por lo cual se debe prestar atención a estas proteínas en futuras investigaciones.

## 9 PERSPECTIVAS

La función de los miRNAs dentro de los procesos biológicos aún no se conoce en su totalidad por lo que aún se está descubriendo el potencial que estos podrían tener, en el tratamiento de múltiples afecciones,

La relación y la participación de los miRNA dentro del proceso de infección de los flavivirus se encuentran vislumbrando, pero se observa que la participación de estos puede influir de manera significativa en el desarrollo o reducción de la infección.

Los blancos de mRNA celulares de los miRNA que tienen la capacidad de unirse directamente a los *flavivirus*, es otro punto a tomarse en cuenta, pues permite observar los procesos celulares que se ven afectados en por estos miRNA, y como estas proteínas afectan el proceso de infección viral

El uso de herramientas bioinformáticas ha permitió comprender de una formas más rápida y efectiva procesos muy complejos, permite evaluar de una forma más completa procesos interrelacionados de diferentes maneras, el desarrollo de nuevos y más robustos algoritmos ha permitido eficiente aún más los resultados arrojados por estos, además permiten dar mayor soporte a estos resultados. El uso de estas herramientas no pretende sustituir el uso de métodos experimentales, más bien pretende hacer que las evaluaciones experimentos sean más objetivas y eficientes.

Este trabajo pretende conocer la relación entre los miRNAs y los *flavivirus* y aportar un poco en el entendimiento de esta relación, aún falta muchas cosas que descubrir pero un mayor entendimiento de estas relaciones permitirá el desarrollo de nuevos y mejores tratamientos para las afecciones ocasionadas por estos virus. Para ello es necesario el desarrollo de nuevas herramientas de predicción que se enfoquen a más especies, no solo a las más conocidas, también es requerido el desarrollo de métodos experimentales que permitan validar estos resultados de una manera más eficiente.

## 10 BIBLIOGRAFÍA

- [1] Zhao, R., Wang, M., Cao, J., Shen, J., Zhou, X., Wang, D., & Cao, J. (2021). *Flavivirus: From Structure to Therapeutics Development*. Life (Basel, Switzerland), 11(7), 615. <https://doi.org/10.3390/life11070615>
- [2] Flint, J., Racaniello, V. R., Rall, G. F., Skalka, A. M., & Enquist, L. W. (2015). *Principles of Virology* (cuarta ed.). Washington, DC : ASM Press
- [3] Zhang, X., Zhang, Y., Jia, R., Wang, M., Yin, Z., & Cheng, A. (2021). Structure and function of capsid protein in *flavivirus* infection and its applications in the development of vaccines and therapeutics. *Veterinary research*, 52(1), 98. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00966-2>
- [4] Brinton MA, Disposito JH. Sequence and secondary structure analysis of the 5'-terminal region of *flavivirus* genome RNA. *Virology*. 1988 Feb;162(2):290-9. doi: 10.1016/0042-6822(88)90468-0. PMID: 2829420.
- [5] Villordo, S. M., & GamRNAik, A. V. (2009). Genome cyclization as strategy for *flavivirus* RNA replication. *Virus research*, 139(2), 230–239. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2008.07.016>
- [6] Gebhard, L. G., Filomatori, C. V., & GamRNAik, A. V. (2011). Functional RNA elements in the dengue virus genome. *Viruses*, 3(9), 1739–1756. <https://doi.org/10.3390/v3091739>
- [7] Manzano, M., Reichert, E. D., Polo, S., Falgout, B., Kasprzak, W., Shapiro, B. A., & Padmanabhan, R. (2011). Identification of cis-acting elements in the 3'-untranslated region of the dengue virus type 2 RNA that modulate translation and replication. *The Journal of biological chemistry*, 286(25), 22521–22534. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.234302>
- [8] Barrows, N. J., Campos, R. K., Liao, K. C., Prasanth, K. R., Soto-Acosta, R., Yeh, S. C., SchottLerner, G., Pompon, J., Sessions, O. M., Bradrick, S. S., & Garcia-Blanco, M. A. (2018). *Biochemistry and Molecular Biology of Flaviviruses*. *Chemical reviews*, 118(8), 4448–4482. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00719>

- [9] Vitali Proutski, Tamara S. Gritsun, Ernest A. Gould, Edward C. Holmes, Biological consequences of deletions within the 3'-untranslated region of *flaviviruses* may be due to rearrangements of RNA secondary structure, *Virus Research*, Volume 64, Issue 2, 1999, Pages 107-123, ISSN 0168-1702, [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(99\)00079-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(99)00079-9).
- [10] Zhang, X., Jia, R., Shen, H., Wang, M., Yin, Z., & Cheng, A. (2017). Structures and Functions of the Envelope Glycoprotein in *Flavivirus* Infections. *Viruses*, 9(11), 338. <https://doi.org/10.3390/v9110338>
- [11] Edeling M. A., Diamond, M. S., & Fremont, D. H. (2014). Structural basis of *Flavivirus* NS1 assembly and antibody recognition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(11), 4285–4290. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322036111>
- [12] Rastogi, M., Sharma, N., & Singh, S. K. (2016). *Flavivirus* NS1: a multifaceted enigmatic viral protein. *Virology journal*, 13, 131. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0590-7>
- [13] Velandia, M. L., & Castellanos, J. E. (2011). Dengue virus: structure and viral cycle. *Infectio*, 15(1), 33-43.
- [14] Lindenbach, B. D., & Rice, C. M. (2003). Molecular biology of *flaviviruses*. *Advances in virus research*, 59, 2362.
- [15] García, L.L., Padilla, L. & Castaño, J.C. (2017). Inhibitors compounds of the *flavivirus* replication process. *Viol J* 14, 95. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0761-1>
- [16] Apte-Sengupta, S., Sirohi, D., & Kuhn, R. J. (2014). Coupling of replication and assembly in *flaviviruses*. *Current Opinion in Virology*, 9, 134–142. doi:10.1016/j.coviro.2014.09.020
- [17] Selisko B, Peyrane FF, Canard B, Alvarez K, Decroly E. Biochemical characterization of the (nucleoside-2'O)methyltransferase activity of dengue virus protein NS5 using purified capped RNA oligonucleotides (7Me)GpppAC(n) and GpppAC(n). *J Gen Virol*. 2010 Jan;91(Pt 1):112-21. doi: 10.1099/vir.0.015511-0. Epub 2009 Sep 23. PMID: 19776234.

- [18] Kaufmann, B., & Rossmann, M. G. (2011). Molecular mechanisms involved in the early steps of *flavivirus* cell entry. *Microbes and infection*, 13(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2010.09.005>
- [19] Reid DW, Campos RK, Child JR, Zheng T, Chan KWK, Bradrick SS, et al. (2018). Dengue virus selectively annexes endoplasmic reticulum-Associated translation machinery as a strategy for co-opting Host Cell Protein synthesis. *J Virol.*;92(7). <https://doi.org/10.1128/JVI.01766-17>.
- [20] Welsch S, Miller S, Romero-Brey I, Merz A, Bleck CKE, Walther P, et al. Composition and three-dimensional architecture of the dengue virus replication and assembly sites. *Cell Host Microbe*. 2009;5(4):365–75
- [21] Diosa-Toro, M., Prasanth, K.R., Bradrick, S.S. et al. (2020). Role of RNA-binding proteins during the late stages of *Flavivirus* replication cycle. *Virology* 17, 60 <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01329-7>
- [22] Organización mundial de la salud (2021). Dengue y dengue grave. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
- [23] Organización mundial de la salud (2019). Fiebre amarilla. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/yellow-fever>
- [24] Organización panamericana de la salud (s.f.) Zika. Recuperado de: <https://www.paho.org/es/temas/zika>
- [25] Organización mundial de la salud (2019). Infección por el virus del Nilo Occidental. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/west-nile-virus>
- [26] Secretaría de salud (2021). Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmitidas por vector (etv).
- [27] Bartel, D. P. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *cell*, 116(2), 281-297.
- [28] Hussain, M., Torres, S., Schnettler, E., Funk, A., Grundhoff, A., Pijlman, G. P., Khromykh, A. A., & Asgari, S. (2012). West Nile virus encodes a microRNA-like small RNA in the 3' untranslated region which up-regulates GATA4 mRNA

- and facilitates virus replication in mosquito cells. *Nucleic acids research*, 40(5), 2210–2223. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr848>
- [29] Wong, R. R., Abd-Aziz, N., Affendi, S., & Poh, C. L. (2020). Role of microRNAs in antiviral responses to dengue infection. *Journal of biomedical science*, 27(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0614-x>
- [30] Krol, J., Loedige, I., & Filipowicz, W. (2010). The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nature reviews. Genetics*, 11(9), 597–610. <https://doi.org/10.1038/nrg2843>
- [31] Meister, G., & Tuschl, T. (2004). Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature*, 431(7006), 343-349.
- [32] Pillai, R. S., Bhattacharyya, S. N., & Filipowicz, W. (2007). Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms?. *Trends in cell biology*, 17(3), 118-126.
- [33] Drury, R. E., O'Connor, D., & Pollard, A. J. (2017). The clinical application of microRNAs in infectious disease. *Frontiers in immunology*, 8, 1182.
- [34] Vidigal, J. A., & Ventura, A. (2015). The biological functions of miRNAs: lessons from in vivo studies. *Trends in cell biology*, 25(3), 137–147. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2014.11.004>
- [35] Riffo-Campos, Á. L., Riquelme, I., & Brebi-Mieville, P. (2016). Tools for Sequence-Based miRNA Target Prediction: What to Choose?. *International journal of molecular sciences*, 17(12), 1987. <https://doi.org/10.3390/ijms17121987>
- [36] Mazière, P., & Enright, A. J. (2007). Prediction of microRNA targets. *Drug discovery today*, 12(11-12), 452–458. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.04.002>
- [37] Lu, T. X., & Rothenberg, M. E. (2018). MicroRNA. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 141(4), 1202–1207. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.08.034>
- [38] Trobaugh, D. W., & Klimstra, W. B. (2017). MicroRNA Regulation of RNA Virus Replication and Pathogenesis. *Trends in molecular medicine*, 23(1), 80–93. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.11.003>

- [39] Huang, J., Wang, F., Argyris, E., Chen, K., Liang, Z., Tian, H., Huang, W., Squires, K., Verlinghieri, G., & Zhang, H. (2007). Cellular microRNAs contribute to HIV-1 latency in resting primary CD4+ T lymphocytes. *Nature medicine*, 13(10), 1241–1247. <https://doi.org/10.1038/nm1639>
- [40] Bernier, A., & Sagan, S. M. (2018). The Diverse Roles of microRNAs at the Host-Virus Interface. *Viruses*, 10(8), 440. <https://doi.org/10.3390/v10080440>
- [41] Trobaugh, D. W., Gardner, C. L., Sun, C., Haddow, A. D., Wang, E., Chapnik, E., Mildner, A., Weaver, S. C., Ryman, K. D., & Klimstra, W. B. (2014). RNA viruses can hijack vertebrate microRNAs to suppress innate immunity. *Nature*, 506(7487), 245–248. <https://doi.org/10.1038/nature12869>
- [42] Song, L., Liu, H., Gao, S., Jiang, W., & Huang, W. (2010). Cellular microRNAs inhibit replication of the H1N1 influenza A virus in infected cells. *Journal of virology*, 84(17), 8849–8860. <https://doi.org/10.1128/JVI.00456-10>
- [43] Zhu, X., He, Z., Hu, Y., Wen, W., Lin, C., Yu, J., Pan, J., Li, R., Deng, H., Liao, S., Yuan, J., Wu, J., Li, J., & Li, M. (2014). MicroRNA-30e\* suppresses dengue virus replication by promoting NF- $\kappa$ B-dependent IFN production. *PLoS neglected tropical diseases*, 8(8), e3088. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003088>
- [44] Trobaugh, D. W., & Klimstra, W. B. (2017). MicroRNA Regulation of RNA Virus Replication and Pathogenesis. *Trends in molecular medicine*, 23(1), 80–93. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.11.003>
- [45] Bernier, A., & Sagan, S. M. (2018). The Diverse Roles of microRNAs at the Host-Virus Interface. *Viruses*, 10(8), 440. <https://doi.org/10.3390/v10080440>
- [46] Sharma, N., Kumawat, K. L., Rastogi, M., Basu, A., & Singh, S. K. (2016). Japanese Encephalitis Virus exploits the microRNA-432 to regulate the expression of Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS) 5. *Scientific reports*, 6, 27685. <https://doi.org/10.1038/srep27685>
- [47] Wu S, He L, Li Y, Wang T, Feng L, Jiang L, et al. miR-146a facilitates replication of dengue virus by dampening interferon induction by targeting TRAF6. *J Infect*. 2013;67(4):329–41. doi: 10.1016/j.jinf.2013.05.003.

