

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202491110** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.08.07

(51) Int. Cl. *C12N 15/113* (2010.01)
A61K 31/713 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.10.27

(54) **КОМПОЗИЦИИ иРНК ФАКТОРА КОМПЛЕМЕНТА В (CFB) И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) **63/273,215**

(32) **2021.10.29**

(33) **US**

(86) **PCT/US2022/047987**

(87) **WO 2023/076451 2023.05.04**

(71) Заявитель:
**ЭЛНИЛЭМ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Макайнинч Джеймс Д., Шлегель
Марк К., Касторено Адам,
Фишилевич Элейн, Юсиус Кристина
(US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к средствам для РНКи, например средствам на основе дцРНК, нацеливающим на ген фактора комплемента В (CFB). Изобретение также относится к способам применения таких средств для РНКи для ингибирования экспрессии гена CFB и к способам лечения или предотвращения ассоциированного с CFB заболевания у субъекта.

A1

202491110

202491110

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-580914EA/061

КОМПОЗИЦИИ ИРНК ФАКТОРА КОМПЛЕМЕНТА В (СФВ) И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Родственная заявка

По настоящей заявке испрашивается приоритет Предварительной патентной заявки США No. 63/273215, поданной 29 октября 2021 г. Полное содержание предшествующей заявки приведено в настоящем описании путем ссылки.

Уровень техники для изобретения

Комплемент был впервые открыт в 1890-е, когда было обнаружено, что он поддерживает или «комплементирует» уничтожение бактерий термостабильными антителами, присутствующими в нормальной сыворотке (Walport, M.J. (2001) *N Engl J Med.* 344:1058). Система комплемента состоит из более чем 30 белков, которые либо присутствуют в форме растворимых белков в крови, либо присутствуют в форме ассоциированных с мембраной белков. Активация комплемента приводит к последовательному каскаду ферментных реакций, известных как пути активации комплемента, приводящих к образованию активных анафилатоксинов C3a и C5a, вызывающих огромное количество физиологических ответов, лежащих в диапазоне от хемоаттракции до апоптоза. Первоначально, считали, что комплемент играет главную роль во врожденном иммунитете, где сильный и быстрый ответ устанавливается против проникающих патогенов. Однако, в недавнее время становилось все более очевидным, что комплемент также играет важную роль в приобретенном иммунитете, вовлекая Т- и В-клетки, который помогает в уничтожении патогенов (Dunkelberger JR and Song WC. (2010) *Cell Res.* 20:34; Molina H, *et al.* (1996) *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93:3357), в поддержании иммунологической памяти, предотвращающей повторное проникновение патогенов, и вовлечен в многочисленные патологические состояния человека (Qu, H, *et al.* (2009) *Mol Immunol.* 47:185; Wagner, E. and Frank MM. (2010) *Nat Rev Drug Discov.* 9:43).

Известно, что активация комплемента происходит посредством трех различных путей: альтернативного, классического и лектинового (фигура 1), вовлекающих белки, которые по большей части существуют в форме неактивных зимогенов, которые затем последовательно расщепляются и активируются.

Классический путь часто активируется посредством комплексов антитело-антиген или посредством С-реактивного белка (CRP), все из которых взаимодействуют с компонентом комплемента C1q. Кроме того, классический путь может активироваться посредством фосфатидилсерина, присутствующего в апоптотических тельцах в отсутствие иммунных комплексов.

Лектиновый путь инициируется посредством связывающих маннозу лектинов (MBL), которые связываются с комплексными остатками углевода на поверхности патогенов. Активация классического пути или лектинового пути приводит к активации (C4b2b) C3-конвертазы.

Альтернативный путь активируется посредством связывания C3b, который спонтанно образуется посредством гидролиза C3, на поверхностях мишеней. Этот связанный с поверхностью C3b затем подвергается узнаванию фактором В, формируя комплекс C3bВ. Комплекс C3bВ, в свою очередь, расщепляется посредством фактора D с получением активной формы C3-конвертазы AP (C3bBb). Оба типа C3-конвертаз могут расщеплять C3, формируя C3b. C3b затем либо связывается с еще большим количеством фактора В, усиливая активацию комплемента посредством AP (так называемой альтернативной петли или петли усиления), либо приводит к формированию активной C5-конвертазы (C3bBbC3b или C4bC2bC3b), которая расщепляет C5 и запускает поздние события, приводящие к формированию мембраноатакующего комплекса (МАС) (C5b-9).

Ненадлежащая активация системы комплемента является ответственной за распространение или инициацию патологии при многих различных заболеваниях, включая, например, C3-гломерулопатию, системную красную волчанку (SLE), например, волчаночный нефрит, IgA-нефропатию, диабетическую нефропатию, поликистоз почек, мембранозную нефропатию, связанную с возрастом дегенерацию желтого пятна, атипичный гемолитико-уремический синдром, тромботическую микроангиопатию, миастению, ишемическое и реперфузионное повреждение, пароксизмальную ночную гемоглобинурию и ревматоидный артрит.

До настоящего времени, только одно терапевтическое средство, нацеливающее на альтернативный путь, например, ось C5-C5a, является доступным для лечения ассоциированных с компонентом комплемента заболеваний, антитело против C5, экулизумаб (Солирис®). Несмотря на то, что показано, что экулизумаб является эффективным для лечения пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH), атипичного гемолитико-уремического синдрома (aHUS) и миастении гравис, и в настоящее время его оценивают в клинических исследованиях для дополнительных ассоциированных с компонентом комплемента заболеваний, терапия экулизумабом требует еженедельных инфузий высоких доз с последующими поддерживающими инфузиями раз в две недели при высокой стоимости. Кроме того, приблизительно 50% подвергнутых лечению экулизумабом субъектов с PNH имеют низкий уровень гемолиза и требуют остаточных трансфузий (Hill A, *et al.* (2010) *Haematologica* 95(4):567-73).

Соответственно, в данной области существует потребность в композициях и способах для лечения заболеваний, нарушений и состояний, ассоциированных с активацией комплемента, посредством, например, активации активности фактора комплемента В.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к композициям иРНК, влияющим на опосредованное индуцированным РНК комплексом сайленсинга (RISC) расщепление транскриптов РНК гена, кодирующего фактор комплемента В (CFB). Фактор комплемента В (CFB) может находиться внутри клетки, например, клетки внутри организма субъекта, такого как субъект-человек.

Соответственно, в одном аспекте, настоящее изобретение относится к средству на основе двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии фактора комплемента В (CFB) в клетке, где средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, формирующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:1 и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23, непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем 1, 2 или 3 нуклеотида от соответствующей части нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:8.

В другом аспекте, настоящее изобретение относится к двухцепочечной рибонуклеиновой кислоте (дцРНК) для ингибирования экспрессии фактора комплемента В (CFB) в клетке, где указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, формирующие двухцепочечную область, где антисмысловая цепь содержит область комплементарности мРНК, кодирующей фактор комплемента В (CFB), и где область комплементарности содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23, непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую любую из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК содержит антисмысловую цепь, содержащую любую из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую любую из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3, и антисмысловую цепь, содержащую любую из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 4 нуклеотида от любой из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3, и антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 4 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 3 нуклеотида от любой из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3, и антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 3 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 2 нуклеотида от любой из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3, и антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 2 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 1 нуклеотид от любой из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3, и антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 1 нуклеотид от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

В другом аспекте, настоящее изобретение относится к двухцепочечной рибонуклеиновой кислоте (дцРНК) для ингибирования экспрессии фактора комплемента В (CFB) в клетке, где указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, формирующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем 0, 1, 2, 3 или 4 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей из нуклеотидов 504-526, 640-662, 641-663, 995-1017, 997-1019, 1034-1056, 1141-1163, 1145-1167, 1389-1411, 1473-1495, 1826-1848, 1828-1850, 1842-1864, 2242-2264, 2391-2413, 2393-2415, 2438-2460 или 2453-2475 из SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23, непрерывных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:8.

В одном варианте осуществления, антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23, непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем 0, 1, 2, 3 или 4 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

В одном варианте осуществления, смысловая цепь и антисмысловая цепь содержат по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23, непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем 0, 1, 2, 3 или 4 нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи и антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

В одном варианте осуществления, смысловая цепь и антисмысловая цепь содержат нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи дуплекса,

выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

В одном варианте осуществления, смысловая цепь и антисмысловая цепь состоят из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи и антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид.

В одном варианте осуществления, в основном все из нуклеотидов смысловой цепи; в основном все из нуклеотидов антисмысловой цепи содержат модификацию; или в основном все из нуклеотидов смысловой цепи и в основном все из нуклеотидов антисмысловой цепи содержат модификацию.

В одном варианте осуществления, все из нуклеотидов смысловой цепи содержат модификацию; все из нуклеотидов антисмысловой цепи содержат модификацию; или все из нуклеотидов смысловой цепи и все из нуклеотидов антисмысловой цепи содержат модификацию.

В одном варианте осуществления, по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 3'-концевого дезокситимидинового (dT) нуклеотида, 2'-О-метил-модифицированного нуклеотида, 2'-фтор-модифицированного нуклеотида, 2'-дезоксид-модифицированного нуклеотида, запертого нуклеотида, незапертого нуклеотида, конформационно ограниченного нуклеотида, конформационно ограниченного этилом нуклеотида, лишённого азотистого основания нуклеотида, 2'-амино-модифицированного нуклеотида, 2'-О-аллил-модифицированного нуклеотида, 2'-С-алкил-модифицированного нуклеотида, 2'-метоксиэтил-модифицированного нуклеотида, 2'-О-алкил-модифицированного нуклеотида, морфолино-нуклеотида, фосфорамидата, содержащего неприродное основание нуклеотида, тетрагидропиран-модифицированного нуклеотида, 1,5-ангидрогексит-модифицированного нуклеотида, циклогексенил-модифицированного нуклеотида, нуклеотида, содержащего фосфоротиоатную группу, нуклеотида, содержащего метилфосфонатную группу, нуклеотида, содержащего 5'-фосфат, нуклеотида, содержащего миметик 5'-фосфата, нуклеотида, содержащего 2'-фосфатную группу, например, цитидин-2'-фосфата (C2p); гуанозин-2'-фосфата (G2p); уридин-2'-фосфата (U2p); аденозин-2'-фосфата (A2p); термически дестабилизирующего нуклеотида, гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA) и 2-О-(N-метилацетамид)-модифицированного нуклеотида; и их комбинаций.

