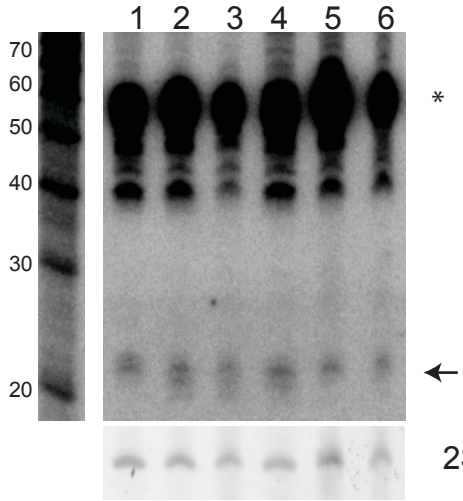
A

mir-10404/mir-ITS1 hairpin

mature (5p) star(3p)

```
D. mel ~tt--ttanggtata--taa-a--t--aca--ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAaacata-at--tgac--attat-a-t--a~~~>100
D. sim ~tt--t-a-ggtata--aaa-a--t--aaa--ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAaaca-atat--tgac--attat-a-t--a~~~>98
D. sec ~tt--t-a-ggtata--aaa-a--t--aaa--ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAaaca-atat--tgac--attat-a-t--a~~~>98
D. yak ~tt--t-a-ggtata--aaa-a--t--aca--ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAaaaatt-at--tgac--a--at-ant--at~~>98
D. ere ~tt--t-a-ggtata--aaa-a--t--aca--ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAaacaaa-at--tgac--attat-a-t--a~~~>98
D. ana ~tt--t-a-ggtata--aaa-a--t--aaa--ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTTAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAaatata-aa--tgacgaat--t-g-t--a~~~>98
D. pse ~tt--t-a-gg-ata---aa-a--ttaaaa--ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAgacat--atc-tgac--a--a--a-t--aaat>98
D. per ~tt--t-a-gg-ata---aa-ac-ta-aaa--ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAgacat--atc-tgac--a--a--a-t--aaat>98
D. wil attcgtttgggt-ta---ag-a--t-------ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAaatatt-at--tgac---gta--a-tgaa~~~>98
D. moj ~tt----a-ggtata---aa-aatt--ttt--ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAA--catatatg-tgac---gta--a-tgaa~~~>98
D. vir aat--tta-ggtata---aaca-----a-t--ttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAaacat---ttgtgac---gta--a-tgaa~~~>98
D. gri ~tt--tt----t-taggtaa-a--t---caatttTATTGAAGGAATTGATATATGCCAGTAAAATGGTGTATTTTTAATTTCTTTCAATAAAtatatt-tt--tgac--a--atga----aat~>98
```

B



1. *D. melanogaster*
2. *D. yakuba*
3. *D. ananassae*
4. *D. willistoni*
5. *D. arizonae*
6. *D. virilis*

Chak et al. Figure S2