- [48] Zhao, R., Wang, M., Cao, J., Shen, J., Zhou, X., Wang, D., & Cao, J. (2021). *Flavivirus: From Structure to Therapeutics Development*. *Life (Basel, Switzerland)*, 11(7), 615. <https://doi.org/10.3390/life11070615>
- [49] Muruato A.E., Shan C., Fontes-Garfias C.R., Liu Y., Cao Z.G., Gao Q., Weaver S.C., Shi P.Y. Genetic stability of live-attenuated Zika vaccine candidates. *Antivir. Res.* 2019;171:104596. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.104596.
- [50] Bonaldo M.C., Sequeira P.C., Galler R. The yellow fever 17D virus as a platform for new live attenuated vaccines. *Hum. Vaccines Immunother.* 2014;10:1256–1265. doi: 10.4161/hv.28117.
- [51] Barrett A.D.T. Yellow fever live attenuated vaccine: A very successful live attenuated vaccine but still we have problems controlling the disease. *Vaccine.* 2017;35:5951–5955. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.03.032.
- [52] Beck Y., Fritz R., Orlinger K., Kiermayr S., Ilk R., Portsmouth D., Pollabauer E.M., Low-Baselli A., Hessel A., Kolch D., et al. Molecular basis of the divergent immunogenicity of two pediatric tick-borne Encephalitis virus vaccines. *J. Virol.* 2016;90:1964–1972. doi: 10.1128/JVI.02985-15
- [53] Guy, B., Noriega, F., Ochiai, R. L., L'azou, M., Delore, V., Skipetrova, A., Verdier, F., Coudeville, L., Savarino, S., & Jackson, N. (2017). A recombinant live attenuated tetravalent vaccine for the prevention of dengue. *Expert review of vaccines*, 16(7), 1–13. <https://doi.org/10.1080/14760584.2017.1335201>
- [54] Heiss, B. L., Maximova, O. A., & Pletnev, A. G. (2011). Insertion of microRNA targets into the *flavivirus* genome alters its highly neurovirulent phenotype. *Journal of virology*, 85(4), 1464–1472. <https://doi.org/10.1128/JVI.02091-10>
- [55] Rehmsmeier, M., Steffen, P., Hochsmann, M., & Giegerich, R. (2004). Fast and effective prediction of microRNA/target duplexes. *RNA (New York, N.Y.)*, 10(10), 1507–1517. <https://doi.org/10.1261/rna.5248604>.
- [56] Martin Mann, Patrick R. Wright y Rolf Backofen. IntrRNA 2.0: predicción mejorada y personalizable de las interacciones RNA-RNA. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45 (W1), W435–W439.

- [57] Enright, A. J., John, B., Gaul, U., Tuschl, T., Sander, C., & Marks, D. S. (2003). MicroRNA targets in *Drosophila*. *Genome biology*, 5(1), R1. <https://doi.org/10.1186/gb-2003-5-1-r1>
- [58] Rennie, W.A., Liu, C., Carmack, C.S., Wolenc, A., Kanoria, S., Long, D. and Ding, Y. (2014) STarMir: a web server for prediction of microRNA binding Sites. *Nucleic Acids Res*, doi: 10.1093/nar/gku376
- [59] R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- [60] Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, Amin N, Schwikowski B, Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks *Genome Research* 2003 Nov; 13(11):2498-504
- [61] Cai, W., Pan, Y., Cheng, A., Wang, M., Yin, Z., & Jia, R. (2022). Regulatory Role of Host MicroRNAs in *Flaviviruses* Infection. *Frontiers in microbiology*, 13, 869441. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.869441>
- [62] Castillo, J. A., Castrillón, J. C., Diosa-Toro, M., Betancur, J. G., St Laurent, G., 3rd, Smit, J. M., & Urcuqui-Inchima, S. (2016). Complex interaction between dengue virus replication and expression of miRNA-133a. *BMC infectious diseases*, 16, 29.
- [63] Margo A. Brinton, Mausumi Basu, Functions of the 3' and 5' genome RNA regions of members of the genus *Flavivirus*, *Virus Research*, Volume 206, 2015, Pages 108-119, ISSN 0168-1702, <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2015.02.006>.
- [64] Chen, L., Heikkinen, L., Wang, C., Yang, Y., Sun, H., & Wong, G. (2019). Trends in the development of miRNA bioinformatics tools. *Briefings in bioinformatics*, 20(5), 1836–1852. <https://doi.org/10.1093/bib/bby054>
- [65] Bartel D. P. (2009). MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 136(2), 215–233. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.002>
- [66] Mukhopadhyay, S., Kuhn, R. J., & Rossmann, M. G. (2005). A structural perspective of the *flavivirus* life cycle. *Nature reviews. Microbiology*, 3(1), 13–22. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1067>

- [67] Girardi, E., López, P., & Pfeffer, S. (2018). On the Importance of Host MicroRNAs During Viral Infection. *Frontiers in genetics*, 9, 439. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00439>
- [68] Peterson, S. M., Thompson, J. A., Ufkin, M. L., Sathyanarayana, P., Liaw, L., & Congdon, C. B. (2014). Common features of microRNA target prediction tools. *Frontiers in genetics*, 5, 23. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00023>
- [69] Baig, M. S., & Krishnan, A. (2021). A bioinformatics approach to investigate serum and hematopoietic cell-specific therapeutic microRNAs targeting the 3' UTRs of all four Dengue virus serotypes. *Pathogens and disease*, 79(8), ftab050. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftab050>
- [70] Trobaugh, D. W., & Klimstra, W. B. (2017). MicroRNA Regulation of RNA Virus Replication and Pathogenesis. *Trends in molecular medicine*, 23(1), 80–93. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.11.003>
- [71] Trobaugh, D. W., & Klimstra, W. B. (2017). MicroRNA Regulation of RNA Virus Replication and Pathogenesis. *Trends in molecular medicine*, 23(1), 80–93. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.11.003>
- [72] Duan, F., Liao, J., Huang, Q., Nie, Y., & Wu, K. (2012). HSV-1 miR-H6 inhibits HSV-1 replication and IL-6 expression in human corneal epithelial cells in vitro. *Clinical & developmental immunology*, 2012, 192791. <https://doi.org/10.1155/2012/192791>
- [73] van Leur, S. W., Heunis, T., Munnur, D., & Sanyal, S. (2021). Pathogenesis and virulence of flavivirus infections. *Virulence*, 12(1), 2814–2838. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1996059>
- [74] Pierson, T. C., & Diamond, M. S. (2020). The continued threat of emerging flaviviruses. *Nature microbiology*, 5(6), 796–812. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0714-0>
- [75] Sharakhova, M. V., & Sharakhov, I. V. (2013). Progress in mapping the yellow fever mosquito genome. *Tsitologija*, 55(4), 241–243.
- [76] Ruzzante, L., Reijnders, M. J. M. F., & Waterhouse, R. M. (2019). Of Genes and Genomes: Mosquito Evolution and Diversity. *Trends in parasitology*, 35(1), 32–51. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.10.003>

- [77] Elegheert, J., Cvetkovska, V., Clayton, A. J., Heroven, C., Vennekens, K. M., Smukowski, S. N., Regan, M. C., Jia, W., Smith, A. C., Furukawa, H., Savas, J. N., de Wit, J., Begbie, J., Craig, A. M., & Aricescu, A. R. (2017). Structural Mechanism for Modulation of Synaptic Neuroligin-Neurexin Signaling by MDGA Proteins. *Neuron*, 95(4), 896–913.e10.

## 11 ANEXOS

## 11.1 Anexo 1: Proteínas blanco de los miRNA de humano recuperados

miRNA	GEN Symbol	Transcrito	miRDB	RNA HYBRID			
			Target score	Mfe (kcal/mol)	P-value	Posición del blanco	Interacción
HSA-MIR-4722-5P	ZNF710	NM_198526.4	98	-38.5	1.000000e+00	231	target 5' C C C GG C G 3' CGGCC GGC CGGCC CC GCC GUUGG CCG GUCGGG GG CGG miRNA 3' A U A A 5'
	MAFB	NM_005461.5	98	-36.7	1.000000e+00	239	target 5' A CG CGG C G 3' GGCUUGGC GCGGCC CC GCU UUGGACCG UGUCGGG GG CGG miRNA 3' G A A 5'
	TAF5L	XM_005273099.5	98	-34.0	1.000000e+00	2087	target 5' U C UGCAGCA U 3' GACCU GCGCA CCUUCUGUC UUGGA CGUGU GGGAGGACGG miRNA 3' G C C 5'
	SLC24A4	XM_011536436.3	98	-38.9	1.000000e+00	9807	target 5' C G GCCUCUGCCUG C 3' CCUGGCA GGC UCUCUGCC GGACCGU UCG GGAGGACGG miRNA 3' GUU G 5'
	PHYHIP	NM_014759.5	98	-36.6	1.000000e+00	2344	target 5' A UCUGU U A 3' CUGGC C GCUCUCCUGCC GACCG G CGGGAGGACGG miRNA 3' GUUG U U 5'
	SOGA1	NM_080627.4	98	-39.2	1.000000e+00	10189	target 5' G CCACCUCCA UCAA U 3' CAGCCU GGU GCAGUUCUCCUGCC GUUGGA CCG UGUCGGGAGGACGG miRNA 3' 5'
	ST3GAL1	NM_003033.4	98	-36.7	1.000000e+00	2056	target 5' C GCAA GAGA U 3' CAGCCUGG CAUAGU CUCCUGUC GUUGGACC GUGUCG GAGGACGG miRNA 3' G 5'
	ZFAND3	NM_021943.3	97	-36.3	1.000000e+00	15	target 5' A GAG G A 3' GGCC UGGUGCGGCC CCU CC UUGG ACCGUGUCGGG GGA GG miRNA 3' G A C 5'

	FAIM2	NM_012306.4	96	-40.7	1.000000e+00	700	target 5' U GCAU UG U 3' GCCUGG CACGGCCCU UCUGCC UGGACC GUGUCGGGA GGACGG miRNA 3' GU 5'
	NFAT5	XR_007064848.1	96	-34.9	1.000000e+00	2442	target 5' A UUUUCC AG U 3' CAGCCUGGUAC AGC UUUUCGCU GUUGGACCUG UCG GAGGACGG miRNA 3' G 5'
hsa-miR-608	IGFBP5	NM_000599.4	99	-35.5	1.000000e+00	816	target 5' U C G A UGG U 3' GCGGGGC G CCCAG GCC GCUCCU UGCCUCG C GGGUU UGG UGGGGA miRNA 3' A A G 5'
	NFIC	NM_205843.3	99	-39.1	1.000000e+00	7622	target 5' C AAG GGUCCC C 3' CGGAG GUUCCAGCA CCACCCU GCCUC CAGGGUUGU GGUUGGG miRNA 3' U GA A 5'
	EPHA8	XM_011540970.2	99	-38.8	1.000000e+00	2994	target 5' U GCCC A CAGGG G 3' GCGG AGCUG CCAGCACC GCCC UGCC UCGAC GGUUGUGG UGGGG miRNA 3' AG A 5'
	ATP7	NM_00136655.5.2	99	-38.8	1.000000e+00	2069	target 5' C A CCA A 3' GCUG CCCAGC GCCACCCC CGAC GGUUG UGGUGGGG miRNA 3' UGCCU A A 5'
	MDGA1	XM_006715056.4	99	-42.7	1.000000e+00	840	target 5' C GG G 3' CGGGGCGU CCAGCGCC CCCU GCCUCGAC GGUUGUGG GGGG miRNA 3' U AG U A 5'
	ENTPD2	NM_203468.3	99	-47.2	1.000000e+00	1138	target 5' G UG G 3' AUGGGGCGU CCCG GCCACCCU UGCCUCGAC GGGU UGGUGGGG miRNA 3' A UG A 5'
	PPP1R9B	NM_032595.5	99	-43.4	1.000000e+00	2970	target 5' A GGGCUC UG A 3' ACGGGGCUG UCCCAGCAUC CC UGCCUCGAC AGGGUUGUGG GG miRNA 3' UG GA 5'
	TOM1L2	NM_00103355.1.3	98	-37.0	1.000000e+00	3381	target 5' A U GGAUGG GGU CAGAG A 3' GG GGCUG CCA GCACC GCCC CC UCGAC GGGU UGUGG UGGGG miRNA 3' UG A A 5'
	MAP3K13	NM_00124231.4.2	98	-38.7	1.000000e+00	2431	target 5' C G GGCUG UAUG G 3' UGGGGCGUU CCA ACGCU ACCCCU GCCUCGACAG GGU UGUGG UGGGGA miRNA 3' U 5'