В одном варианте осуществления, модификации нуклеотидов выбраны из группы, состоящей из LNA, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтила, 2'-О-алкила, 2'-О-аллила, 2'-С-аллила, 2'-фтора, 2'-дезоксидеокси, 2'-гидроксила и гликоля; и их комбинаций.

В одном варианте осуществления, по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 2'-О-метилмодифицированного нуклеотида, 2'-фтор-модифицированного нуклеотида, 2'-дезоксимодифицированного нуклеотида, гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA), например, Ggn, Cgn, Tgn или Agn, нуклеотида, содержащего 2'- фосфатную группу, и винилфосфонатного нуклеотида; и их комбинаций.

В другом варианте осуществления, по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов представляет собой термически дестабилизирующую модификацию нуклеотида.

В одном варианте осуществления, термически дестабилизирующая модификация нуклеотида выбрана из группы, состоящей из модификации лишения азотистого основания; несоответствия противоположному нуклеотиду в дуплексе; и дестабилизирующей модификации сахара, 2'-дезоксимодификации, ациклического нуклеотида, незапертой нуклеиновой кислоты (UNA) и глицериновой нуклеиновой кислоты (GNA).

Двухцепочечная область может иметь длину 19-30 пар нуклеотидов; длину 19-25 пар нуклеотидов; длину 19-23 пары нуклеотидов; длину 23-27 пар нуклеотидов; или длину 21-23 пары нуклеотидов.

В одном варианте осуществления, каждая цепь независимо имеет длину не более, чем 30 нуклеотидов.

В одном варианте осуществления, смысловая цепь имеет длину 21 нуклеотид, и антисмысловая цепь имеет длину 23 нуклеотида.

Область комплементарности может иметь длину по меньшей мере 17 нуклеотидов; длину 19-23 нуклеотида; или длину 19 нуклеотидов.

В одном варианте осуществления, по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 3'-конец из по меньшей мере 1 нуклеотида. В другом варианте осуществления, по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 3'-конец из по меньшей мере 2 нуклеотидов.

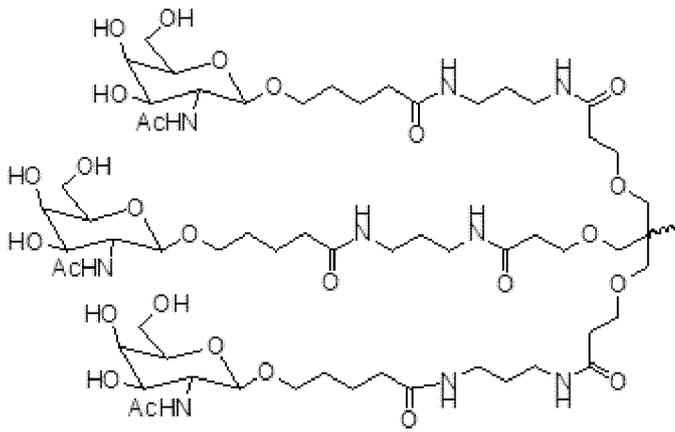
В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК дополнительно содержит лиганд.

В одном варианте осуществления, лиганд является конъюгированным с 3'-концом смысловой цепи средства на основе дцРНК.

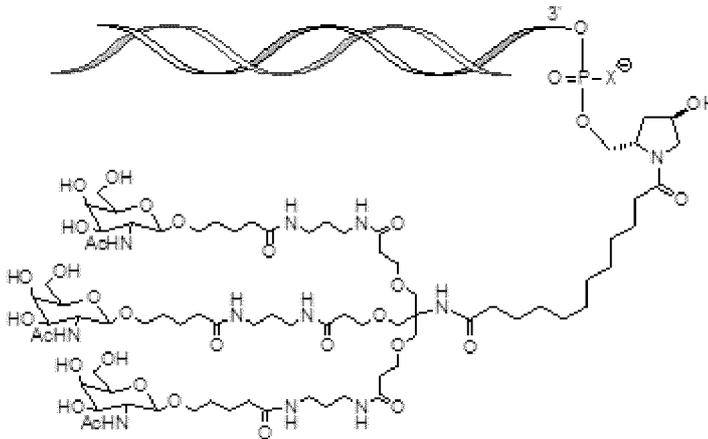
В одном варианте осуществления, лиганд представляет собой производное N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

В одном варианте осуществления, лиганд представляет собой одно или несколько производных GalNAc, присоединенных посредством одновалентного, двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера.

В одном варианте осуществления, лиганд представляет собой



В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК является конъюгированным с лигандом, как показано на следующей схеме



и где X представляет собой O или S.

В одном варианте осуществления, X представляет собой O.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь.

В одном варианте осуществления, фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь присутствует на 3'-конце одной цепи, например, антисмысловой цепи или смысловой цепи.

В другом варианте осуществления, фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь присутствует на 5'-конце одной цепи, например, антисмысловой цепи или смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, фосфоротиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь присутствует на обоих 5'- и 3'-концах одной цепи. В одном варианте осуществления, цепь представляет собой антисмысловую цепь.

В одном варианте осуществления, пара оснований в положении 1 5'-конца антисмысловой цепи дуплекса представляет собой пару оснований AU.

Настоящее изобретение также относится к клеткам, содержащим любое из средств на основе дцРНК по настоящему изобретению, и к фармацевтическим композициям, содержащим любое из средств на основе дцРНК по настоящему изобретению.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может включать средство на основе дцРНК в незабуференном растворе, например, солевом растворе или воде, или фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может включать средство на основе дцРНК в буферном растворе, например, в буферном растворе, содержащем ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат, или любую их комбинацию; или фосфатно-солевой буфер (PBS).

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к способу ингибирования экспрессии гена фактора комплемента В (CFB) в клетке. Способ включает приведение клетки в контакт с любой из дцРНК по настоящему изобретению или с любой из фармацевтических композиций по настоящему изобретению, таким образом, ингибирование экспрессии гена CFB в клетке.

В одном варианте осуществления, клетка находится внутри организма субъекта, например, субъекта-человека, например, субъекта, имеющего ассоциированное с фактором комплемента В нарушение. Такие нарушения, как правило, являются ассоциированными с воспалением или активацией иммунной системы, например, опосредованными мембраноатакующим комплексом лизисом, анафилаксией или гемолизом. Неограничивающие примеры ассоциированных с фактором комплемента В нарушений включают пароксизмальную ночную гемоглобинурию (PNH), атипичный гемолитико-уремический синдром (aHUS), астму, ревматоидный артрит (RA); синдром антифосфолипидных антител; волчаночный нефрит; ишемически-реперфузионное повреждение; типичный или инфекционный гемолитико-уремический синдром (tHUS); болезнь плотных депозитов (DDD); оптиконевромиелит (NMO); мультифокальную моторную невропатию (MMN); рассеянный склероз (MS); дегенерацию желтого пятна (например, связанную с возрастом дегенерацию желтого пятна (AMD)); синдром гемолиза, увеличения активности печеночных ферментов и низкого количества тромбоцитов (HELLP); тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру (TTP); спонтанную потерю плода; слабоиммунный васкулит; буллезный эпидермолиз; рецидивирующую потерю плода; преэклампсию, травматическое повреждение головного мозга, миастению гравис, болезнь холодовых агглютининов, дерматомиозит, буллезный пемфигоид, связанный с токсином шига *E. coli* гемолитико-уремический синдром, С3-невропатию, ассоциированный с антителами против цитоплазмы нейтрофилов васкулит (например, гранулематоз с полиангиитом (ранее известный как гранулематоз Вегенера), синдром Черджа-Стросс и микроскопический полиангиит), гуморальное и васкулярное отторжение трансплантата, дисфункцию трансплантата, инфаркт миокарда (например, повреждение и ишемию ткани при инфаркте миокарда), аллогенный трансплантат, сепсис (например, плохой исход при сепсисе), болезнь коронарных артерий, дерматомиозит, болезнь Грэйвса, атеросклероз, болезнь Альцгеймера, системный воспалительный ответ при сепсисе, септический шок, повреждение спинного мозга, гломерулонефрит, тиреоидит Хашимото, диабет I типа, псориаз, пемфигус, аутоиммунную гемолитическую анемию (АНА), ИТР, синдром Гудпасчера, болезнь Дегоса, антифосфолипидный синдром (APS),

катастрофический APS (CAPS), сердечно-сосудистое нарушение, миокардит, цереброваскулярное нарушение, нарушение периферических (например, скелетно-мышечных) сосудов, реноваскулярное нарушение, мезентеральное/энтеральное сосудистое нарушение, васкулит, нефрит при пурпуре Геноха-Шенлейна, ассоциированный с системной красной волчанкой васкулит, ассоциированный с ревматоидным артритом васкулит, васкулит иммунных комплексов, болезнь Такаясу, дилатационную кардиомиопатию, диабетическую ангиопатию, болезнь (артериит) Kawasaki, венозную газовую эмболию (VGE) и рестеноз после стентирования, ротационную атерэктомия и чрескожную транслюминальную коронарную ангиопластику (PTCA) (см., например, Holers (2008) *Immunological Reviews* 223:300-316; Holers and Thurman (2004) *Molecular Immunology* 41:147-152; Публикация патента США No. 20070172483).

В одном варианте осуществления, ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии, поликистоза почек, мембранозной нефропатии, связанной с возрастом дегенерации желтого пятна, атипичного гемолитико-уремического синдрома, тромботической микроангиопатии, миастении гравис, ишемического и реперфузионного повреждения, пароксизмальной ночной гемоглобинурии и ревматоидного артрита

В другом варианте осуществления, ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии и поликистоза почек.

В одном варианте осуществления, приведение клетки в контакт со средством на основе дцРНК ингибирует экспрессию CFB на по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

В одном варианте осуществления, ингибирование экспрессии CFB уменьшает уровень белка CFB в сыворотке субъекта на по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

В одном аспекте, настоящее изобретение относится к способу лечения субъекта, имеющего нарушение, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии фактора комплемента В (CFB). Способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества любой из дцРНК по настоящему изобретению или любой из фармацевтических композиций по настоящему изобретению, таким образом, лечение субъекта, имеющего нарушение, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии CFB.

В другом аспекте, настоящее изобретение относится к способу предотвращения развития нарушения, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии фактора комплемента В (CFB), у субъекта, имеющего по меньшей мере один признак или симптом нарушения, который еще не соответствует диагностическим критериям для этого нарушения. Способ включает введение субъекту профилактически

эффективного количества любой из дцРНК по настоящему изобретению или любой из фармацевтических композиций по настоящему изобретению, таким образом, предотвращение у субъекта прогрессирования до соответствия диагностическим критериям нарушения, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии CFB.

В одном варианте осуществления, нарушение представляет собой ассоциированное с фактором комплемента В (CFB) нарушение.

В одном варианте осуществления, субъект представляет собой человека.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК вводят субъекту в дозе от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 50 мг/кг.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНК вводят субъекту подкожно.

В одном варианте осуществления, уровень CFB в образце(ах) от субъекта представляет собой уровень белка CFB в образце(ах) крови или сыворотки.

В одном варианте осуществления, введение средства субъекту вызывает уменьшение гемолиза или уменьшение накопления белка CFB.

В конкретных вариантах осуществления, способы по настоящему изобретению дополнительно включают введение субъекту дополнительного терапевтического средства.

В некоторых аспектах, дополнительное терапевтическое средство представляет собой средство на основе иРНК, нацеливающее на ген C5, такое как описанные в Патенте США No.: 9249415, полное содержание которого, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

В других аспектах, дополнительное терапевтическое средство представляет собой средство на основе иРНК, нацеливающее на ген фактора комплемента В (CFB), такое как описанные в Патенте США No.: 10465194, полное содержание которого, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

В других аспектах, дополнительное терапевтическое средство представляет собой ингибитор C5, такой как антитело против компонента комплемента C5 или его антигенсвязывающий фрагмент (например, экулизумаб, равулизумаб-cwvz или позелимаб (REGN3918)), или пептидный ингибитор C5 (например, зилукоплан). Экулизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG2/4, с легкой цепью каппа, которое специфически связывает компонент комплемента C5 с высокой аффинностью и ингибирует расщепление C5 до C5a и C5b, таким образом, ингибируя образование терминального комплекса комплемента C5b-9. Экулизумаб описан в Патенте США No. 6355245, полное содержание которого приведено в настоящем описании путем ссылки. Равулизумаб-cwvz представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG2/4, которое специфически связывает компонент комплемента C5 с высокой аффинностью и ингибирует расщепление C5 до C5a и C5b, таким образом, ингибируя образование терминального комплекса комплемента C5b-9. Равулизумаб-cwvz описан в WO2015134894, полное содержание которого приведено в настоящем описании путем ссылки. Позелимаб (также известный как H4H12166P, описанный в US20170355757, полное

содержание которого приведено в настоящем описании путем ссылки) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело IgG4, разработанное для блокирования фактора комплемента C5. Зилукоплан представляет собой синтетический, макроциклический пептид, который связывает компонент комплемента 5 (C5) с субнаномолярной аффинностью и аллостерически ингибирует его расщепление на C5a и C5b при активации классического, альтернативного или лектинового путей (см., например, WO2017105939, полное содержание которого приведено в настоящем описании путем ссылки).

В других аспектах, дополнительное терапевтическое средство представляет собой пептидный ингибитор C3 или его аналог. В одном варианте осуществления, пептидный ингибитор C3 представляет собой компстатин. Компстатин представляет собой циклический тридекапептид с сильной и избирательной активностью ингибирования C3. Компстатин и его аналоги описаны в Патентах США No. 7888323, 7989589 и 8442776, в Публикациях патентов США No. 2012/0178694 и 2013/0053302, и в Публикациях PCT No. WO 2012/174055, WO 2012/2178083, WO 2013/036778, полное содержание каждого из которых приведено в настоящем описании путем ссылки.

В конкретных вариантах осуществления, виды лечения, известные в данной области для различных ассоциированных с СФВ заболеваний, используют в комбинации с средствами для РНКи по настоящему изобретению.

Настоящее изобретение также относится к наборам, содержащим любую из дцРНК по настоящему изобретению или любую из фармацевтических композиций по настоящему изобретению, и необязательно, инструкции для применения.

Кроме того, настоящее изобретение относится к индуцированному РНК комплексу сайленсинга (RISC), содержащему антисмысловую цепь из любого из средств на основе дцРНК по настоящему изобретению.

В другом варианте осуществления, средство для РНКи представляет собой его фармацевтически приемлемую соль. «Фармацевтически приемлемые соли» каждого из средств для РНКи в настоящем описании включают, но без ограничения, натриевую соль, кальциевую соль, литиевую соль, калиевую соль, соль аммония, магниевую соль, их смеси. Специалисту в данной области понятно, что средство для РНКи, при предоставлении в форме поликатионной соли, имеет один катион на группу свободной кислоты, необязательно, модифицированного фосфодиэфирного остова и/или любых других кислотных модификаций (например, 5'-концевых фосфонатных групп). Например, олигонуклеотид длиной «n» нуклеотидов содержит n-1, необязательно, модифицированных фосфодиэфиров, так что олигонуклеотид длиной 21 н. может быть представлен в форме соли, имеющей вплоть до 20 катионов (например, 20 катионов натрия). Подобным образом, средства для РНКи, имеющие смысловую цепь длиной 21 н. и антисмысловую цепь длиной 23 н., могут быть представлены в форме соли, имеющей вплоть до 42 катионов (например, 42 катионов натрия). В предшествующем примере, когда средство для РНКи также включает 5'-концевой фосфат или 5'-концевую винилфосфонатную группу, средство для

РНКи может быть представлено в форме соли, имеющей вплоть до 44 катионов (например, 44 катионов натрия).

Настоящее изобретение далее проиллюстрировано посредством следующего подробного описания и чертежей.

Краткое описание чертежей

На **фигуре 1** изображены три пути комплемента: альтернативный, классический и лектиновый.

Фигура 2 представляет собой график, изображающий уровень человеческого белка СФВ у мышей (n=3 на группу), которым подкожно вводили однократную дозу 1 мг/кг указанных дуплексов дцРНК на сутки 7. Уровни человеческого белка СФВ показаны, относительно контрольных уровней, определенных с использованием обработки PBS.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к композициям иРНК, которые осуществляют опосредованное индуцированным РНК комплексом сайленсинга (RISC) расщепление транскриптов РНК гена фактора комплемента В (СФВ). Ген может находиться внутри клетки, например, клетки внутри организма субъекта, такого как человек. Использование этих иРНК позволяет нацеленную деградацию мРНК соответствующего гена (гена фактора комплемента В) у млекопитающих.

иРНК по настоящему изобретению были сконструированы для нацеливания на ген фактора комплемента В человека, включая части гена, которые являются консервативными в ортологах фактора комплемента В из других видов млекопитающих. Без намерения установления связи с теорией, считают, что комбинация или подкомбинация вышеуказанных свойств и специфических участков-мишеней или специфических модификаций в этих иРНК придает иРНК по настоящему изобретению улучшенную эффективность, стабильность, активность, долговечность и безопасность.

Соответственно, настоящее изобретение относится к способам лечения и предотвращения ассоциированного с фактором комплемента В нарушения, заболевания или состояния, например, нарушения, заболевания или состояния с воспалением или активацией иммунной системы, например, опосредованными мембраноатакующим комплексом лизисом, анафилаксией или гемолизом, например, С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии и поликистоза почек, с использованием композиций иРНК, осуществляющих опосредованное индуцированным РНК комплексом сайленсинга (RISC) расщепление транскриптов РНК гена фактора комплемента В.

иРНК по настоящему изобретению включают цепь РНК (антисмысловую цепь), имеющую область, имеющую длину вплоть до приблизительно 30 нуклеотидов или менее, например, длину 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотидов, где эта область является в основном комплементарной по меньшей мере части транскрипта мРНК гена фактора комплемента В.

В конкретных вариантах осуществления, средства для РНКи по настоящему изобретению включают цепь РНК (антисмысловую цепь), имеющую область, имеющую длину приблизительно 21-23 нуклеотида, где эта область является в основном комплементарной по меньшей мере части транскрипта мРНК гена фактора комплемента В.

В конкретных вариантах осуществления, одна или обе из цепей двухцепочечных средств для РНКи по настоящему изобретению имеет длину вплоть до 66 нуклеотидов, например, длину 36-66, 26-36, 25-36, 31-60, 22-43, 27-53 нуклеотидов, с областью из по меньшей мере 19 непрерывных нуклеотидов, которая является в основном комплементарной по меньшей мере части транскрипта мРНК гена фактора комплемента В. В некоторых вариантах осуществления, такие средства на основе иРНК, имеющие антисмысловые цепи большей длины, могут включать вторую цепь РНК (смысловую цепь) длиной 20-60 нуклеотидов, где смысловая и антисмысловая цепи формируют дуплекс из 18-30 непрерывных нуклеотидов.

Использование иРНК по настоящему изобретению позволяет нацеленную деградацию мРНК соответствующего гена (гена фактора комплемента В) у млекопитающих. С использованием анализов *in vitro* и *in vivo*, авторы настоящего изобретения продемонстрировали, что иРНК, нацеливающие на ген фактора комплемента В, могут активно опосредовать РНКи, приводящую к значительному ингибированию экспрессии гена фактора комплемента В. Таким образом, способы и композиции, включающие эти иРНК, можно использовать для лечения субъекта, имеющего ассоциированное с фактором комплемента В нарушение, например, С3-гломерулопатию, системную красную волчанку (SLE), например, волчаночный нефрит, IgA-нефропатию, диабетическую нефропатию и поликистоз почек.

Соответственно, настоящее изобретение относится к способам и видам комбинированной терапии для лечения субъекта, имеющего нарушение, при котором можно получать преимущество от ингибирования или уменьшения экспрессии гена фактора комплемента В, например, ассоциированное с фактором комплемента В заболевание, такое как С3-гломерулопатия, системная красная волчанка (SLE), например, волчаночный нефрит, IgA-нефропатия, диабетическая нефропатия и поликистоз почек, с использованием композиций иРНК, осуществляющих опосредованное индуцированным РНК комплексом сайленсинга (RISC) расщепление транскриптов РНК гена CFB.

Настоящее изобретение также относится к способам предотвращения по меньшей мере одного симптома у субъекта, имеющего нарушение, при котором можно получать преимущество от ингибирования или уменьшения экспрессии гена фактора комплемента В, например, С3-гломерулопатию, системную красную волчанку (SLE), например, волчаночный нефрит, IgA-нефропатию, диабетическую нефропатию и поликистоз почек.

В конкретных вариантах осуществления, введение дцРНК субъекту вызывает уменьшение уровня мРНК CFB, уровня белка CFB, CH_{50} активности (показателя общей гемолитической активности комплемента), AH_{50} (показателя гемолитической активности альтернативного пути комплемента), уровней лактатдегидрогеназы (LDH) (показателя

внутрисосудистого гемолиза), гемоглобина; уровня любых одного или нескольких из C3, C9, C5, C5a, C5b и растворимого комплекса C5b-9.