	IQSEC2	XR_938365.3	98	-38.9	1.000000e+00	858	target 5' A CCA G G 3' GGAGCU GUCCCGGCGCCG C CCUCGA CAGGGUUGUGGU G miRNA 3' UG G GA 5'
hsa-miR-661	EXPH5	NM_015065.3	99	-39.3	1.000000e+00	7580	target 5' U U UG AAU U 3' UGC CAGGCUAGAG C GGCA GCG GUCCGGUCUC G CCGU miRNA 3' U C UG GU 5'
	MAP3K3	NM_203351.3	99	-43.9	1.000000e+00	2809	target 5' A G U 3' GU GCAGG CAGAGGCCAGGC CG GUCC GUCUCUGGGUCCG miRNA 3' UG G U 5'
	BTBD9	XM_047418145.1	99	-43.2	1.000000e+00	6190	target 5' G C CAC G 3' AUGC CAGGUCGGG GGCCCCGGCA UGCG GUCCGGUCU CUGGGUCCGU miRNA 3' C 5'
	ELAVL1	XM_047438383.1	99	-42.5	1.000000e+00	1720	target 5' A GGGCCACCACUG A U 3' GCGU GGGCCGGGGCC CGGC CGCG UCCGUCUCUGG GUCCG miRNA 3' UG U 5'
	TMEM248	XM_024446819.2	98	-41.2	1.000000e+00	543	target 5' A G C CUUCCACCCAGUCC C 3' GCG GCAGGCC GAG CCCAGGC UGC CGUCCG CUC GGUCCG miRNA 3' G U U U 5'
	CFAP61	NM_015585.4	97	-35.5	1.000000e+00	3787	target 5' U C GUUUAGUUG G 3' ACGCGU GGCCAGG AUC UAGGCA UGC CG CCGGUCU UGG GUCCGU miRNA 3' U C 5'
	TOR4A	NM_017723.3	97	-46.9	1.000000e+00	3132	target 5' G CU G G 3' GCGCGCAGGUC GGGCCCA GGCG UGC CGUCCGG UCUGGGU CCGU miRNA 3' UC 5'
	GRAMD1 B	NM_00128656.3.3	96	-37.2	1.000000e+00	251	target 5' U G G CUCC C U 3' CG GCAGGC G AG CCCAGGC GC CGUCCG U UC GGGUCCG miRNA 3' U G G C U U 5'
	SHROOM 4	XM_017029682.3	96	-39.0	1.000000e+00	2224	target 5' G AAUAA CCU C 3' ACG GC GGCCAGAGGCCU GGC UGC CG CCGGUCUCUGGG CCG miRNA 3' G U U U 5'
	DDA1	NM_024050.6	96	-36.0	1.000000e+00	2488	target 5' A G CCCGUCCUACACAA UGGCUGACCAG C 3' G GUGGGCU GGAG GCCCAGGCA C CGUCCGG UCUC UGGUCCGU miRNA 3' UG G 5'

hsa-miR-6756-5p	HIC2	XM_011530008.4	100	-43.7	1.000000e+00	2782	target 5' C G CCA AGAA U 3' GC CCACCCU GGGCCC GCCCU CG GGUGGAGG UCGGGG UGGGA miRNA 3' U G 5'
	IQSEC2	XR_938365.3	100	-46.7	1.000000e+00	2279	target 5' A A A 3' GGCCC GCC CCAGCCCCACC UCGGG UGG GGUCGGGGUGG miRNA 3' G A GA 5'
	NFIC	NM_205843.3	100	-46.7	1.000000e+00	5154	target 5' C CUCA A 3' AGCC CCACCUCCAGCCCC UCC UCGG GGUGGAGGUCGGGG GGG miRNA 3' U A 5'
	TFE3	NM_006521.6	100	-47.7	1.000000e+00	1919	target 5' A UC C 3' GGCCCCGCCUUU CCCCACCCU UCGGGGUGGAGG GGGGUGGGA miRNA 3' UC 5'
	WDTC1	XM_047449749.1	100	-43.1	1.000000e+00	2213	target 5' C GGU UG A 3' AGCCCU CC CCAGCCCC CU UCGGGG GG GGUCGGGG GG miRNA 3' U A UG A 5'
	MGAT5B	NM_144677.3	99	-43.8	1.000000e+00	568	target 5' G AGGACGGU G G 3' GGCCC GC UCCGGCCUCGCCC UCGGG UG AGGUCGGGGUGGG miRNA 3' G G A 5'
	PRELP	NM_002725.4	99	-42.4	1.000000e+00	865	target 5' G U GCCAUUCA G 3' GG CCCCACC CCAGCUCUACCU UC GGGGUGG GGUCGGGGUGGG miRNA 3' A A 5'
	CACNA2D2	XM_011534243.3	98	-44.8	1.000000e+00	3680	target 5' A C C 3' CCCCACCUCCA UCCCACCU GGGGUGGAGGU GGGGUGGG miRNA 3' UC C A 5'
	PHF12	NM_001033561.2	98	-43.4	1.000000e+00	279	target 5' A GA G C 3' GGCCCCGCC GGCCU ACCC UCGGGGUGG UC GGG UGGG miRNA 3' AGG G A 5'
CHRNE	NM_000080.4	98	-42.1	1.000000e+00	1117	target 5' A GGG C 3' GGCCCC CC CC GCCUCGCC UCGGGG GG GG CGGGGUGGG miRNA 3' U A U A 5'	

hsa-miR-6762-3p	PTTG1IP	NM_004339.4	100	-32.6	1.000000e+00	1508	target 5' C UU UCU GG U 3' CUG GGGCUG GGG GUGGCCA GAC UCUGGU CCC CGUCGGU miRNA 3' C U UU 5'
	PPP1R14D	NM_017726.8	99	-35.2	1.000000e+00	400	target 5' G UUCUU U C 3' CUGGAGGCCA GGGAA C GCC GACCUCUGGU CCCUU G CGG miRNA 3' U C U U 5'
	SS18	NM_001007559.3	99	-35.3	1.000000e+00	701	target 5' G GCGGACAGCAU AC C 3' GGAG ACCAAGG AGCAGCCA CCUC UGGUUC UCGUCGGU miRNA 3' GA CU 5'
	EXOC5	NM_006544.4	98	-35.5	1.000000e+00	120	target 5' G U GCCCGC C 3' UGGGGA C GGGGA AGCGGCC ACCUCU G UCCCU UCGUCGG miRNA 3' G G U U 5'
	SYVN1	NM_032431.3	98	-31.3	1.000000e+00	61	target 5' C UCUC CAUGUCCGCAC CAGUGAUGAU G 3' CUGG GGGCCAGG GG GCGGCCA GACC UCUGGUCC CU UCGUCGGU miRNA 3' 5'
	ZBTB37	NM_001395199.1	98	-34.2	1.000000e+00	1133	target 5' A U CU A 3' GGAG CCAAGG GG CGGCCA CCUC GGUUCC CU GUCGGU miRNA 3' GA U UC 5'
	AFF4	NM_014423.4	97	-33.1	1.000000e+00	5145	target 5' G UA UUAAGA G 3' UGGAG CCAGGG GAGC AGCU ACCUC GGUUCC UUCG UCGG miRNA 3' G U U 5'
	SORL1	NM_003105.6	97	-35.8	1.000000e+00	207	target 5' C AU GG G C 3' GGGG GCC AGGG GC AGCCG CCUC UGG UCCC CG UCGGU miRNA 3' GA U UU 5'
	IL1RAP	NM_001167928.2	97	-30.2	1.000000e+00	1419	target 5' A U GAAAGU G 3' GCCAAGG GAAGCA GCCA UGGUUCC CUUCGU CGGU miRNA 3' GACCUC 5'
	DESI1	NM_015704.3	97	-36.9	1.000000e+00	1990	target 5' G C A C 3' GGAGGCCGAGG AGGCAG UCA CCUCUGGUUCC UUCGUC GGU miRNA 3' GA C 5'

hsa-miR-6765-5p	CAPRN2	NM_001002259.3	95	-35.1	1.000000e+00	109	target 5' G CGGUCCA GCA C U C 3' GC GC CCUCC G GC CCUGCCUC UGUG GGAGG C CG GGGCGGAG miRNA 3' UG A UG 5'
	CDH13	NM_001257.5	92	-39.8	1.000000e+00	2740	target 5' G CUGA AG CU A A 3' ACAC ACCCUCC GGC CCCGC UCA UGUG UGGGAGG CCG GGGCG AGU miRNA 3' A G G 5'
	NUDT3	NM_006703.4	88	-41.0	1.000000e+00	5848	target 5' G UUGGA AGCA UU A 3' GCAUACUCUCCU GGCC GCC UCAC UGUGUGGGAGGA CCGG CGG AGUG miRNA 3' GG 5'
	RPS10-NUDT3	NM_001202470.3	88	-35.7	1.000000e+00	1237	target 5' U UG UUA G AG G 3' U UC UCCUGGCCCU GCC AC G GG AGGACCGGG CGG UG miRNA 3' UGU UG AG 5'
	RAB39A	NM_017516.3	87	-39.4	1.000000e+00	179	target 5' G AGUC UG A C 3' GCA C CCUCUG C CCGCUUCAC UGU G GGAGGAC G GGC GGAGUG miRNA 3' UG C G 5'
	CALM2	NM_001305624.1	86	-30.4	1.000000e+00	1118	target 5' G AUUUUUUUGUA G A 3' UACACU CU CUGGUCCUGU GUGUGG GA GACCGGGCGG miRNA 3' U G GAGUG 5'
	ENTPD1	NM_001776.6	86	-37.8	1.000000e+00	4546	target 5' G U UGCAACCUCCG GUUCAAGCAAUUC G 3' GC CAC CCUCUUGG UCCUGCCUA UG GUG GGAGGACC GGGCGGAGU miRNA 3' U G 5'
	FAM122B	NM_145284.5	78	-34.2	1.000000e+00	117	target 5' A UG G U G A 3' GCAC CC C CUG G CCUGCCU CA UGUG GG G GAC C GGGCGGA GU miRNA 3' UG A G G 5'
	C17orf97	NM_001013672.5	75	-36.8	1.000000e+00	966	target 5' C UG GA CAAGG C C 3' AC ACCC C GGCCCU GCUUC AC UG UGGG G CCGGGG CCGGAG UG miRNA 3' UG A GA 5'
FBXO45	NM_001105573.2	75	-37.0	1.000000e+00	5136	target 5' G UG AGGCUGGUCUUGAA AACACCACCCACC C A 3' U GCC CUCCUGGCC UCCGCUUC C G UGG GAGGACCGG GGC GGAG G miRNA 3' U UG U 5'	
hsa-miR-	TBC1D16	NM_019020.4	99	-42.4	1.000000e+00	6813	target 5' C G A UCCU A 3' CUGCCUGCCCA GCC CC GGG GGCGGACGGGU CGG GG CCC miRNA 3' A U C 5'