В следующем подробном описании раскрыто, каким образом осуществлять и использовать композиции иРНК для ингибирования экспрессии гена фактора комплемента В, так же как композиции, применения, и способы для лечения субъектов, которые могут получать преимущество от ингибирования или уменьшения экспрессии гена фактора комплемента В, например, субъектов, которые являются чувствительными к ассоциированному с фактором комплемента В нарушению, или у которых диагностировано ассоциированное с фактором комплемента В нарушение.

I. Определения

Для лучшего понимания настоящего изобретения, сначала определены конкретные термины. Кроме того, следует отметить, что во всех случаях, когда перечислены значение или диапазон значений параметра, подразумевают, что значения и диапазоны, промежуточные по отношению к перечисленным значениям, также составляют часть настоящего изобретения.

Неконкретизированные формы единственного числа использованы в настоящем описании для обозначения одного или более одного (т.е., по меньшей мере одного) из грамматических объектов раздела. В качестве примера, «элемент» означает один элемент или более одного элемента, например, множество элементов.

Термин «включающий» использован в настоящем описании для обозначения фразы «включая, но без ограничения», и использован взаимозаменяемо с ней.

Термин «или» использован в настоящем описании для обозначения термина «и/или», и использован взаимозаменяемо с ним, если контекст явно не требует иного. Например, «смысловая цепь или антисмысловая цепь» понимают как «смысловая цепь или антисмысловая цепь, или смысловая цепь и антисмысловая цепь».

Термин «приблизительно» использован в настоящем описании для обозначения в рамках типичных пределов допусков в данной области. Например, «приблизительно» можно понимать как приблизительно 2 стандартных отклонения от среднего. В конкретных вариантах осуществления, приблизительно означает $\pm 10\%$. В конкретных вариантах осуществления, приблизительно означает $\pm 5\%$. Когда приблизительно присутствует перед сериями чисел или диапазоном, понятно, что «приблизительно» может модифицировать каждое из чисел в сериях или диапазоне.

Термин «по меньшей мере», «не менее чем» или «или более» перед числом или сериями чисел понимают как включающий число, соседнее с термином «по меньшей мере», и все последующие числа или целые числа, которые могут быть включены логически, как ясно из контекста. Например, количество нуклеотидов в молекуле нуклеиновой кислоты должно представлять собой целое число. Например, «по меньшей мере 19 нуклеотидов из 21-нуклеотидной молекулы нуклеиновой кислоты» означает, что 19, 20 или 21 нуклеотидов имеют указанное свойство. Когда по меньшей мере присутствует перед сериями чисел или

диапазоном, понятно, что «по меньшей мере» может модифицировать каждое из чисел в сериях или диапазоне.

В рамках изобретения, «не более чем» или «или менее» понимают как значение, соседнее с фразой, и логические более низкие значения или целые числа, как логично по контексту, до нуля. Например, дуплекс с выступающим концом «не более чем 2 нуклеотида» имеет выступающий конец 2, 1 или 0 нуклеотидов. Когда «не более чем» присутствует перед сериями чисел или диапазоном, понятно, что «не более чем» может модифицировать каждое из чисел в сериях или диапазоне. В рамках изобретения, диапазоны включают как верхний, так и нижний предел.

В рамках изобретения, способы детекции могут включать определение того, что присутствующее количество аналита находится ниже уровня детекции способа.

В случае несоответствия между указанным участком-мишенью и нуклеотидной последовательностью для смысловой или антисмысловой цепи, указанная последовательность имеет преимущество.

В случае несоответствия между последовательностью и указанным для нее участком на транскрипте или другой последовательности, нуклеотидная последовательность, процитированная в описании, имеет преимущество.

В рамках изобретения, термин «фактор комплемента В», использованный взаимозаменяемо с термином «CFB», относится к хорошо известному гену и полипептиду, также известным в данной области как ANUS, BF, CFAB, BFD, FB, GBG, FBI12, В-Фактор, пропердин, H2-Bf, богатый глицином гликопротеин бета, проакселератор С3, пропердин-фактор 2В, проактиватор С3, PBF2, богатый глицином бета-гликопротеин, С3/С5-конвертаза, ЕС 3.4.21 и 3.4.21.473.

Термин «CFB» включает CFB человека, аминокислотную и нуклеотидную последовательность которого можно обнаружить, например, в No. доступа в GenBank GI:1732746151; CFB мыши, аминокислотную и нуклеотидную последовательность которого можно обнаружить, например, в No. доступа в GenBank GI:218156288 и GI:218156290; CFB крысы, аминокислотную и нуклеотидную последовательность которого можно обнаружить, например, в No. доступа в GenBank GI:218156284; и CFB шимпанзе, аминокислотную и нуклеотидную последовательность которого можно обнаружить, например, в No. доступа в GenBank GI:57114201. Термин «CFB» также включает CFB *Macaca fascicularis*, аминокислотную и нуклеотидную последовательность которого можно обнаружить, например, в No. доступа в GenBank GI:544428919 и в записи для гена, ENSMMUP00000000985 (локус=scaffold3881:47830:53620), на веб-сайте Геномного проекта *Macaca* (*Macaca* genome project) (macaque.genomics.org.cn/page/species/index.jsp). Дополнительные примеры последовательностей мРНК CFB являются легко доступными с использованием, например, GenBank, UniProt, OMIM и веб-сайта *Macaca* genome project. Иллюстративные нуклеотидные последовательности CFB можно также обнаружить в SEQ ID NO:1-7. SEQ ID NO:8-14 представляют собой антисмысловые последовательности для SEQ ID NO: 1-7, соответственно.

Термин «CFB», в рамках изобретения, также относится к встречающимся в природе вариантам последовательности ДНК гена CFB. Неограничивающие примеры вариантов последовательности в гене CFB включают 1598A>G в экзоне 12, приводящий к замене лизина на аргинин в аминокислотном остатке 533; 858C>G в экзоне 6, приводящий к замене фенилаланина на лейцин в аминокислотном остатке 286; и 967A>G в экзоне 7, приводящий к замене лизина на аланин в аминокислотном остатке 323 (Tawadrous H. *et al.* (2010) *Pediatr Nephrol.* 25:947; Goicoechea de Jorge E *et al.* (2007) *Proc Natl Acad Sci. USA* 104:240). Термин «CFB», в рамках изобретения, также относится к однонуклеотидным полиморфизмам в гене CFB. Многочисленные варианты последовательности в гене CFB были идентифицированы и могут быть обнаружены, например, в NCBI dbSNP и UniProt (см., например, ncbi.nlm.nih.gov/snp).

Дополнительную информацию о CFB можно обнаружить, например, в www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/629.

Дополнительные примеры последовательностей мРНК CFB являются легко доступными из публично доступных баз данных, например, GenBank, UniProt, OMIM, и веб-сайта *Mascaca genome project*.

Полное содержание каждого из вышеуказанных номеров доступа в GenBank и номеров в базах данных генов приведено в настоящем описании путем ссылки на дату подачи настоящей заявки.

В рамках изобретения, «последовательность-мишень» относится к непрерывной части нуклеотидной последовательности молекулы мРНК, образованной в ходе транскрипции гена фактора комплемента В, включая мРНК, которая является продуктом процессинга РНК из первичного продукта транскрипции. Являющаяся мишенью часть последовательности может являться по меньшей мере настолько длинной, чтобы служить в качестве субстрата для направляемого иРНК расщепления в или около этой части нуклеотидной последовательности молекулы мРНК, образованной в ходе транскрипции гена CFB. В одном варианте осуществления, последовательность-мишень находится в кодирующей белок области CFB.

Последовательность-мишень может иметь длину приблизительно от 19 до 36 нуклеотидов, например, длину приблизительно 19-30 нуклеотидов. Например, последовательность-мишень может иметь длину приблизительно 19-30 нуклеотидов, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, последовательность-мишень имеет длину от приблизительно 19 до приблизительно 30 нуклеотидов. В других вариантах осуществления, последовательность-мишень имеет длину от приблизительно 19 до приблизительно 25 нуклеотидов. В других вариантах осуществления, последовательность-мишень имеет длину от приблизительно 19 до приблизительно 23 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, последовательность-мишень имеет длину от приблизительно 21 до приблизительно 23 нуклеотидов. Диапазоны и длины,

промежуточные по отношению к перечисленным выше диапазонам и длинам, также предусматривают в качестве части настоящего изобретения.

В рамках изобретения, термин «цепь, содержащая последовательность», относится к олигонуклеотиду, содержащему цепь из нуклеотидов, которая описана посредством последовательности, обозначенной с использованием стандартной номенклатуры нуклеотидов.

Каждый из «G», «C», «A», «T» и «U», в общем, обозначает нуклеотид, содержащий гуанин, цитозин, аденин, тимидин и урацил в качестве основания, соответственно. Однако, понятно, что термин «рибонуклеотид» или «нуклеотид» может также относиться к модифицированному нуклеотиду, как дополнительно подробно описано ниже, или суррогатной замещающей группе (см., например, таблицу 1). Специалисту в данной области хорошо известно, что гуанин, цитозин, аденин и урацил можно заменять на другие группы без существенного изменения свойств спаривания оснований олигонуклеотида, содержащего нуклеотид, несущий такую замещающую группу. Например, без ограничения, нуклеотид, содержащий инозин в качестве своего основания, может спариваться с основаниями с нуклеотидами, содержащими аденин, цитозин или урацил. Таким образом, нуклеотиды, содержащие урацил, гуанин или аденин, могут быть заменены в нуклеотидных последовательностях дцРНК, признаки которой раскрыты по настоящему изобретению, на нуклеотид, содержащий, например, инозин. В другом примере, аденин и цитозин в любом месте в олигонуклеотиде могут быть заменены на гуанин и урацил, соответственно, для образования спаривания оснований G-U с качанием с мРНК-мишенью. Последовательности, содержащие такие замещающие группы, являются пригодными для композиций и способов, признаки которых раскрыты по настоящему изобретению.

Термины «иРНК», «средство для РНКи», «средство на основе иРНК», «средство для РНК-интерференции», как использовано взаимозаменяемо в настоящем описании, относятся к средству, которое содержит РНК, как этот термин определен в настоящем описании, и которое опосредует нацеленное расщепление транскрипта РНК, посредством пути индуцированного РНК комплекса сайленсинга (RISC). иРНК направляет специфическую для последовательности деградацию мРНК, посредством процесса, известного как РНК-интерференция (РНКи). иРНК модулирует, например, ингибирует, экспрессию гена фактора комплемента В в клетке, например, клетке внутри организма субъекта, такого как субъект-млекопитающее.