6791-5p	MDGA1	XM_006715056.4	99	-41.9	1.000000e+00	1558	target 5' C UCUUGGAAGC U 3' CCGCCUGCCC GCUUCA GGGG GGCGGACGGG CGGGGU CCCC miRNA 3' A U 5'
	UBE27	NM_023079.5	98	-38.3	1.000000e+00	135	target 5' G GGG GG G C 3' CGCC GC C GGCCCCGGGG GCGG CG G UCGGGGUCCC miRNA 3' AG A G C 5'
	ZNF862	NM_001099220.3	98	-38.5	1.000000e+00	5294	target 5' G U U 3' CCGCUU CCA UCCAGGG GGCGGA GGGU GGGGUCCC miRNA 3' A C C C 5'
	FBXL19	NM_001099784.3	98	-43.4	1.000000e+00	752	target 5' C G CCCC A A 3' CUGCCUGCC GGCCCC GG GG GGCGGACGG UCGGGG CC CC miRNA 3' A G U 5'
	CCDC102A	NM_033212.4	97	-38.6	1.000000e+00	85	target 5' G U GG A A 3' UCC CC GCCCGGU CCCAG GGG AGG GG CGGGUCG GGGUC CCC miRNA 3' C A 5'
	IL1RAP	NM_001167928.2	97	-36.0	1.000000e+00	1773	target 5' A CCUGGUUGUUCUAA CAACUACGU A 3' CGCCU GCCC GCUCCAGGG GCGGA CGGG CGGGGUCCC miRNA 3' AG U C 5'
	CDCA3	NM_031299.7	96	-35.4	1.000000e+00	932	target 5' C AUG C AAUGCAGUCA C 3' CUGC G CCCAGC CCCAGGG GGCG C GGGUCG GGGUCCC miRNA 3' A GA C 5'
	LMOD1	NM_012134.3	96	-37.9	1.000000e+00	3202	target 5' A G UAG AG C 3' UCUGU UGCCC GGCUC AGGGG AGGCG ACGGG UCGGG UCCCC miRNA 3' G G 5'
	CDC25A	NM_001789.3	96	-37.9	1.000000e+00	213	target 5' C C GCU GCGGUGUGAG A 3' CCGCC GCCC GGCCUC AGGG GGCGG CGGG UCGGGG UCCC miRNA 3' A A C 5'
hsa-miR-	ZSWIM4	NM_023072.3	100	-34.3	1.000000e+00	2008	target 5' U CACC CGCCAGUGUGAACUG C 3' CCUUGGC UGGAGACC GCUUCCA GGAACCG AUCUCUGG UGGGGGU miRNA 3' 5'

6842-5p	DAGLA	NM_006133.3	100	-40.3	1.000000e+00	4362	target 5' G UCUGU ACUG G 3' CCUUGGCUGGAGACC CC CCCA GGAACCGAUCUCUGG GG GGGU miRNA 3' U 5'
	DNAJB5	NM_00134972 3.3	98	-32.1	1.000000e+00	208	target 5' G CAUGUUUAAGC CACAGUCUCUCCU C G 3' CUUGGCUGGG G G CCACCCCA GAACCGAUCU C U GUGGGGGU miRNA 3' G 5'
	SMARCD1	NM_003076.5	98	-33.2	1.000000e+00	323	target 5' U C A UG U 3' CC GC AGAGACC CCCC GG CG UCUCUGG GGGG miRNA 3' AAC A UG U 5'
	PPP6R1	NM_014931.4	98	-37.3	1.000000e+00	2648	target 5' A GUGCAGCCCGUGG C 3' UUGGCU AGGGGCCACCCCU AACCGA UCUCUGGUGGGG miRNA 3' GG U 5'
	PRKACA	NM_002730.4	98	-33.3	1.000000e+00	2485	target 5' C G A 3' GCUGGGGA CCACCCC CGAUCUCU GGUGGGG miRNA 3' GGAAC GU 5'
	IQSEC2	XR_938365.3	97	-33.3	1.000000e+00	1194	target 5' C G C C A G 3' CCU GGCU AG GGGC CGCCUCCA GGA CCGA UC UCUG GUGGGGGU miRNA 3' A 5'
	TBKBP1	NM_00139475 6.1	97	-32.6	1.000000e+00	1503	target 5' G C C AAGCGGCCACUC A 3' CC UGGCUG AGGCCG UCCCCA GG ACCGAU UCUGGU GGGGGU miRNA 3' A C 5'
	NFIC	NM_205843.3	97	-36.6	1.000000e+00	5583	target 5' U G C C 3' CCU GGCUGGA GCCACCCUU GGA CCGAUCU UGGUGGGGG miRNA 3' A C U 5'
	NECTIN1	NM_002855.5	96	-33.2	1.000000e+00	2654	target 5' U CCC GAACCCAA A G 3' CCU GGCUAGAGG CACCC CCA GGA CCGAUCUCU GUGGG GGU miRNA 3' A G 5'

### 11.2 Anexo 2: Proteínas blanco de los miRNA de *A.Aegypti* recuperados

miRNA	GEN Symbol	MFE (KCAL/MOL)	P-value	Posición del blanco	Interacción
miR-11-3p	A0A0P6IUE5	-30.2	1.000000e+00	7815	target 5' G G A 3' UGGUGCUGCC GGUGAGG AUUACGACGG CCAUUCU miRNA 3' AG G AC 5'
	A0A0P6IXE5	-30.9	1.000000e+00	5058	target 5' G G A 3' UGGUGCUGCC GGUGAGG AUUACGACGG CCAUUCU miRNA 3' AG G AC 5'
	A0A0P6J4C6	-31.3	1.000000e+00	4609	target 5' G G A 3' UGGUGCUGCC GGUGAGG AUUACGACGG CCAUUCU miRNA 3' AG G AC 5'
	A0A0P6K0W8	-30.9	1.000000e+00	2053	target 5' A U A 3' UCUGGUG CUGUCCGG GGA AGAUUAC GACGGGCC UCU miRNA 3' AU AC 5'
	A0A1S4EV95	-36.4	1.000000e+00	1599	target 5' G G U 3' UCUGGUG UGCCUGGUGAG AGAUUAC ACGGGCCAUC miRNA 3' G UAC 5'
	A0A1S4F070	-33.3	1.000000e+00	4716	target 5' C A G 3' UGCUGCCCCGGUG AGG ACGACGGGCCAU UCU miRNA 3' AGAUU AC 5'
	A0A1S4F0A1	-31.3	1.000000e+00	7425	target 5' G A A 3' CUGG GCUGCCCCGG AGAU GAUU CGACGGGCC UCUA miRNA 3' A A AU C 5'
	A0A903U949	-35.8	1.000000e+00	4868	target 5' G GUC ACG G 3' UC UGCUGCCCCGG GGGGA AG ACGACGGGCC UUCU miRNA 3' AUU A AC 5'
	A0A1S4F1L0	-31.9	1.000000e+00	1513	target 5' C GCGUC C 3' CUGGUGCUGUUCGGU GAGAU GAUUACGACGGGCCA UUCUA miRNA 3' A C 5'

	A0A1S4F1T1	-36.1	1.000000e+00	2667	target 5' G C C G 3' UCUG UGUGCCUGGUGAG UG AGAU ACGACGGGCCAUUC AC miRNA 3' U U 5'
miR-11919	A0A1S4G0E1	-34.4	1.000000e+00	4767	target 5' A GAC A CUC G 3' UCUGGUGC UGC CCGG GAGAUG AGAUUACG ACG GGCC UUCUAC miRNA 3' A 5'
	A0A1S4G0T1	-34.6	1.000000e+00	7141	target 5' A UG C U 3' AGUGCUGCCU GGUAAG UG UUACGACGGG CCAUUC AC miRNA 3' AGA U 5'
	A0A1S4G2I3	-30.7	1.000000e+00	1330	target 5' G CG UG A 3' CUG GCUGCCCC GAGA GAU CGACGGGC UUCU miRNA 3' A UA CA AC 5'
	A0A411JK78	-36.0	1.000000e+00	1171	target 5' U CAC A CG A 3' UCUG GUGCUGUCCGG GAG G AGAU UACGACGGGCC UUC C miRNA 3' A UA 5'
	A0A6I8TNK7	-34.7	1.000000e+00	1758	target 5' C C 3' GCUGUCCGGUGAGA CGACGGGCCAUUCU miRNA 3' AGAUUA AC 5'
	A0A903UPU7	-34.1	1.000000e+00	1810	target 5' A CG CG G UC G GCUGCUCGGUAAGA AG U CGACGGGCCAUUCU miRNA 3' A UA AC
	A0A6I8THA0	-36.3	1.000000e+00	1866	target 5' A C A CUGCC C 3' UCUG AUGCUGU CCGGUA AGAUG AGAU UACGACG GGCCAU UCUAC miRNA 3' 5'
	A0A6I8THZ7	-32.6	1.000000e+00	964	target 5' G CACG A 3' UCUGG GCUGCCUGG AGGUG AGAUU CGACGGGCC UCUAC miRNA 3' A AU 5'
	A0A6R5HBB7	-36.0	1.000000e+00	1622	target 5' G CACG A 3' UCUGG GCUGCCUGG AGGUG AGAUU CGACGGGCC UCUAC miRNA 3' A AU 5'

	A0A6R5I5G1	-34.9	1.000000e+00	374	target 5' G CACG A 3' UCUGG GCUGCCUGG AGGUG AGAUU CGACGGGCC UCUAC miRNA 3' A AU 5'
miR-11924	A0A903VDV0	-34.3	1.000000e+00	1186	target 5' G CACG A 3' UCUGG GCUGCCUGG AGGUG AGAUU CGACGGGCC UCUAC miRNA 3' A AU 5'
	A0A903VK54	-34.3	1.000000e+00	195	target 5' G CACG A 3' UCUGG GCUGCCUGG AGGUG AGAUU CGACGGGCC UCUAC miRNA 3' A AU 5'
	A0A903VMD1	-32.3	1.000000e+00	860	target 5' U G A U 3' UC GAUGCUGCCCGG UAAG AG UUACGACGGGCC AUUC miRNA 3' A UAC 5'
	Q0IG19	-34.7	1.000000e+00	1106	target 5' U G A U 3' UC GAUGCUGCCCGG UAAG AG UUACGACGGGCC AUUC miRNA 3' A UAC 5'
	A0A6I8TK35	-35.1	1.000000e+00	780	target 5' A A UUA U 3' CUGAUGCUGCC CG GUAGGAUG GAUUACGACGG GC CAUUCUAC miRNA 3' A 5'
	A0A6I8TL28	-35.3	1.000000e+00	9057	target 5' C G 3' GCCCCGUGAGGUG CGGGCCAUUCUAC miRNA 3' AGAUUACGA 5'
	A0A6I8TLP2	-34.1	1.000000e+00	7099	target 5' A U CAAC AC A 3' CCGGCGG GGC GGA UCG GGCUGUC CCG UCCU AGU miRNA 3' UA AAA AAGAA 5'
	A0A6I8TMD3	-35.2	1.000000e+00	3172	target 5' A U CAAC AC A 3' CCGGCGG GGC GGA UCG GGCUGUC CCG UCCU AGU miRNA 3' UA AAA AAGAA 5'
	A0A6I8TMW0	-36.5	1.000000e+00	1885	target 5' A U CAAC AC A 3' CCGGCGG GGC GGA UCG GGCUGUC CCG UCCU AGU miRNA 3' UA AAA AAGAA 5'
	A0A1S4F2U8	-32.0	1.000000e+00	1579	target 5' G AAA UGGGCU GAAGA A 3' CCGG GGCAGG GUUU CGUUU GGCU CCGUCC UAAA GUAAG miRNA 3' UA GUC A AA 5'

miR-193	A0A1S4F219	-33.7	1.000000e+00	6160	target 5' U GACGG G GG G G 3' GUCCGAU GGGG AGGUUU UUGU CU UAGGCGU UCCC UCCUAAA AGUA GA miRNA 3' G A A 5'
	A0A1S4F2U8	-32.6	1.000000e+00	6839	target 5' G AC GUAC CG C 3' CCGGCGGGGCA GA UCG CUU GGCUGUCCCGU CU AGU GAA miRNA 3' UA C AAA AA 5'
	A0A1S4F3B3	-34.9	1.000000e+00	1911	target 5' G CU U A 3' CUGAC GG CAGGA GGCUG CC GUCCU miRNA 3' UA UC AAAAGUAAGAA 5'
	A0A1S4F544	-31.2	1.000000e+00	1659	target 5' U C A A C GUGA G 3' UCCGAC AG GG CGG GU CAUUUUU AGGCGU UC CC GUC UA GUAAGAA miRNA 3' U C AAA 5'
	A0A1S4F6H3	-34.9	1.000000e+00	5595	target 5' U C UCACCAU C 3' GUCCGC AGGGCG GGG UAGGCGU UCCCGU CCU miRNA 3' AAAAGUAAGAA 5'
	A0A1S4F8N4	-35.0	1.000000e+00	8404	target 5' A UUA UAAUUACUA GUG A 3' UCG GGGC AGGAU C UCU GGC UCCCG UCCUAA G AAGA miRNA 3' UA UG AA U A 5'
	A0A1S4F8N8	-33.0	1.000000e+00	4642	target 5' U UAC AA GAGCAA G 3' UCCGAU GGG AGGA CGUUU AGGCGU CCC UCCU GUAAG miRNA 3' U U G AAAA AA 5'
	A0A1S4FAE8	-36.0	1.000000e+00	7065	target 5' U G CCGGAGCGUU GUGG G 3' U CGACGG GCGGGA UUUCGU A GCUGUC CCGUCCU AAAGUA miRNA 3' U G A AGAA 5'
	A0A1S4FAG5	-36.4	1.000000e+00	1577	target 5' C G C U G GG U 3' UUGA GGG GCAG GA UUUG CUU GGCU UCC CGUC CU AAGU GAA miRNA 3' UA G AA AA 5'
A0A1S4FAI7	-36.7	1.000000e+00	1257	target 5' G UGAGAAAGAUU G G G 3' CGACGGGC GGA U AUUC GCUGUCCCG CCU A UAAG miRNA 3' UAG U AAA G AA 5'	
miR-263a-3p	A0A1S4F1W5	-30.4	1.000000e+00	1729	target 5' G UGAGAAAGAUU G G G 3' CGACGGGC GGA U AUUC GCUGUCCCG CCU A UAAG miRNA 3' UAG U AAA G AA 5'
	A0A6I8TI17	-32.5	1.000000e+00	1135	target 5' G U U GUAGCGA C 3' UGAUGG GGUAG GGU AUUCU GCUGUC CCGUC CUA UAAGA miRNA 3' UAG U AAAG A 5'
	A0A6I8TI61	-33.7	1.000000e+00	3361	target 5' G CU GGAGAC A 3' GGC GAACU UAG CUGUGA UCG CUUGA GUC GACACU miRNA 3' UU U AC 5'