В одном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению включает одноцепочечную РНК, которая взаимодействует с последовательностью РНК-мишени, например, последовательностью мРНК-мишени фактора комплемента В, для направления расщепления РНК-мишени. Без намерения быть связанными теорией, считают, что длинная двухцепочечная РНК, введенная в клетки, разделяется на миРНК посредством эндонуклеазы типа III, известной как Dicer (Sharp *et al.*, *Genes Dev.* 2001, 15:485). Dicer, подобный рибонуклеазе-III фермент, процессирует дцРНК до малых интерферирующих РНК по 19-23 пар оснований с характерными выступающими 3'-

концами из двух оснований (Bernstein, *et al.*, (2001) *Nature* 409:363). Затем миРНК включаются в индуцированный РНК комплекс сайленсинга (RISC), где одна или несколько хеликаз расплетают дуплекс миРНК, позволяя комплементарной антисмысловой цепи направлять узнавание мишени (Nykanen, *et al.*, (2001) *Cell* 107:309). При связывании с соответствующей мРНК-мишенью, одна или несколько эндонуклеаз внутри RISC расщепляет мишень для индукции сайленсинга (Elbashir, *et al.*, (2001) *Genes Dev.* 15:188). Таким образом, в одном аспекте, настоящее изобретение относится к одноцепочечной РНК (миРНК), которая образована в клетке и которая стимулирует формирование комплекса RISC для осуществления сайленсинга гена-мишени, т.е., гена фактора комплемента В (CFB). Соответственно, термин «миРНК» также использован в настоящем описании для обозначения иРНК, как описано выше.

В конкретных вариантах осуществления, средство для РНКи может представлять собой одноцепочечную миРНК (оцРНКи), которую вводят в клетку или организм для ингибирования мРНК-мишени. Одноцепочечные средства для РНКи связываются с эндонуклеазой RISC, Argonaute 2, которая затем расщепляет мРНК-мишень. Одноцепочечные миРНК, как правило, содержат 15-30 нуклеотидов и являются химически модифицированными. Дизайн и тестирование одноцепочечных миРНК описаны в Патенте США No. 8101348 и в Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150:883-894, полное содержание каждого из которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки. Любую из антисмысловых нуклеотидных последовательностей, описанных в настоящем описании, можно использовать в качестве одноцепочечной миРНК, как описано в настоящем описании, или как химически модифицировано посредством способов, описанных в Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150:883-894.

В конкретных вариантах осуществления, «иРНК» для использования в композициях, применениях и способах по настоящему изобретению, представляет собой двухцепочечную РНК и обозначена в настоящем описании как «средство на основе двухцепочечной РНК», «молекула двухцепочечной РНК (дцРНК)», «средство на основе дцРНК» или «дцРНК». Термин «дцРНК», относится к комплексу молекул рибонуклеиновых кислот, имеющих структуру дуплекса, содержащего две антипараллельные и в основном комплементарные цепи нуклеиновой кислоты, обозначенные как имеющие «смысловую» и «антисмысловую» ориентации по отношению к РНК-мишени, т.е., гена фактора комплемента В (CFB). В некоторых вариантах осуществления изобретения, двухцепочечная РНК (дцРНК) запускает деградацию РНК-мишени, например, мРНК, посредством механизма посттранскрипционного сайленсинга гена, обозначенного в настоящем описании как РНК-интерференция или РНКи.

В рамках изобретения, термин «модифицированный нуклеотид» относится к нуклеотиду, имеющему, независимо, модифицированную группу сахара, модифицированную межнуклеотидную связь или модифицированное нуклеиновое основание, или любую их комбинацию. Таким образом, термин модифицированный нуклеотид охватывает замены, добавления или удаление, например, функциональной

группы или атома, в межнуклеозидных связях, группах сахаров или нуклеиновых основаниях. Модификации, подходящие для использования в средствах по настоящему изобретению, включают все типы модификаций, описанные в настоящем описании или известные в данной области. Любые такие модификации, как используют в молекуле типа миРНК, охвачены посредством «иРНК» или «средство для РНКи» для целей в настоящем описании и формуле изобретения.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения, включение дезокси-нуклеотида - который является общепризнанной встречающейся в природе формой нуклеотида - если он присутствует в средстве для РНКи, можно рассматривать как составляющее модифицированный нуклеотид.

Область дуплекса может иметь любую длину, позволяющую специфическую деградацию желательной РНК-мишени посредством пути RISC, и может иметь длину в диапазоне приблизительно от 19 до 36 пар оснований, например, длину приблизительно 19-30 пар оснований, например, длину приблизительно 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 или 36 пар оснований, например, длину приблизительно 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пар оснований. В конкретных вариантах осуществления, область дуплекса имеет длину 19-21 пар оснований, например, длину 21 пара оснований. Подразумевают, что значения и диапазоны, промежуточные по отношению к перечисленным выше диапазонам и длинам, также составляют часть настоящего изобретения.

Две цепи, формирующие структуру дуплекса, могут представлять собой различные части одной большей молекулы РНК, или они могут представлять собой отдельные молекулы РНК. Когда две цепи являются частью одной большей молекулы, и таким образом, соединены посредством непрерывной цепи нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, формирующих структуру дуплекса, соединяющая цепь РНК обозначена как «петля шпильки». Петля шпильки может содержать по меньшей мере один неспаренный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, петля шпильки может содержать по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 23 или более неспаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, петля шпильки может составлять 10 или менее нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, петля шпильки может составлять 8 или менее неспаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, петля шпильки может составлять 4-10 неспаренных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, петля шпильки может составлять 4-8 нуклеотидов.

В конкретном варианте осуществления, две цепи двухцепочечного олигомерного соединения могут быть связаны вместе. Две цепи могут быть связаны друг с другом на обоих концах, или только на одном конце. Под связыванием на одном конце понимают, что 5'-конец первой цепи связан с 3'-концом второй цепи, или 3'-конец первой цепи связан с 5'-концом второй цепи. Когда две цепи связаны друг с другом на обоих концах, 5'-конец

первой цепи связан с 3'-концом второй цепи, и 3'-конец первой цепи связан с 5'-концом второй цепи. Две цепи могут быть связаны вместе посредством олигонуклеотидного линкера, включая, но без ограничения, (N)_n; где N независимо представляет собой модифицированный или немодифицированный нуклеотид, и n представляет собой 3-23. В некоторых вариантах осуществления, n представляет собой 3-10, например, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления, олигонуклеотидный линкер выбран из группы, состоящей из GNRA, (G)₄, (U)₄ и (dT)₄, где N представляет собой модифицированный или немодифицированный нуклеотид, и R представляет собой модифицированный или немодифицированный пуриновый нуклеотид. Некоторые из нуклеотидов в линкере могут быть вовлечены во взаимодействия пар оснований с другими нуклеотидами в линкере. Две цепи могут также быть связаны вместе посредством ненуклеозидного линкера, например, линкера, описанного в настоящем описании. Специалисту в данной области понятно, что любые химические модификации или варианты олигонуклеотидов, описанные в настоящем описании, можно использовать в олигонуклеотидном линкере.

Олигомерные соединения типа шпильки и гантели могут иметь область дуплекса, равную или по меньшей мере 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 пар нуклеотидов. Область дуплекса может иметь длину, равную или менее чем 200, 100 или 50. В некоторых вариантах осуществления, диапазоны для области дуплекса имеют длину 15-30, 17-23, 19-23 и 19-21 пар нуклеотидов.

Шпильчатые олигомерные соединения могут иметь одноцепочечный выступающий конец или концевую неспаренную область, в некоторых вариантах осуществления, на 3', и в некоторых вариантах осуществления, на антисмысловой стороне шпильки. В некоторых вариантах осуществления, выступающие концы имеют длину 1-4, более обычно, 2-3 нуклеотида. Шпильчатые олигомерные соединения, которые могут индуцировать РНК-интерференцию, могут быть также обозначены как «кшРНК» в настоящем описании.

Когда две в основном комплементарные цепи дцРНК содержатся в отдельных молекулах РНК, эти молекулы не должны являться, но могут являться ковалентно соединенными. Когда две цепи соединены ковалентно путем средств, отличных от непрерывной цепи нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, формирующих структуру дуплекса, соединяющая структура обозначена как «линкер». Цепи РНК могут иметь одинаковое или различное количество нуклеотидов. Максимальное количество пар оснований составляет количество нуклеотидов в более короткой цепи дцРНК минус любые выступающие концы, которые присутствуют в дуплексе. В дополнение к структуре дуплекса, РНКи может содержать один или несколько нуклеотидных выступающих концов. В одном варианте осуществления средства для РНКи, по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 3'-конец из по меньшей мере 1 нуклеотида. В другом варианте осуществления, по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 3'-конец из по меньшей мере 2 нуклеотидов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов. В других вариантах осуществления, по

меньшей мере одна цепь средства для РНКи содержит выступающий 5'-конец из по меньшей мере 1 нуклеотида. В конкретных вариантах осуществления, по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 5'-конец из по меньшей мере 2 нуклеотидов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов. В других вариантах осуществления, как 3', так и 5'-конец одной цепи средства для РНКи содержит выступающий конец из по меньшей мере 1 нуклеотида.

В конкретных вариантах осуществления, средство на основе иРНК по настоящему изобретению представляет собой дцРНК, каждая цепь которой содержит 19-23 нуклеотида, которая взаимодействует с последовательностью РНК-мишени, например, гена фактора комплемента В (CFB), для направления расщепления РНК-мишени.

В некоторых вариантах осуществления, иРНК по настоящему изобретению представляет собой дцРНК из 24-30 нуклеотидов, которая взаимодействует с последовательностью РНК-мишени, например, последовательностью мРНК-мишени CFB, для направления расщепления РНК-мишени.

В рамках изобретения, термин «нуклеотидный выступающий конец» относится к по меньшей мере одному неспаренному нуклеотиду, который выступает из структуры дуплекса двухцепочечной иРНК. Например, когда 3'-конец одной цепи дцРНК продолжается за 5'-концом другой цепи, или наоборот, присутствует нуклеотидный выступающий конец. дцРНК может содержать выступающий конец из по меньшей мере одного нуклеотида; альтернативно, выступающий конец может содержать по меньшей мере два нуклеотида, по меньшей мере три нуклеотида, по меньшей мере четыре нуклеотида, по меньшей мере пять нуклеотидов или более. Нуклеотидный выступающий конец может содержать или состоять из аналога нуклеотида/нуклеозида, включая дезоксинуклеотид/нуклеозид. Выступающий конец(ы) могут присутствовать в смысловой цепи, антисмысловой цепи или любой их комбинации. Кроме того, нуклеотид(ы) выступающего конца могут присутствовать на 5'-конце, 3'-конце или обоих концах либо антисмысловой, либо смысловой цепи дцРНК.

В одном варианте осуществления дцРНК, по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 3'-конец из по меньшей мере 1 нуклеотида. В другом варианте осуществления, по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 3'-конец из по меньшей мере 2 нуклеотидов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов. В других вариантах осуществления, по меньшей мере одна цепь средства для РНКи содержит выступающий 5'-конец из по меньшей мере 1 нуклеотида. В конкретных вариантах осуществления, по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 5'-конец из по меньшей мере 2 нуклеотидов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов. В других вариантах осуществления, как 3', так и 5'-конец одной цепи средства для РНКи содержит выступающий конец из по меньшей мере 1 нуклеотида.

В одном варианте осуществления, антисмысловая цепь дцРНК имеет выступающий конец из 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, на 3'-конце и/или 5'-конце. В одном варианте осуществления, смысловая цепь дцРНК имеет

выступающий конец из 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, на 3'-конце и/или 5'-конце. В другом варианте осуществления, один или несколько из нуклеотидов в выступающем конце заменены на нуклеозидтиофосфат.

В конкретных вариантах осуществления, антисмысловая цепь дцРНК имеет выступающий конец из 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, на 3'-конце и/или 5'-конце. В конкретных вариантах осуществления, выступающий конец в смысловой цепи или антисмысловой цепи, или обеих, может включать увеличенную длину, длиннее чем длина 10 нуклеотидов, например, 1-30 нуклеотидов, 2-30 нуклеотидов, 10-30 нуклеотидов, 10-25 нуклеотидов, 10-20 нуклеотидов или 10-15 нуклеотидов. В конкретных вариантах осуществления, удлиненный выступающий конец присутствует в смысловой цепи дуплекса. В конкретных вариантах осуществления, удлиненный выступающий конец присутствует на 3'-конце смысловой цепи дуплекса. В конкретных вариантах осуществления, удлиненный выступающий конец присутствует на 5'-конце смысловой цепи дуплекса. В конкретных вариантах осуществления, удлиненный выступающий конец присутствует в антисмысловой цепи дуплекса. В конкретных вариантах осуществления, удлиненный выступающий конец присутствует на 3'-конце антисмысловой цепи дуплекса. В конкретных вариантах осуществления, удлиненный выступающий конец присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи дуплекса. В конкретных вариантах осуществления, один или несколько из нуклеотидов в удлиненном выступающем конце заменены на нуклеозидтиофосфат. В конкретных вариантах осуществления, выступающий конец включает самокомплементарную часть, так что выступающий конец является способным формировать шпильчатую структуру, которая является стабильной в физиологических условиях.

«Тупой» или «тупой конец» означает, что не присутствуют неспаренные нуклеотиды на этом конце средства на основе двухцепочечной РНК, т.е., отсутствует нуклеотидный выступающий конец. «Имеющее тупые концы» средство на основе двухцепочечной РНК является двухцепочечным на протяжении полной длины, т.е., отсутствует нуклеотидный выступающий конец на каждом конце молекулы. Средства для РНКи по настоящему изобретению включают средства для РНКи без нуклеотидного выступающего конца на одном конце (т.е., средства с одним выступающим концом и одним тупым концом) или без нуклеотидных выступающих концов на каждом конце. Наиболее часто, такая молекула является двухцепочечной на протяжении полной длины.

Термин «антисмысловая цепь» или «направляющая цепь» относится к цепи иРНК, например, дцРНК, включающей область, которая является в основном комплементарной последовательности-мишени, например, мРНК СФВ.

В рамках изобретения, термин «область комплементарности» относится к области в антисмысловой цепи, которая является в основном комплементарной последовательности, например, последовательности-мишени, например, нуклеотидной последовательности фактора комплемента В, как определено в настоящем описании. Когда область

комплементарности является не полностью комплементарной последовательности-мишени, несоответствия могут присутствовать во внутренних или концевых областях молекулы. Как правило, наиболее допустимые несоответствия присутствуют в концевых областях, например, в пределах 5, 4 или 3 нуклеотидов от 5'- или 3'-конца иРНК. В некоторых вариантах осуществления, средство на основе двухцепочечной РНК по настоящему изобретению включает несоответствие нуклеотида в антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства на основе двухцепочечной РНК по настоящему изобретению включает не более, чем 4 несоответствия мРНК-мишени, например, антисмысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 несоответствий мРНК-мишени. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства на основе двухцепочечной РНК по настоящему изобретению включает не более, чем 4 несоответствия смысловой цепи, например, антисмысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 несоответствия смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, средство на основе двухцепочечной РНК по настоящему изобретению включает несоответствие нуклеотида в смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства на основе двухцепочечной РНК по настоящему изобретению включает не более, чем 4 несоответствия антисмысловой цепи, например, смысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 несоответствий антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, несоответствие нуклеотида присутствует, например, в пределах 5, 4, 3 нуклеотидов от 3'-конца иРНК. В другом варианте осуществления, несоответствие нуклеотида присутствует, например, в 3'-концевом нуклеотиде средства на основе иРНК. В некоторых вариантах осуществления, несоответствие(я) присутствует не в области затравки.

Таким образом, средство для РНКи, как описано в настоящем описании, может содержать одно или несколько несоответствий последовательности-мишени. В одном варианте осуществления, средство для РНКи, как описано в настоящем описании, содержит не более, чем 3 несоответствия (т.е., 3, 2, 1 или 0 несоответствий). В одном варианте осуществления, средство для РНКи, как описано в настоящем описании, содержит не более, чем 2 несоответствия. В одном варианте осуществления, средство для РНКи, как описано в настоящем описании, содержит не более, чем 1 несоответствие. В одном варианте осуществления, средство для РНКи, как описано в настоящем описании, содержит 0 несоответствий. В конкретных вариантах осуществления, если антисмысловая цепь средства для РНКи содержит несоответствия последовательности-мишени, несоответствие, может, необязательно, быть ограничено присутствием в пределах последних 5 нуклеотидов либо с 5'-, либо с 3'-конца области комплементарности. Например, в таких вариантах осуществления, для 23-нуклеотидного средства для РНКи, цепь, которая является комплементарной области гена СФВ, как правило, не содержит никакого несоответствия в пределах центральных 13 нуклеотидов. Способы, описанные в настоящем описании, или способы, известные в данной области, можно использовать для определения того, является ли средство для РНКи, содержащее несоответствие последовательности-мишени, эффективным для ингибирования экспрессии гена СФВ. Учет эффективности средств для

РНКи с несоответствиями при ингибировании экспрессии гена СFB является важным, особенно, если известно, что конкретная область комплементарности в гене СFB имеет полиморфные варианты последовательности в популяции.

Термин «смысловая цепь» или «пассажирская цепь», в рамках изобретения, относится к цепи иРНК, включающей область, которая является в основном комплементарной области антисмысловой цепи, как этот термин определен в настоящем описании.

В рамках изобретения, «в основном все из нуклеотидов являются модифицированными», являются по большей части, но не полностью модифицированными, и могут включать не более, чем 5, 4, 3, 2 или 1 немодифицированных нуклеотидов.

В рамках изобретения, термин «область расщепления» относится к области, локализованной непосредственно по соседству с участком расщепления. Участок расщепления представляет собой участок в мишени, в котором происходит расщепление. В некоторых вариантах осуществления, область расщепления содержит три основания на каждом конце участка расщепления, и непосредственно по соседству с ним. В некоторых вариантах осуществления, область расщепления содержит два основания на каждом конце участка расщепления, и непосредственно по соседству с ним. В некоторых вариантах осуществления, участок расщепления специфически образуется в участке, связанном нуклеотидами 10 и 11 антисмысловой цепи, и область расщепления содержит нуклеотиды 11, 12 и 13.

В рамках изобретения, и если не указано иное, термин «комплементарная», при использовании для описания первой нуклеотидной последовательности, по отношению к второй нуклеотидной последовательности, относится к способности олигонуклеотида или полинуклеотида, содержащего первую нуклеотидную последовательность, гибридизоваться и формировать структуру дуплекса, в определенных условиях, с олигонуклеотидом или полинуклеотидом, содержащим вторую нуклеотидную последовательность, как понятно специалисту в данной области. Такие условия могут, например, представлять собой «строгие условия», где строгие условия могут включать: 400 мМ NaCl, 40 мМ PIPES pH 6,4, 1 мМ ЭДТА, 50°C или 70°C в течение 12-16 часов, с последующей промывкой (см., например, «Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press»). Можно использовать другие условия, такие как физиологически значимые условия, какие могут встретиться внутри организма. Специалист в данной области способен определять набор условий, наиболее подходящих для тестирования комплементарности двух последовательностей, в соответствии с конечным применением гибридизованных нуклеотидов.

Комплементарные последовательности внутри иРНК, например, внутри дцРНК, как описано в настоящем описании, включают спаривание оснований олигонуклеотида или полинуклеотида, содержащего первую нуклеотидную последовательность, с олигонуклеотидом или полинуклеотидом, содержащим вторую нуклеотидную

последовательность, на протяжении полной длины одной или обеих нуклеотидных последовательностей. Такие последовательности могут быть обозначены как «полностью комплементарные» по отношению друг к другу в настоящем описании. Однако, когда первая последовательность обозначена как «в основном комплементарная» по отношению к второй последовательности в настоящем описании, две последовательности могут являться полностью комплементарными, или они могут формировать одну или несколько, но, как правило, не более чем 5, 4, 3 или 2 несоответствующих пар оснований при гибридизации для дуплекса вплоть до 30 пар оснований, в то же время сохраняя способность гибридизоваться в условиях, наиболее соответствующих их конечному применению, например, ингибированию экспрессии гена, *in vitro* или *in vivo*. Однако, когда два олигонуклеотида сконструированы для формирования, при гибридизации, одного или нескольких одноцепочечных выступающих концов, такие выступающие концы не следует рассматривать как несоответствия, применительно к определению комплементарности. Например, дцРНК, содержащая один олигонуклеотид длиной 21 нуклеотид и другой олигонуклеотид длиной 23 нуклеотида, где более длинный олигонуклеотид содержит последовательность из 21 нуклеотида, которая является полностью комплементарной более короткому олигонуклеотиду, все еще может быть обозначена как «полностью комплементарная» для целей, описанных в настоящем описании.