	A0A6I8TJJ3	-32.1	1.000000e+00	9507	target 5' G CC AC GU A GG G 3' AGCG GA ACU GACUG UG G UCGU CU UGA CUGAC AC C miRNA 3' U GU UA 5'
	Q16FI1	-36.3	1.000000e+00	5922	target 5' A U A A 3' GAGGAC CAG ACUGU GAU UUCUUG GUC UGACA CUA miRNA 3' UCG A C 5'
	Q16FM2	-30.3	1.000000e+00	8939	target 5' A CAG G C CA G 3' CGCAG CG GGCC GAG CU GUGUC GU UCGG CUC GA miRNA 3' CA G C AA 5'
	A0A0B4R7A8	-31.8	1.000000e+00	7958	target 5' U UG AG AAGUCA GA C 3' U AGG A GGCCGG AGUUC G UCC U UCGGCC UCAAG miRNA 3' UG AG U A 5'
	A0A6I8TL28	-37.0	1.000000e+00	8048	target 5' C UG G G 3' AGGCCACU U CCAC UCUGGUGA A GGUG miRNA 3' GCUAC UG AA 5'
	A0A1S4FEB3	-35.5	1.000000e+00	7643	target 5' U GAA GAG G 3' GG AGACCA ACUCCAU CU UCUGGU UGAGGUG miRNA 3' G AC GA AA 5'
	A0A1S4FEB5	-31.4	1.000000e+00	2089	target 5' A CUAG UU C 3' GA GAGAUC CUGCUCUAU CU CUCUGG GAUGAGGUGA miRNA 3' G A U A 5'
miR-282-5p	A0A6I8TFS9	-30.5	1.000000e+00	5906	target 5' A CUAG UU A 3' GA GAGAUC CUGCUCUGC CU CUCUGG GAUGAGGUG miRNA 3' G A U AA 5'
	A0A6I8TGB7	-34.8	1.000000e+00	7012	target 5' C G CCAACACCGGGAA C G 3' AGCGG GC GCUGUA CCUGGU UCGUC CG UCGGU GGAUCG miRNA 3' A U AU 5'
	A0A6I8TGP2	-32.9	1.000000e+00	5966	target 5' A U AC GGUGUA A G 3' AGC GU GCAC GCAG CUAGC UCG CA CGUG CGUU GAUCG miRNA 3' U G G AU 5'
	A0A6I8TGV0	-33.9	1.000000e+00	6496	target 5' A AGCUGGGACA A CUCCAGGUUCGAAA U 3' GGCAGUC GCCG C AACCUUGUU UCGUCACG UGGC G UUGGAUCA miRNA 3' U 5'

	A0A6I8TB27	-30.1	1.000000e+00	3425	target 5' C UUA A G CC A 3' GGU AGUGCAC GC AGCCUGGCUG UCG UCACGUG CG UUGGAUCGAU miRNA 3' A G 5'
	A0A1S4FEM9	-32.9	1.000000e+00	787	target 5' A C G 3' GCCGA CU CCAGGUU CGGCU GA GGUCCAA miRNA 3' A UAA U GAU 5'
	A0A1S4FEN5	-31.9	1.000000e+00	2607	target 5' C G AGUGCAG CGAUAGGCC GGA G 3' UGC GAG UCUG CCAGGU CUG ACG CUU AGAU GGUCCA GAU miRNA 3' G A A 5'
	A0A1S4FEN8	-33.0	1.000000e+00	8167	target 5' U AAA GG U C 3' GCGA ACCU UUUC GGGA CGCU UGGG GAAG CCUU miRNA 3' CUG UU 5'
	A0A903UX33	-36.9	1.000000e+00	49	target 5' C U G C 3' AGA CGCC AACUUCGG UCU GUGG UUGAAGCC miRNA 3' CGC G UU 5'
	A0A903UZ07	-31.3	1.000000e+00	4904	target 5' C U G C 3' AGA CGCC AACUUCGG UCU GUGG UUGAAGCC miRNA 3' CGC G UU 5'
miR-2945-5p	A0A903V457	-32.5	1.000000e+00	9332	target 5' A ACUAG A A C 3' GCAG UGGUU GAGG GACC UGUC ACCAA UUC CUGG miRNA 3' G C C UU 5'
	A0A903V909	-34.5	1.000000e+00	7631	target 5' C A CC C 3' ACGGCUGG GAA GGGCU UGUCGACC CUU CCUGG miRNA 3' AA CC UU 5'
	A0A903VDV0	-35.3	1.000000e+00	1047	target 5' U CAACCCA AG CU U A 3' GCGGCU GG GA GGG GACCAA UGUCGA CC CU CCC CUGGUU miRNA 3' AA U 5'
	A0A903VK54	-35.1	1.000000e+00	5554	target 5' A ACAA A U 3' GGGA UAGUGGG CCA CCCU AUCAUCC GGU miRNA 3' CAA GA CAU 5'
	A0A1S4FFU1	-36.4	1.000000e+00	5104	target 5' A UGA C C 3' GACU UAGU AGGCCAG CUGA AUCA UCCGGUC miRNA 3' CAACC AU 5'

	A0A1S4FFU3	-31.8	1.000000e+00	4324	target 5' G AGGAC G 3' GGGA UAG AGGUUAGUG CCCU AUC UCCGGUCAU miRNA 3' CAA GA A 5'
	A0A1S4FFU9	-33.2	1.000000e+00	274	target 5' C AGAA AU UGUGAGCCCUACAG U 3' GGA GCC GCUGCC AGGACAC CCU CGG UGACGG UCUUGUG miRNA 3' C A C 5'
	Q16FI1	-32.4	1.000000e+00	535	target 5' U A AA CCG U A 3' GG GAUG GC UGUCAGA CGCG CC CUAC UG ACGGUCU GUGC miRNA 3' G G U 5'
	A0A1S4FGA9	-31.7	1.000000e+00	9489	target 5' U C G G G A 3' GG UG UG UGC AGAACAC CC AC GU ACG UCUUGUG miRNA 3' C U G G G C 5'
	A0A1S4FGB2	-32.1	1.000000e+00	540	target 5' U C UG G 3' UGA GC GGAGAGA CCA GCU CG CUUUUCU GGU miRNA 3' U AC UG A 5'
miR-316	A0A903VMD1	-36.2	1.000000e+00	8829	target 5' U C UG G 3' UGA GC GGAAAGA CCA GCU CG CUUUUCU GGU miRNA 3' U AC UG A 5'
	A2I883	-32.7	1.000000e+00	9000	target 5' A A UG UGUU UU A 3' GAUGG U G G GAUCCA CUACC G C U CUAGGU miRNA 3' UG UG U UU 5'
	C4XV97	-30.9	1.000000e+00	1147	target 5' G GAAA CG G 3' UGGUGGUA GA GGGUCUA GCUACCGU CU UCUAGGU miRNA 3' U G UU 5'
	J9HZ27	-31.8	1.000000e+00	3094	target 5' A CC AAG U 3' ACG AUGGCACGGAAG CCA UGC UACCGUCUUUU GGU miRNA 3' CUA 5'
	A0A6I8TAR8	-30.5	1.000000e+00	8477	target 5' C G C 3' UGAUGG G GAGAAGA CCA GCUACC U CUUUUCU GGU miRNA 3' U G G A 5'

	A0A1S4FGG2	-33.0	1.000000e+00	601	target 5' C UA CAC 3' UGGUGGUGC GAA AGGAUCU GCUACCGUG CUU UUCUAGG miRNA 3' U U 5'
	A0A6S4FNA3	-30.3	1.000000e+00	5326	target 5' C G C G 3' CUGUGA CCC GU CCAAG GACACU GGG CA GGUUC miRNA 3' UAAGA U C 5'
	A0A8W7IMT7	-36.9	1.000000e+00	2207	target 5' C G C C 3' GAGUUUU CCA UGCUAAG CUUAAGA GGU ACGGUUC miRNA 3' GACA G C 5'
	A0A0F6PPV7	-31.1	1.000000e+00	3287	target 5' U GCG CAG C 3' UG GAA UC CCC GUGUCAGG AC CUU AG GGG CACGGUUC miRNA 3' G A A A U 5'
	A0A8W7IYX2	-32.0	1.000000e+00	3657	target 5' A G AAGCUGUACCC UAAGG G 3' CCAG GG UGGUGG ACUA GGUU CC ACCACC UGGU miRNA 3' C G UCAA 5'
miR-79-5p	A0A903TTI1	-30.6	1.000000e+00	3926	target 5' A GA AAGCUGUACCC AGG G 3' GCCAG GG UGGUGGA ACUA CGUU CC ACCACCU UGGU miRNA 3' G CAA 5'
	A0A1S4F0Q4	-32.6	1.000000e+00	2930	target 5' C ACUUCGGCGGC AAU U 3' GCCGA CGGU GUGGG CCA CGGUU GCCA CACCUC GGU miRNA 3' C AAU 5'
	A0A903U949	-36.1	1.000000e+00	6008	target 5' C AAUUG C AACUAG C 3' GCCGA UGG UGGUGGG ACCA CGGUU GCC ACCACCUC UGGU miRNA 3' AA 5'
	A0A1S4FH42	-36.0	1.000000e+00	4637	target 5' C AUA C U G G 3' GCCGAC GGUGG UGG G UGCUA CGGUUG CCACC ACC C AUGGU miRNA 3' U A 5'
	A0A6I8TNK7	-30.9	1.000000e+00	2654	target 5' G UG AAA GCGACCUUC C 3' GA GGA GAAGGU CCCACC UU CCU CUUUA GGGUGG miRNA 3' UG G CU 5'
	A0A1S4FHE0	-35.0	1.000000e+00	6843	target 5' A A CC GGU AGCAAG G 3' GGCCG AAG AC UCG CCGU CCGGC UUC UG AGC GGCA miRNA 3' GAC AU A 5'
	A0A1S4FHE4	-30.6	1.000000e+00	493	target 5' G UGAA G G 3' GGCC CUGGAGACUA CUGU CCGG GACUUCUGAU GGCA miRNA 3' C AGCA 5'

miR-92a-3p	A0A6I8TBB5	-35.6	1.000000e+00	1544	target 5' C G GUACCCUGGUUGUA CUA G 3' CAGG GAAGCU AGGA GAGGUJAGA GUCU UUUCGG UCCU CUCCGAUCU miRNA 3' G A AA 5'
	A0A6I8TBF0	-32.8	1.000000e+00	5161	target 5' U G AGCUGUGC GUAACCCCC A A 3' GGG AA AGCCU AGGAGA GCUGGG UCU UU UCGGA UCCUCU CGAUCU miRNA 3' G G C AA 5'
	A0A6I8TC50	-32.3	1.000000e+00	7811	target 5' C G AG A C 3' GCU GGAG ACCAG GAU CGG UCUU UGGUC CUA miRNA 3' G AA GA UAAC 5'
	A0A6I8TC69	-34.4	1.000000e+00	2164	target 5' C GA G 3' CCCAGGA AGCUGG GGGUCUU UCGACU miRNA 3' C AAUGG AUAAC 5'
	A0A6I8TCG8	-33.5	1.000000e+00	8677	target 5' C CGGACUGG AACAAAGCUG A G 3' CCCAGG GUU ACC GCUGAUG UG GGGUCU UAA UGG CGACUAU AC miRNA 3' C U A 5'
	A0A6I8TE35	-35.7	1.000000e+00	9239	target 5' A UA AGA A 3' AGGAC GAG GUU GG UCCUG CUC CAA CC miRNA 3' CG A G AGAUCAGU 5'
	A0A0F6PPW3	-33.4	1.000000e+00	141	target 5' G AAAACUUG GCUGCAAC GGAAGCUGUACGCA G G 3' GGGACGU GAG UGU CCGU UAG CA UCCUGCG CUC ACA A GCCA AUC GU miRNA 3' A A 5'
	Q0IEH7	-32.8	1.000000e+00	7871	target 5' C GUAGAAAGACGG A 3' ACGUG GUG GGUCUAG UGC GC CAC CCAGAUC miRNA 3' UCC U AAG AGU 5'
	Q0IFC7	-30.1	1.000000e+00	2261	target 5' U AGACCA A U G 3' UGACGCUGGGAG G GA CCUGCU ACUGUGAUCUUU C CU GGGCGA miRNA 3' GU G 5'
Q0IFC9	-34.0	1.000000e+00	9478	target 5' U AGACCA A U G 3' UGACGCUGGGAG G GA CCUGCU ACUGUGAUCUUU C CU GGGCGA miRNA 3' GU G 5'	
A0A088SMJ7	-34.2	1.000000e+00	5598	target 5' G AC U A 3' GCUGGAGA CGGGC CCGC UGAUCUUU GCCUG GGCG miRNA 3' GUACUG A 5'	
A0A1S4FF18	-31.2	1.000000e+00	2204	target 5' A G UJAGA GAC G 3' GG ACUAGAGG GGA CCCGC CU UGAUCUUU CCU GGGCG miRNA 3' GUA G G A 5'	

	A0A089ZWV3	-34.6	1.000000e+00	2420	target 5' G C GG CUGUACCUCCU A 3' CC GAGCAC UGA GAAG UGCAA GG CUCGUG ACU CUUC AUGUU miRNA 3' U G A A 5'
miR-92b-3p	A0A1S4FP60	-35.2	1.000000e+00	1031	target 5' A GAACACUGUGAC GG GA A 3' CC GAGCGCC UGAUG G GA GG CUCGUGG ACUAC C UU miRNA 3' U U AUG A 5'
	A0A6I8TNX7	-34.9	1.000000e+00	5926	target 5' A CAG U AAA U 3' AGU GCCA CAU UGCCA UCG CGGU GUA ACGGU miRNA 3' AG AUA U GA 5'
	A0A6I8TPK1	-33.7	1.000000e+00	9145	target 5' A UGAAGUCAG UUG C 3' GGCUAU GCC AC UGCCA UCGAUA CGG UG ACGGU miRNA 3' AG U UAGA 5'
	A0A0F6PQ35	-34.5	1.000000e+00	7794	target 5' A GC AGGUG G 3' CAGU GCCGACAU GCU GUCG CGGUUGUA CGG miRNA 3' A AUA GAA U 5'
	Q16F11	-33.0	1.000000e+00	5117	target 5' A GU GACU UUA C 3' UGGC AGUG AGCGG GAGGAGAC GCCG UCAU UCGCC UUUUUUCUG miRNA 3' U 5'
	A0A0H4KLV6	-35.7	1.000000e+00	1759	target 5' U CCGGU UC U 3' CGGCGG GUGGGGAAA CA GCCGUC CGCCUUUUU GU miRNA 3' AUU CU 5'
	A0A0P6ISX9	-31.5	1.000000e+00	8040	target 5' U UGAAGCU CAA U 3' GGC GUAAGC GGGAAAGAC CCG CAUUCG CUUUUUCUG miRNA 3' G U C U 5'
	A0A1S4FAQ7	-33.9	1.000000e+00	18	target 5' A A CCAACACCAGG AGCUGUACCC A 3' GC GCGGGC GGA UGGUGGU CG CGUCCCG CCU AUCACCA miRNA 3' C C AC 5'
	A0A0P6IT73	-34.7	1.000000e+00	2321	target 5' C UAUU ACUA U A A 3' GUGGCA GG GCGG UAG GG CGCCGU CC CGCC AUC CC miRNA 3' C U A AAC 5'
	A0A1S4FBU7	-31.6	1.000000e+00	6113	target 5' C C U GAAAUCCA U 3' GGCGGC GG GUGGG UGGUU CCGCCG CC CGCCU ACCAA miRNA 3' U AUC C 5'
miR-9a	A0A089ZWV3	-30.1	1.000000e+00	8418	target 5' A GU A C A A 3' GGCGG GG CGGA UAG GGUU CCGCC CC GCCU AUC CCAA miRNA 3' GU C A C 5'

	A0A1S4FIC6	-33.3	1.000000e+00	815	target 5' A CAGUGC GCCGACA U C G 3' CGGCA GGUGG UGGUGGU GCCGU CCGCC AUCACCA miRNA 3' CC C U AC 5'
	A0A1S4FIQ8	-32.1	1.000000e+00	3109	target 5' C AGC A UAUGCU UGU C 3' CAU ACGGU AGAGC GCC GAGC GUA UGUCG UUUCG CGG UUUCG miRNA 3' A A U 5'
	A0A1S4FJW7	-33.4	1.000000e+00	2658	target 5' C AAAAG C 3' GCAGC GGGGC CCGAAGC UGUCG UUUCG GGUUUUCG miRNA 3' AGUA A C 5'
	A0A1S4FKQ3	-35.4	1.000000e+00	2009	target 5' G GCGA U G 3' GCCG GCUGGGCA GCUG CGGG UGAUCCGU CGAU miRNA 3' AAG 5'
	A0A1S4FLI2	-30.9	1.000000e+00	1954	target 5' A U A 3' UCCUUCAC AGG CAGCUA GGGAAGUG UCC GUUCGAU miRNA 3' C A 5'
	A0A0P6ITX4	-35.1	1.000000e+00	1907	target 5' A C C A 3' CCCUUCA CUA GGCAGC GGGAAGU GAU CCGUCG miRNA 3' C AU 5'
	A0A1S4FP60	-35.7	1.000000e+00	7087	target 5' G GU G 3' GCCCU UUGGGCAGC CGGGA GAUCCGUCG miRNA 3' AGU AU 5'
	A0A1S4FP96	-37.0	1.000000e+00	8448	target 5' A CGGUGC A C 3' GCC CACUGG GCAGCUG CGGG GUGAUC CGUCGAU miRNA 3' AA 5'
	A0A1S4FRW5	-36.1	1.000000e+00	4012	target 5' A G U U 3' GCCCU CACUG GCGGCU CGGGA GUGAU CGUCGA miRNA 3' A C U 5'
miR-9b	A0A1S4FYM0	-33.7	1.000000e+00	7778	target 5' A G U U 3' GCCCU CACUG GCGGCU CGGGA GUGAU CGUCGA miRNA 3' A C U 5'

	A0A1S4FBH7	-34.4	1.000000e+00	8707	target 5' A AAA A AG C 3' AGUUG G CCAACGUC GCCA UCGAU C GGUUGUAG CCGU miRNA 3' AG A AA 5'
	A0A0P6IUD6	-34.7	1.000000e+00	7392	target 5' U C G 3' GGUGGUGA GGAAGAA ACA CCGUCAUU CCUUUUU UGU miRNA 3' G CG C 5'
	A0A0P6IUE5	-31.3	1.000000e+00	6878	target 5' A A CC GCACUG A 3' GC GCGGGG GA AG GG CG CGUCCCG CU UC CC miRNA 3' C C C A A AAC 5'
	A0A6I8TC50	-31.8	1.000000e+00	3327	target 5' A CAGUGC GCCGACAU C G 3' CGGCA GGUGG UGGUGGU GCCGU CCGCC AUCACCA miRNA 3' CC C U AC 5'
	A0A0P6IUF2	-30.2	1.000000e+00	2209	target 5' C C GUCA AAGC C 3' CAGCC GU GGCCGCA GCCA GUUGG CG UUGGUGU CCGU miRNA 3' U A GA 5'
	A0A6I8T533	-35.0	1.000000e+00	7625	target 5' C AACAAUG G 3' GCAGC GGGGC CCAAGGC UGUCG UUUCG GGUUUCG miRNA 3' AGUA A C 5'
	A0A6I8T5Y2	-32.2	1.000000e+00	4106	target 5' A CUAGGCACA A 3' CAU CAGCUA GAGCGCCGAAGU GUA GUCGAU UUCGCGUUUCG miRNA 3' A U 5'
	A0A6I8T620	-31.9	1.000000e+00	8714	target 5' U UGUAA G 3' GGCUGAAGC GCCAAGG UCGAUUUCG CCGUUUC miRNA 3' AGUAUG G 5'
	A0A6I8T6H5	-36.9	1.000000e+00	4548	target 5' C GCCGACCUCCA U A 3' AGGCUGGGACA GG UGCGA UCCGGCCUGU UC ACGUU miRNA 3' A AU 5'
miR-9c-5p	A0A6I8T6I7	-35.5	1.000000e+00	668	target 5' C A CAAAAGCUGCCACC CUGGUAGAC U 3' AGCC G GGAUA GGUC UCCG C CUGU UCACG miRNA 3' A UUAU 5'
	A0A6I8T6J2	-35.8	1.000000e+00	7066	target 5' C UCCC C 3' AGGCCGGGA AGU GC UCCGCCCCU UCA CG miRNA 3' A GU UUAU 5'

A0A6I8T818	-32.7	1.000000e+00	7604	target 5' U C G AGCC A 3' GUG UGCCU UG CCGU CC UAC ACGGG AC GGCA GG miRNA 3' U A G A U C 5'
A0A6I8TAR8	-31.9	1.000000e+00	6950	target 5' C AAG CGCA C G G 3' GU GCCCC G CCG GCCG CA CGGGG C GGC UGGC miRNA 3' UUA A A A A 5'
A0A1S4F0R9	-33.2	1.000000e+00	9445	target 5' C GACGUA AAC C A 3' GUGGG CUGGGA GG UGCAA CGUCC GGCCCU UC ACGUU miRNA 3' GU AA 5'
A0A6I8TAY8	-34.8	1.000000e+00	1326	target 5' U GU U G 3' G GGCUGG GGUGCGA C CCGGCC UCACGUU miRNA 3' GU CUGU AA 5'
A0A6I8TB02	-30.3	1.000000e+00	1595	target 5' A GU UAG GAGGA C 3' AGACGGG C AGGUUA GACC UUUGCCC G UUCAGU CUGG miRNA 3' G GU G A 5'
A0A6I8TGW0	-33.0	1.000000e+00	9118	target 5' G GGA CUCCC CACAACGCAGCAGC G C 3' GUUAGA GACCC AUGA G GGCC CGAUCU CUGGG UACU U CCGG miRNA 3' A U G C 5'
A0A6I8TB27	-36.0	1.000000e+00	3273	target 5' G GGA C AACUJAGGU C 3' GUUAGA GACCC GUGG GCGGCC CGAUCU CUGGG UACU UGCCGG miRNA 3' A U C 5'
A0A6I8TB65	-34.5	1.000000e+00	5986	target 5' A AUJAUJGACG AAA C 3' ACAGC UGGG GACCAGAGA UGUCG AUCU UUGGUUUCU miRNA 3' AGUA A 5'