«Комплементарные» последовательности, в рамках изобретения, могут также включать, или являться сформированными полностью из пар оснований не по Уотсону-Крику или пар оснований, сформированных из неприродных и модифицированных нуклеотидов, настолько, насколько удовлетворены вышеуказанные требования по отношению к их способности к гибридизации. Такие пары оснований не по Уотсону-Крику включают, но без ограничения, спаривание оснований G:U с качанием или спаривание оснований по Хугстину.

Термины «комплементарные», «полностью комплементарные» и «в основном комплементарные» в настоящем описании могут быть использованы по отношению к соответствию оснований между смысловой цепью и антисмысловой цепью дцРНК, или между двумя олигонуклеотидами или полинуклеотидами, такими как антисмысловая цепь средства на основе двухцепочечной РНК и последовательность-мишень, как понятно из контекста их использования.

В рамках изобретения, полинуклеотид, который является «в основном комплементарным по меньшей мере части» матричной РНК (мРНК), относится к полинуклеотиду, который является в основном комплементарным непрерывной части представляющей интерес мРНК (например, мРНК, кодирующей ген фактора комплемента В). Например, полинуклеотид является комплементарным по меньшей мере части мРНК фактора комплемента В, если последовательность является в основном комплементарной непрерывной части мРНК, кодирующей ген фактора комплемента В.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, антисмысловые полинуклеотиды, описанные в настоящем описании, являются полностью комплементарными последовательности-мишени CFB.

В других вариантах осуществления, антисмысловые полинуклеотиды, описанные в настоящем описании, являются в основном комплементарными последовательности-мишени CFB и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая является по меньшей мере на 80% комплементарной, на протяжении своей полной длины, эквивалентной области нуклеотидной последовательности любой из SEQ ID NO: 1-7 или фрагменту любой из SEQ ID NO: 1-7, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% комплементарной.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловые полинуклеотиды, описанные в настоящем описании, являются в основном комплементарными фрагменту последовательности-мишени CFB и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая является по меньшей мере на 80% комплементарной, на протяжении своей полной длины, фрагменту SEQ ID NO: 1, выбранному из группы нуклеотидов 504-526, 640-662, 641-663, 995-1017, 997-1019, 1034-1056, 1141-1163, 1145-1167, 1389-1411, 1473-1495, 1826-1848, 1828-1850, 1842-1864, 2242-2264, 2391-2413, 2393-2415, 2438-2460 или 2453-2475 из SEQ ID NO: 1, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 91%, приблизительно 92%, приблизительно 93%, приблизительно 94%, приблизительно 95%, приблизительно 96%, приблизительно 97%, приблизительно 98% или приблизительно 99% комплементарной.

В других вариантах осуществления, антисмысловые полинуклеотиды, описанные в настоящем описании, являются в основном комплементарными последовательности-мишени CFB и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая является по меньшей мере приблизительно на 80% комплементарной, на протяжении своей полной длины, любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи в любой из таблиц 2-3 или фрагменту любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи в любой из таблиц 2-3, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95% или полностью комплементарной.

В одном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению включает смысловую цепь, которая является в основном комплементарной антисмысловому полинуклеотиду, который, в свою очередь, является таким же, как последовательность-мишень CFB, и при этом смысловая цепь полинуклеотида содержит непрерывную нуклеотидную последовательность, которая является по меньшей мере приблизительно на 80% комплементарной, на протяжении своей полной длины, эквивалентной области нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 8-14, или фрагменту любой из SEQ ID NO: 8-14, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95% или полностью комплементарной.

В некоторых вариантах осуществления, иРНК по настоящему изобретению включает смысловую цепь, которая является в основном комплементарной антисмысловому полинуклеотиду, который, в свою очередь, является комплементарным последовательности-мишени фактора компонента В, и при этом смысловая цепь полинуклеотида содержит непрерывную нуклеотидную последовательность, которая является по меньшей мере приблизительно на 80% комплементарной, на протяжении своей полной длины, любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи в любой из таблиц 2-3, или фрагменту любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи в любой из таблиц 2-3, например, на приблизительно 85%, приблизительно 90%, приблизительно 95%, или полностью комплементарной.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1726057.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1725763.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1725777.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1725057.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1725096.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1728786.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1725059.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1728276.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1728278.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1726936.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1725472.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1724715.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1727292.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1730477.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1727288.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1730167.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1725408.

В одном варианте осуществления, смысловая и антисмысловая цепи выбраны из дуплекса AD-1725761.

В некоторых вариантах осуществления, двухцепочечная область средства на основе двухцепочечной иРНК имеет длину, равную или по меньшей мере, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или более пар нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства на основе двухцепочечной иРНК имеет длину, равную или по меньшей мере 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства на основе двухцепочечной иРНК имеет длину, равную или по меньшей мере 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов.

В одном варианте осуществления, каждая из смысловой и антисмысловой цепей средства на основе двухцепочечной иРНК имеет длину 18-30 нуклеотидов.

В одном варианте осуществления, каждая из смысловой и антисмысловой цепей средства на основе двухцепочечной иРНК имеет длину 19-25 нуклеотидов.

В одном варианте осуществления, каждая из смысловой и антисмысловой цепей средства на основе двухцепочечной иРНК имеет длину 21-23 нуклеотида.

В одном варианте осуществления, смысловая цепь средства на основе иРНК имеет длину 21 нуклеотид, и антисмысловая цепь имеет длину 23 нуклеотида, где цепи формируют двухцепочечную область из 21 последовательных пар оснований, имеющую одноцепочечные выступающие концы длиной 2 нуклеотида на 3'-конце.

В некоторых вариантах осуществления, большинство нуклеотидов каждой цепи представляют собой рибонуклеотиды, но, как подробно описано в настоящем описании, каждая или обе цепи могут также включать один или несколько нерибонуклеотидов, например, дезоксирибонуклеотид или модифицированный нуклеотид. Кроме того, «иРНК» может включать рибонуклеотиды с химическими модификациями. Такие модификации могут включать все типы модификаций, описанные в настоящем описании или известные в данной области. Любые такие модификации, как использовано в молекуле иРНК, охвачены посредством «иРНК» для целей в настоящем описании и формуле изобретения.

В конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения, включение дезокси-нуклеотида, если он присутствует в средстве для РНКи, можно рассматривать как составляющее модифицированный нуклеотид.

В одном варианте осуществления, по меньшей мере частичную супрессию экспрессии гена СFB оценивают по уменьшению количества мРНК СFB, которое можно выделить из или детектировать в первой клетке или группе клеток, в которой транскрибируется ген СFB, которая была или были обработаны таким образом, что экспрессия гена СFB ингибируется, по сравнению с второй клеткой или группой клеток, которая по существу идентична первой клетке или группе клеток, но которая не была или не были обработаны таким образом (контрольные клетки). Степень ингибирования можно выражать в форме:

$$\frac{(\text{мРНК в контрольных клетках}) - (\text{мРНК в обработанных клетках})}{(\text{мРНК в контрольных клетках})} \bullet 100\%$$

Фраза «приведение в контакт клетки с иРНК», такой как дцРНК, в рамках изобретения, включает приведение в контакт клетки посредством любых возможных способов. Приведение в контакт клетки с иРНК включает приведение в контакт клетки *in vitro* с иРНК или приведение в контакт клетки *in vivo* с иРНК. Приведение в контакт можно осуществлять напрямую или опосредованно. Таким образом, например, иРНК может приводить в физический контакт с клеткой индивидуум, осуществляющий способ, или альтернативно, иРНК можно помещать в ситуацию, которая может позволять ей или вынуждать ее затем вступать в контакт с клеткой.

Приведение клетки в контакт *in vitro* можно осуществлять, например, посредством инкубации клетки с иРНК. Приведение клетки в контакт *in vivo* можно осуществлять, например, посредством инъекции иРНК в ткань или вблизи ткани, где локализована клетка, или посредством инъекции иРНК в другую область, например, кровотока или подкожное пространство, так чтобы средство могло впоследствии достигать ткани, где локализована клетка, подлежащая приведению в контакт. Например, иРНК может содержать лиганд или являться присоединенной к лиганду, например, GalNAc, который нацеливает иРНК на представляющий интерес участок, например, печень. Комбинации способов приведения в контакт *in vitro* и *in vivo* также являются возможными. Например, клетку также можно приводить в контакт *in vitro* с иРНК и затем трансплантировать субъекту.

В конкретных вариантах осуществления, приведение клетки в контакт с иРНК включает «введение» или «доставку иРНК в клетку» посредством облегчения или вызова поглощения или абсорбции в клетку. Абсорбция или поглощение иРНК может происходить посредством самопроизвольных диффузионных или активных клеточных процессов, или посредством вспомогательных средств или устройств. Введение иРНК в клетку может происходить *in vitro* или *in vivo*. Например, для введения *in vivo*, иРНК можно инъецировать в участок ткани или вводить системно. Введение в клетку *in vitro* включает способы,

известные в данной области, такие как электропорация и липофекция. Дополнительные способы описаны в настоящем описании ниже или известны в данной области.

Термин «липидная наночастица» или «LNP» представляет собой везикулу, содержащую липидный слой, инкапсулирующий фармацевтически активную молекулу, такую как молекула нуклеиновой кислоты, например, иРНК, или плазида, с которой транскрибируется иРНК. LNP описаны, например, в Патентах США No. 6858225, 6815432, 8158601 и 8058069, полное содержание которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

В рамках изобретения, «субъект» представляет собой животное, такое как млекопитающее, включая примата (такого как человек, не относящийся к человеку примат, например, обезьяна и шимпанзе), не примата (такого как кролик, овца, хомяк, морская свинка, собака, крыса или мышь), или птица, которое экспрессирует ген-мишень, либо эндогенно, либо гетерологично. В одном варианте осуществления, субъект представляет собой человека, такого как человек, подвергаемый лечению или оценке заболевания или нарушения, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии CFB; человек, подверженный риску заболевания или нарушения, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии CFB; человек, имеющий заболевание или нарушение, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии CFB; или человек, подвергаемый лечению заболевания или нарушения, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии CFB, как описано в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, субъект представляет собой человека женского пола. В других вариантах осуществления, субъект представляет собой человека мужского пола. В одном варианте осуществления, субъект представляет собой взрослого субъекта. В другом варианте осуществления, субъект представляет собой субъекта детского возраста.