### 11.3 Anexo 3: Proteínas blanco de los miRNA de *C. Quinquefasciatus* recuperados

miRNA	GEN Symbol	MFE (KCAL/MOL)	P-value	Posición del blanco	Interacción
miR-1175-5p	B0X9R8	-37.5	1.000000e+00	1114	target 5' C CCGUGGGACCAUUCU A 3' GCUACUCUGGUGA UUCA GAGGU miRNA 3' U GAA 5'
	B0XH06	-36.8	1.000000e+00	810	target 5' U G A 3' GGUGAGGCCAU GCUCCAC miRNA 3' G CUACUCUGGUGUGAGGUG AA 5'
	B0WM39	-36.6	1.000000e+00	2231	target 5' A AG G 3' GGUGAGACCA UACUCCAC miRNA 3' G CUACUCUGGU AUGAGGUG AA 5'
	B0WKS6	-36.0	1.000000e+00	986	target 5' C GCUCUCA G 3' CGGUG AGCCCGCUACUCCAC miRNA 3' GCUAC UCUGGUGAUGAGGUG AA 5'
	B0W0Q0	-35.6	1.000000e+00	3887	target 5' G CCGGCC A 3' CGAUGAGACCCGU GCUCCA miRNA 3' GCUACUCUGGUGA UGAGGU GAA 5'
	B0W153	-36.7	1.000000e+00	877	target 5' U U G 3' CGGUG GGCCGUGCUCUAC miRNA 3' GCUAC CUGGUGAUGAGGUG AA 5'
	B0WD06	-35.3	1.000000e+00	2237	target 5' U CGCCC C 3' GAUGGG GCCACUACUCCG miRNA 3' GCUACUC UGGUGAUGAGGUG AA 5'
	B0W237	-35.0	1.000000e+00	961	target 5' U G A 3' GGUGAGGCCGUGC CUGCU miRNA 3' G CUACUCUGGUGAUG GGUGA A 5'
	B0W1W8	-34.9	1.000000e+00	407	target 5' U U G G 3' GAUGG GGCCGUGCUCG CU miRNA 3' GCUACU CUGGUGAUGAGGU GA A 5'
	B0XHU2	-34.9	1.000000e+00	909	target 5' U G 3' GGUGGGGUGCUGCUCUCC miRNA 3' GCUACUCUGGUGAUGAGGUG AA 5'
miR-14	B0XL91	-36.6	1.000000e+00	45	target 5' A G A G 3' GUGGAGAGAGAGAGAGA GA miRNA 3' UAUCUCUCUCUUUUUCU CU 5'
	XP_038104447	-35.5	1.000000e+00	795	target 5' U G A U 3' GUGGAGAGAGAGAGGGA GA miRNA 3' UAUCUCUCUCUUUUUCU CU 5'
	B0WF46	-35.4	1.000000e+00	1898	target 5' A G A 3' GGGAGAGAGAGAGAGA UGG miRNA 3' UA UCCUCUCUCUUUUUCU ACU 5'
	B0WEP6	-35.6	1.000000e+00	115	target 5' U G A G 3' GUGGGGAGAGAGAGAGA GA miRNA 3' UAUCUCUCUCUUUUUCU CU 5'

	CQUJHB011254	-35.0	1.000000e+00	687	target 5' A UGGGAGAGAGAAGAGGA GA G 3' AUGGGAGAGAGAAGAGGA GG miRNA 3' UAUCCUCUCUCUUUUUCU CU 5'
	B0W354	-35.4	1.000000e+00	173	target 5' G GGGAGAGAAAAGAGA UGG G 3' GGGAGAGAAAAGAGA UGG miRNA 3' UA UCCUCUCUCUUUUUCU ACU 5'
	B0WCZ4	-34.0	1.000000e+00	2595	target 5' A GGGAGAGAAAAGAGAU GA G 3' GGGAGAGAAAAGAGAU GA miRNA 3' UA UCCUCUCUCUUUUUCU CU 5'
	A0A1P7ZJC4	-34.0	1.000000e+00	4012	target 5' A AGGAGAGAAAAGAG C A A 3' AGGAGAGAAAAGAG AUUGA miRNA 3' UA UCCUCUCUCUUUUUC UGACU 5'
	B0WN85	-34.8	1.000000e+00	410	target 5' A A AGGGG AGAGAAAAGAGGCUA G 3' AGGGG AGAGAAAAGAGGCUA miRNA 3' UA UCCUCUCUCUUUUUCUGACU 5'
	B0W6L5	-33.3	1.000000e+00	181	target 5' C GGAGAGAGAGAG UG U 3' GGAGAGAGAGAGAG UG miRNA 3' UAU CCUCUCUCUUUUUC AC UG U 5'
miR-2	B0X9J0	-36.4	1.000000e+00	1635	target 5' A GA GCU UCGAGGCUUGUUGA C 3' GCU UCGAGGCUUGUUGA miRNA 3' CGA AGUUUCGACCGACACU AU 5'
	B0WKT9	-36.7	1.000000e+00	1106	target 5' G GUUCUUCG CCC AGCUGGUGUGU U 3' GUUCUUCG AGCUGGUGUGU miRNA 3' CGAGAAGU UCGACCGACACUA U 5'
	CQUJHB003328	-35.6	1.000000e+00	1738	target 5' U GG GCUC CAAGGCGUGGUG GA C 3' GCUC CAAGGCGUGGUG GA miRNA 3' AA CGAG GUUUCGACCGAC CU AU 5'
	CQUJHB010617	-35.6	1.000000e+00	1082	target 5' U GG GCUC CAAGGCGUGGUG GA C 3' GCUC CAAGGCGUGGUG GA miRNA 3' AA CGAG GUUUCGACCGAC CU AU 5'
	B0WHM9	-35.6	1.000000e+00	968	target 5' U GG GCUC CAAGGCGUGGUG GA C 3' GCUC CAAGGCGUGGUG GA miRNA 3' AA CGAG GUUUCGACCGAC CU AU 5'
	B0WAV1	-35.2	1.000000e+00	228	target 5' G GUUCGGA GUUCGGA U 3' GUUCGGA AAGCUGGUGUGAU U miRNA 3' CG AGAAGU UCGACCGACACUA U 5'
	B0XGY3	-30.5	1.000000e+00	229	target 5' C U AGAC CUCUUCG GGU GGCUGUGAU U 3' CUCUUCG GGU GGCUGUGAU miRNA 3' C GAGAAGU UCG CCGACACUA U 5'
	CQUJHB017696	-35.1	1.000000e+00	1549	target 5' C CUUCAGAGCUGGCU GUGA C 3' CUUCAGAGCUGGCU GUGA miRNA 3' CGA GAAGUUUCGACCGA CACU AU 5'
	B0WEB7	-35.3	1.000000e+00	9605	target 5' U AAG C GCUC UUCAAG GCUGGUGUGG A 3' GCUC UUCAAG GCUGGUGUGG miRNA 3' CGAG AAGUUU CGACCGACACU AU 5'
	B0WYB0	-35.8	1.000000e+00	1085	target 5' C GAAA U GUUC UCG GCGUGGUGUGAUG G 3' GUUC UCG GCGUGGUGUGAUG miRNA 3' CGAG AGU UCGACCGACACUAU 5'
miR-210-3p	B0W8M5	-30.5	1.000000e+00	696	target 5' G UUG UCAC AAACCUU UCUAGG ACCGAAUUUG U 3' AAACCUU UCUAGG ACCGAAUUUG miRNA 3' UUUGGAG AGAUUC UGGCUUAAAC 5'

	B0X240	-27.4	1.000000e+00	5483	target 5' G GAACCUC CU AACC GGAACCGGA G 3' UUUGGAG GA UCUUGGCCU miRNA 3' A AAAC 5'
	CQUJHB004060	-26.4	1.000000e+00	4097	target 5' C GC CUGGAACCGAA G 3' AGCC CU CUGGAACCGAA miRNA 3' U A GAUCUUGGCCU AAAC 5'
	B0X240	-27.4	1.000000e+00	5759	target 5' G GAACCUC CU AACC GGAACCGGA G 3' UUUGGAG GA UCUUGGCCU miRNA 3' A AAAC 5'
	B0WH17	-26.0	1.000000e+00	3124	target 5' C GCCC C 3' AACUC GGGCCGAGUU miRNA 3' U UUGGAG CUUGGCCUAA AC 5'
	B0WL15	-25.0	1.000000e+00	3759	target 5' G CG A U 3' GAACCUC CUGGAA CGA miRNA 3' U UUGGAG GAUCUU GCU UAAAC 5'
	B0XKL2	-25.3	1.000000e+00	891	target 5' C UG G CG A 3' G CUC UCU GAACCGGA UG miRNA 3' U UG AGA CUUGGCCUAA AC 5'
	B0WSY3	-24.0	1.000000e+00	2489	target 5' U G A 3' GCCUCUUUGGAA C miRNA 3' UU UGGAGAGAUUU G CUUAAAC 5'
	CQUJHB000039	-23.8	1.000000e+00	2759	target 5' U C G C 3' CCUCUCUG GAU GAGUU miRNA 3' UUU GGAGAGAU UUG CUUAA AC 5'
	B0XCS2	-24.4	1.000000e+00	356	target 5' C GG GAA A 3' GCC C GGAGCGGAUUUG miRNA 3' UU UG G UCUUGGCCUAAAC 5'
miR-278	B0WNC5	-34.5	1.000000e+00	3799	target 5' G G A 3' UGGUGCUGCC GGUGAGG miRNA 3' AG AUUACGACGG CCAUUCU AC 5'
	CQUJHB000137	-30.2	1.000000e+00	104	target 5' A U AU A 3' UCUGGUG CUGUCCGG GGA miRNA 3' AGAUUAC GACGGGCC UCU AC 5'
	CQUJHB000309	-33.6	1.000000e+00	21	target 5' G G U 3' UCUGGUG UGCCUGGUGAG miRNA 3' AGAUUAC ACGGGCCAUC UAC 5'
	B0WYY7	-31.5	1.000000e+00	1084	target 5' C A G 3' UGCUGCCCGGUG AGG miRNA 3' AGAUU ACGACGGGCCAU UCU AC 5'
	B0X1J7	-30.9	1.000000e+00	1136	target 5' G A A 3' CUGG GCUGCCCGG AGAU miRNA 3' A A CGACGGGCC UCUA C 5'
	B0W3E0	-31.4	1.000000e+00	2128	target 5' C GCGUC C 3' CUGGUGCUGUUCGGU GAGAU miRNA 3' A GAUUACGACGGGCCA UUCUA C 5'
	B0WZ35	-36.1	1.000000e+00	333	target 5' G C G 3' UCUG UGCUGCCUGGUGAG UG miRNA 3' AGAU ACGACGGGCCAUUC AC U 5'

	B0XAW0	-31.3	1.000000e+00	458	target 5' A UCUGGUC GAC A CUC G 3' AGAUUACG UGC CCGG GAGAU UUCUAC miRNA 3' A A
	B0X898	-32.4	1.000000e+00	4189	target 5' C C 3' GCUGUCCGGUGAGA miRNA 3' AGAUUA AC 5' CGACGGGCCAUUCU
	B0X898	-32.4	1.000000e+00	4120	target 5' C C 3' GCUGUCCGGUGAGA miRNA 3' AGAUUA AC 5' CGACGGGCCAUUCU
miR-283	B0X3E6	-35.9	1.000000e+00	1314	target 5' A C G C C G G C 3' CGACGGGGCAGGUU CGUUU miRNA 3' UAG AA GUAAG GCUGUCCCGUCAA
	B0WL11	-35.7	1.000000e+00	594	target 5' C GUUGCCCA G G 3' AUCCG GCGGGGAGGA UUUUG miRNA 3' UAGGC UGUCCCGUCCU AAAGU AAGAA 5'
	B0W8H5	-35.3	1.000000e+00	249	target 5' U A C G G A U U G A G A A 3' UCC GAC GGG GAGAUUUUCAUU miRNA 3' U AGG CUG CCCG UCCUAAAAGUAAGA A 5'
	B0W5Z6	-35.0	1.000000e+00	767	target 5' A G A G A G A G 3' CC GACGGGG CAGGA UUCGUUC miRNA 3' UA GG CUGUCC GUCCU AA AAGUAAG AA 5'
	B0XE12	-35.5	1.000000e+00	1661	target 5' G AUCCGGGGGG AGGAU UCAU G 3' UAGGCUGUCC UCCUA AGUA miRNA 3' G AA AGAA 5'
	B0X5C5	-34.1	1.000000e+00	1254	target 5' U U G G A 3' GUCCGAC GGGG GGAU U CA miRNA 3' U U U AA AAGAA 5' UAGGCUG CCCG CUAU GU
	B0XD93	-33.1	1.000000e+00	639	target 5' U U C E G G A G C 3' UCCGAC GGGGU AGGA UUUUUC miRNA 3' U AGGCUG UCCG UCCU AAGUAAG AA 5'
	CQUJHB002067	-34.6	1.000000e+00	186	target 5' C A C G U G A A G G 3' UCCGACGGG GGG UUUU GUUCU miRNA 3' U AGGCUGUCC UCC AAAAG UAAGA A 5'
	B0XJT8	-34.8	1.000000e+00	1379	target 5' C C C U G G C 3' CCG CAGGGCAGG CGUUC miRNA 3' UA U GGC GUCCCGUCC UAAAA GUAAG AA 5'
	CQUJHB004566	-34.1	1.000000e+00	608	target 5' G C G 3' AUCCGGCAGG CA GAUUUCG UCU miRNA 3' UAGGCUGUCC GU CUAAGU AGA A 5' C C A A
miR-285-5p	CQUJHB013746	-36.3	1.000000e+00	204	target 5' A U U G 3' UCUGC CACCUUUGGA GCUUGU miRNA 3' A GUAUG GUGGAAACCU CGGUCA U 5'
	B0W7Z1	-36.3	1.000000e+00	762	target 5' G G G G 3' UACUCACU UGG GCCAG miRNA 3' AG AUGAGUGG ACC CGGUC AA UU A 5'
	B0WBK8	-36.1	1.000000e+00	1885	target 5' G G C U 3' UCUGCUCAC UUUGGA GUCGGU miRNA 3' AGAUGAGUG AAACCUU CGGUCA G 5'
	B0W7Z1	-36.3	1.000000e+00	1178	target 5' G G G G 3' UACUCACU UGG GCCAG miRNA 3' AG AUGAGUGG ACC CGGUC AA UU A 5'
	B0WY25	-35.1	1.000000e+00	429	target 5' G C C G 3' UC GCUCGU UGGAAGCCGG miRNA 3' A AGAGUGG ACCUUCGGUC AA A 5'

	B0WAU2	-35.0	1.000000e+00	1205	target 5' C CUGCUCACC G CGAU A 3' miRNA 3' A GAUGAGUGG GGA GGC CGG UCGGUC A 5'
	B0X149	-35.0	1.000000e+00	1404	target 5' G CUGCUCACC GGA UUC A 3' miRNA 3' A GAUGAGUGG ACC UCGGUC A 5'
	B0XGK1	-35.4	1.000000e+00	171	target 5' A UCGCUCACC GG CCACCUA A 3' miRNA 3' A GAUGAGUGG GGA CCU AGCCGG UCGGUC A 5'
	B0WVQ7	-35.2	1.000000e+00	1163	target 5' C G GC U 3' miRNA 3' A CUGCU ACCU GGAGGUCAGU GAUGA UGGA CCUUCGGUCA G AA 5'
	B0XA18	-35.4	1.000000e+00	320	target 5' U UGU GACGG GG C 3' miRNA 3' A UCUAC CGCC UGG GCCAG AGAUG GUGG ACC CGGUC A 5'
miR-305-5p	B0XG23	-36.9	1.000000e+00	868	target 5' U UG U 3' miRNA 3' GGAGC CUGGUGAUGUACG UCUCG GACUACUUAUGU UG UA 5'
	B0WY02	-36.8	1.000000e+00	2704	target 5' A GGAGCACCUGAUGAGG ACA U 3' miRNA 3' UCUCGUGGACUACUUC UGU UA 5'
	CQUJHB009169	-35.2	1.000000e+00	771	target 5' C G GC G 3' miRNA 3' AGAGCACCU GAUG GUACAA UCUCGUGGA CUAC CAUGUU A 5'
	B0WCW8	-35.8	1.000000e+00	879	target 5' U UG G 3' miRNA 3' GGGGC UUGAUGGAGUACAA UCUCG GACUACUUAUGUU UG A 5'
	B0WW55	-35.0	1.000000e+00	1715	target 5' A C C 3' miRNA 3' GGGGCACCUGGUG GGUACG UCUCGUGGACUAC UCAUGU U UA 5'
	B0W9C4	-34.3	1.000000e+00	359	target 5' G C 3' miRNA 3' GGAGUACCUGAUG AGUACG UCUCGUGGACUAC UCAUGU U UA 5'
	B0WFB2	-34.0	1.000000e+00	1351	target 5' G GA G 3' miRNA 3' AGAGUAC UGAUGAAGUACAA UCUCGUG ACUACUUAUGUU G A 5'
	CQUJHB002515	-34.9	1.000000e+00	2480	target 5' A G 3' miRNA 3' GGAGCACCUGAUGAAG UCUCGUGGACUACUUC AUGUUA 5'
	CQUJHB006621	-34.9	1.000000e+00	957	target 5' C GG UG C 3' miRNA 3' AGAGCACUUGAUG GU A UCUCGUGGACUAC CA U UU UG UA 5'
	B0W757	-34.3	1.000000e+00	765	target 5' A U C 3' miRNA 3' AGA GCGCCUGGUGGAGUAC UCU CGUGGACUACUUAUG UUA 5'
miR-71-3p	B0WDD7	-36.1	1.000000e+00	1425	target 5' A ACC C 3' miRNA 3' GUGAA GGGCAGGGUAGUGAGA UACUU UCUGUCCAUCACUCU 5'
	B0WXY8	-35.0	1.000000e+00	2668	target 5' A UGCCC C 3' miRNA 3' CAUGA AGGGCAAGGUGGUGGA GUACU UCUGUCCAUCACUCU 5'

	B0W4A0	-35.7	1.000000e+00	432	target 5' C UG UG G 3' UGAGAG AAGGUAGUGGGA ACUUUC UUCAUCACUCU miRNA 3' GU UG 5'
	CQUJHB016306	-35.2	1.000000e+00	479	target 5' U UAC G 3' CAUGAAGGACAAG GUGGUGAGA GUACUUUCUGUUC CAUCACUCU miRNA 3' 5'
	B0X6V2	-34.2	1.000000e+00	1642	target 5' G C U 3' AUGAGGGACGGGU GGUGGGA UACUUUCUGUCCA UCACUCU miRNA 3' G 5'
	B0WWU4	-34.7	1.000000e+00	1775	target 5' C G G 3' GAAGGA AAGGUAGUGAGA CUUUCU UUCAUCACUCU miRNA 3' GUA G 5'
	CQUJHB005729	-33.1	1.000000e+00	4711	target 5' G GG G C A 3' GUG GGA GAGGUAGUG AGA UAC UCU UUCAUCAC UCU miRNA 3' G UU G 5'
	B0WUJ9	-32.2	1.000000e+00	1208	target 5' G UGAU G 3' CAUGAG GAUGAGGUGGUGGG GUACUU CUGUCCAUCACUCU miRNA 3' U 5'
	CQUJHB011355	-32.9	1.000000e+00	807	target 5' G UAU UG G 3' CGUG GGG AGGGUGGUGAGA GUAC UUC UUCAUCACUCU miRNA 3' U UG 5'
	B0X316	-32.2	1.000000e+00	569	target 5' C GG G G 3' UG GGA GGGUGGUGGGG AC UCU UUCAUCACUCU miRNA 3' GU UU G 5'
miR-79	CQUJHB016117	-37.3	1.000000e+00	260	target 5' C G A A 3' GCCUUUUAUCAGU UUCGG CCA CGGAAUAGUCA GAGGC GGU miRNA 3' A A 5'
	B0WR27	-37.3	1.000000e+00	383	target 5' C CCC UCAG C 3' GCCUU GUCCGU UCUCGUCC CGGGAA UAGUCA AGAGGCAGG miRNA 3' U 5'
	CQUJHB008095	-36.0	1.000000e+00	1946	target 5' A C GCA G 3' GUCC UGUCGGU CUCCGUCCA CGGG AUAGUCA GAGGCAGGU miRNA 3' A A 5'
	CQUJHB012594	-35.7	1.000000e+00	427	target 5' U G AACGGCACCA G 3' GCCU UAUCGGUUCU CCGUCCA CGGG AUAGUCAAGA GGCAGGU miRNA 3' A 5'
	B0WK26	-35.4	1.000000e+00	929	target 5' C CA A 3' GCCUU AGUUCUCCGUCCA CGGGA UCAAGAGGCAGGU miRNA 3' AUAG 5'
	B0X4J2	-35.5	1.000000e+00	539	target 5' C G C C 3' GCCCU C GUUCUCCGUCC CGGGA G CAAGAGGCAGG miRNA 3' AUA U 5'
	B0WYX1	-34.5	1.000000e+00	1841	target 5' A G GA C 3' CCCUUGU CGGUUC UCCGUCC GGGAAU GUCAAG AGGCAGG miRNA 3' C 5'
	B0WHQ1	-34.5	1.000000e+00	657	target 5' G G CGG GAAG G 3' GCC U GUCAGUCCCG CCA CGG A UAGUCAAGAGGC GGU miRNA 3' G A A 5'
	CQUJHB006116	-34.8	1.000000e+00	10	target 5' A GACA U 3' UCCUUUUCAGUUCU GUCCA GGGAAUAGUCAAGAG CAGGU miRNA 3' C G 5'

	CQUJHB007400	-34.9	1.000000e+00	389	target 5' C GGU UCAGUUC CCGUCCG A 3' GCCU UCAGUUC CCGUCCG CCGG AGUCAAG GGCAAGU miRNA 3' AAU A 5'
miR-989	B0WBP8	-36.3	1.000000e+00	74	target 5' C UG A 3' UGCU UACGUCACGUCACA AUGG AUGCAGUGUAGUGU miRNA 3' C UG 5'
	B0WE47	-35.5	1.000000e+00	568	target 5' C A 3' GCCGUCGCGUCGCGUCA UGGUGAUGCAGUGUAGU miRNA 3' CA GU 5'
	B0W4Q9	-34.8	1.000000e+00	1886	target 5' U G C 3' UG CCGUCGUCGCGUCGCA AU GUGAUGCAGUGUAGUGU miRNA 3' C G 5'
	B0W6K7	-33.5	1.000000e+00	593	target 5' C U 3' GU CCACUACGUUGCAUCAC CA GGUGAUGCAGUGUAGUG miRNA 3' U 5'
	B0X4T7	-33.7	1.000000e+00	3227	target 5' C CGCACGCC U 3' UACCCACU ACGUCACAUAC AUGGUGA UGCAGUGUAGUGU miRNA 3' C U 5'
	B0X891	-33.0	1.000000e+00	14	target 5' C AGUUGGACGGAAGU U 3' GUACCCGUG CGUCGCGCGG CAUGGUGAU GCAGUGUAGUGU miRNA 3' 5'
	B0X348	-33.9	1.000000e+00	53	target 5' C UUGU C 3' GUGCCACU UGUCGCGUCGCG CAUGGUGA GCAGUGUAGUGU miRNA 3' U 5'
	CQUJHB003723	-32.3	1.000000e+00	6	target 5' A UUAUGU A 3' GCCGCUACGUUACA UCGCA UGGUGAUGCAGUGU AGUGU miRNA 3' CA 5'
	B0W486	-32.4	1.000000e+00	3007	target 5' G C 3' ACCGCU CGUCGCAUCGC UGGUGA GCAGUGUAGUG miRNA 3' CA U 5'
	B0WND1	-32.2	1.000000e+00	889	target 5' C G A 3' GCUGC GCGUCACAUCGCG UGGUG UGCAGUGUAGUGU miRNA 3' CA A 5'
miR-993-5p	B0W9C4	-34.2	1.000000e+00	570	target 5' C A C G 3' CCCC GGG CUGCAGGGUG CGGG CCU GAUGUCCAU miRNA 3' UUUU U 5'
	CQUJHB000401	-33.2	1.000000e+00	1267	target 5' U G GGC G 3' GGAGC CCGAAC CAGG UUUUCG GGCCUUG GUCCC miRNA 3' U AU AU 5'
	B0WEX0	-33.4	1.000000e+00	283	target 5' C UCAC C U 3' GGCCCGGA CUGC GGGUG UCGGGCCU GAUG CCCAU miRNA 3' UUU U 5'
	B0W5Y7	-33.4	1.000000e+00	993	target 5' U UU A 3' GGAAGU G AGCUGCAGGGUA UUUUCG C UUGAUGUCCAU miRNA 3' GG C 5'
	B0WH17	-32.0	1.000000e+00	1051	target 5' C U UG A 3' GGCCCGGG AUU AGGG UCGGGCCU UG UCCC miRNA 3' UUU UG AU 5'
	B0WL15	-32.4	1.000000e+00	2328	target 5' C AGGGACCCUACCG C G 3' GAGGCC GGAGCUCAGG G UUUCCGG CCUUGAUGUCC C miRNA 3' U AU 5'

	B0WNC5	-32.2	1.000000e+00	215	target 5' C CGUUUUUGUGGAAC AGCUUU G 3' AAGCCCGGAACU GC GGGGUG UUCGGCCUUGA UG UCCCAU 5' miRNA 3' UU
	B0XHD1	-32.0	1.000000e+00	694	target 5' C U GUGUU U 3' GGCCCGG GAC CGGGGUG UCGGGCC UUG GUCCCAU 5' miRNA 3' UUU AU
	B0X498	-31.6	1.000000e+00	688	target 5' C AGAA C C 3' GAAGC CGGAACUACGG GG UUUCG GCCUUGAUGUC CC miRNA 3' U G AU 5'
	B0XJU3	-31.9	1.000000e+00	1571	target 5' C G U G 3' GCCCCGGGCUG AGG G CGGGCCUUGAU UCC C miRNA 3' UUUU G AU 5'