В рамках изобретения, термины «проведение лечения» или «лечение» относятся к обеспечивающему преимущество или желательному результату, такому как уменьшение по меньшей мере одного признака или симптома ассоциированного с CFB нарушения у субъекта. Лечение также включает уменьшение одного или нескольких признаков или симптомов, ассоциированных с нежелательной экспрессией CFB; уменьшение степени нежелательной активации или стабилизации CFB; облегчение или смягчение нежелательной активации или стабилизации CFB. «Лечение» может также означать продление выживаемости, по сравнению с ожидаемой выживаемостью в отсутствие лечения

Термин «снижать», в контексте уровня CFB у субъекта, или маркера или симптома заболевания, относится к статистически значимому уменьшению такого уровня. Уменьшение может составлять, например, по меньшей мере 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, %, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более. В конкретных вариантах осуществления, уменьшение составляет по меньшей мере 20%. В конкретных вариантах осуществления, уменьшение составляет по меньшей мере 50% для маркера

заболевания, например, уровня экспрессии белка или гена. «Снижать», в контексте уровня СФВ у субъекта, представляет собой уменьшение до уровня, принятого как находящийся в рамках диапазона нормы для индивидуума без такого нарушения. В конкретных вариантах осуществления, экспрессию мишени нормализуют, т.е., уменьшают по направлению к уровню или до уровня, принятого как находящийся в рамках диапазона нормы для индивидуума без такого нарушения, например, нормализация массы тела, кровяного давления или уровня липидов в сыворотке. В рамках изобретения, «снижать» у субъекта может относиться к снижению экспрессии гена или продукции белка в клетке у субъекта, не требует снижения экспрессии во всех клетках или тканях субъекта. Например, в рамках изобретения, снижение у субъекта может включать снижение экспрессии гена или продукции белка в печени субъекта.

Термин «снижать» может быть также использован в ассоциации с нормализацией симптома заболевания или состояния, т.е., уменьшением различия между уровнем у субъекта, страдающего ассоциированным с СФВ заболеванием, по направлению к уровню или до уровня у нормального субъекта, не страдающего ассоциированным с СФВ заболеванием. Например, если субъект с нормальной массой 70 кг имеет массу 90 кг до лечения (избыточная масса 20 кг) и 80 кг после лечения (избыточная масса 10 кг), масса субъекта снижена по направлению к нормальной массе на 50% ($10/20 \times 100\%$). Подобным образом, если уровень HDL женщины увеличен от 50 мг/дл (плохого) до 57 мг/дл, когда нормальный уровень составляет 60 мг/дл, различие между предшествующим уровнем у субъекта и нормальным уровнем уменьшено на 70% (различие 10 мг/дл между уровнем у субъекта и нормальным уменьшено на 7 мг/дл, $7/10 \times 100\%$). В рамках изобретения, если заболевание ассоциировано с повышенным уровнем для симптома, «нормальный» считают составляющим верхний предел нормы. Если заболевание ассоциировано с уменьшенным уровнем для симптома, «нормальный» считают составляющим нижний предел нормы.

В рамках изобретения, «предотвращение» или «осуществление предотвращения», при использовании, применительно к заболеванию, нарушению или его состоянию, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии гена СФВ или продукции белка СФВ, относится к предотвращению у субъекта, имеющего по меньшей мере один признак или симптом заболевания, развития следующих признаков и симптомов, таким образом, соответствия диагностическим критериям для этого заболевания. В конкретных вариантах осуществления, предотвращение включает замедление прогрессирования до соответствия диагностическим критериям заболевания на несколько суток, недель, месяцев или лет, по сравнению с тем, что можно прогнозировать по исследованиям естественного течения или типичного прогрессирования заболевания.

В рамках изобретения, термин «ассоциированное с фактором комплемента В заболевание» или «ассоциированное с СФВ заболевание» представляет собой заболевание или нарушение, которое вызвано, или ассоциировано с, активацией комплемента. Термин «ассоциированное с СФВ заболевание» включает заболевание, нарушение или состояние, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии гена, репликации

или активности белка CFB. Неограничивающие примеры ассоциированных с CFB заболеваний включают, например, пароксизмальную ночную гемоглобинурию (PNH), атипичный гемолитико-уремический синдром (aHUS), астму, ревматоидный артрит (RA); синдром антифосфолипидных антител; волчаночный нефрит; ишемически-реперфузионное повреждение; типичный или инфекционный гемолитико-уремический синдром (tHUS); болезнь плотных депозитов (DDD); оптиконевромиелит (NMO); мультифокальную моторную невропатию (MMN); рассеянный склероз (MS); дегенерацию желтого пятна (например, связанную с возрастом дегенерацию желтого пятна (AMD)); синдром гемолиза, увеличения активности печеночных ферментов и низкого количества тромбоцитов (HELLP); тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру (ТТП); спонтанную потерю плода; слабоиммунный васкулит; буллезный эпидермолиз; рецидивирующую потерю плода; преэклампсию, травматическое повреждение головного мозга, миастению гравис, болезнь холодовых агглютининов, дерматомиозит, буллезный пемфигоид, связанный с токсином шига *E. coli* гемолитико-уремический синдром, С3-невропатию, ассоциированный с антителами против цитоплазмы нейтрофилов васкулит (например, гранулематоз с полиангиитом (ранее известный как гранулематоз Вегенера), синдром Черджа-Стросс и микроскопический полиангиит), гуморальное и васкулярное отторжение трансплантата, дисфункцию трансплантата, инфаркт миокарда (например, повреждение и ишемию ткани при инфаркте миокарда), аллогенный трансплантат, сепсис (например, плохой исход при сепсисе), болезнь коронарных артерий, дерматомиозит, болезнь Грэйвса, атеросклероз, болезнь Альцгеймера, системный воспалительный ответ при сепсисе, септический шок, повреждение спинного мозга, гломерулонефрит, тиреоидит Хашимото, диабет I типа, псориаз, пемфигус, аутоиммунную гемолитическую анемию (АИНА), ИТП, синдром Гудпасчера, болезнь Дегоса, антифосфолипидный синдром (APS), катастрофический APS (CAPS), сердечно-сосудистое нарушение, миокардит, цереброваскулярное нарушение, нарушение периферических (например, скелетно-мышечных) сосудов, реноваскулярное нарушение, мезентеральное/энтеральное сосудистое нарушение, васкулит, нефрит при пурпуре Геноха-Шенлейна, ассоциированный с системной красной волчанкой васкулит, ассоциированный с ревматоидным артритом васкулит, васкулит иммунных комплексов, болезнь Такаясу, дилатационную кардиомиопатию, диабетическую ангиопатию, болезнь (артериит) Кавасаки, венозную газовую эмболию (VGE) и рестеноз после стентирования, ротационную атерэктомия и чрескожную транслюминальную коронарную ангиопластику (PTCA) (см., например, Holers (2008) *Immunological Reviews* 223:300-316; Holers and Thurman (2004) *Molecular Immunology* 41:147-152; Публикация патента США No. 20070172483).

В одном варианте осуществления, ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии, поликистоза почек, мембранозной нефропатии, связанной с возрастом дегенерации желтого пятна, атипичного гемолитико-уремического синдрома,

тромботической микроангиопатии, миастении гравис, ишемического и реперфузионного повреждения, пароксизмальной ночной гемоглобинурии и ревматоидного артрита

В другом варианте осуществления, ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии и поликистоза почек.

Дополнительные детали, применительно к признакам и симптомам различных заболеваний или состояний, представлены в настоящем описании и хорошо известны в данной области.

«Терапевтически эффективное количество», в рамках изобретения, предназначено для включения количества средства для РНКи, которое, при введении субъекту, имеющему ассоциированное с СFB заболевание, является достаточным для осуществления лечения заболевания (например, посредством уменьшения, облегчения или поддержания существующего заболевания, или одного или нескольких симптомов заболевания). «Терапевтически эффективное количество» можно менять, в зависимости от средства для РНКи, того, каким образом вводят средство, заболевания и его тяжести и анамнеза, возраста, массы, семейного анамнеза, генетического строения, типов предшествующего или сопутствующего лечения, если оно присутствует, и других индивидуальных характеристик субъекта, подлежащего лечению.

«Профилактически эффективное количество», в рамках изобретения, предназначено для включения количества средства для РНКи, которое, при введении субъекту, имеющему по меньшей мере один признак или симптом ассоциированного с СFB нарушения, является достаточным для предотвращения или задержки прогрессирования у субъекта до соответствия полным диагностическим критериям заболевания. Предотвращение заболевания включает замедление хода прогрессирования до полностью развившегося заболевания. «Профилактически эффективное количество» можно менять, в зависимости от средства для РНКи, того, каким образом вводят средство, степени риска и анамнеза заболевания, возраста, массы, семейного анамнеза, генетического строения, типов предшествующего или сопутствующего лечения, если оно присутствует, и других индивидуальных характеристик пациента, подлежащего лечению.

«Терапевтически эффективное количество» или «профилактически эффективное количество» также включает количество средства для РНКи, которое оказывает некоторый желательный эффект с целесообразным соотношением польза/риск, применимым для любого лечения. иРНК, используемую в способах по настоящему изобретению, можно вводить в достаточном количестве для получения целесообразного соотношения польза/риск, применимого для такого лечения.

Фраза «фармацевтически приемлемый» использована в настоящем описании для обозначения соединений, материалов, композиций или лекарственных форм, которые, в рамках обоснованного врачебного решения, являются пригодными для использования в контакте с тканями субъектов-людей и субъектов-животных без избыточной токсичности,

раздражения, аллергического ответа или других проблем или осложнений, соразмерно с целесообразным соотношением польза/риск.

Фраза «фармацевтически приемлемый носитель», в рамках изобретения, обозначает фармацевтически приемлемый материал (включая соли), композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, расширитель, вспомогательное вещество для изготовления (например, смазывающее вещество, тальк, стеарат магния, кальция или цинка, или стеариновая кислота), или инкапсулирующий растворитель материал, вовлеченный в перенос или транспорт рассматриваемого соединения от одного органа или части организма, к другому органу или части организма. Каждый носитель должен являться «приемлемым», в том смысле, что является совместимым с другими ингредиентами состава и не вредным для субъекта, подвергаемого лечению. Такие носители известны в данной области. Фармацевтически приемлемые носители включают носители для введения посредством инъекции.

Термин «образец», в рамках изобретения, включает набор сходных жидкостей, клеток или тканей, выделенных от субъекта, так же как жидкостей, клеток или тканей, присутствующих внутри организма субъекта. Примеры биологических жидкостей включают кровь, сыворотку и серозные жидкости, плазму, спинномозговую жидкость, внутриглазные жидкости, лимфу, мочу, слюну и т.п. Образцы ткани могут включать образцы из тканей, органов или локализованных областей. Например, образцы могут происходить из конкретных органов, частей органов, или жидкостей или клеток внутри этих органов. В конкретных вариантах осуществления, образцы могут происходить из печени (например, всей печени или конкретных фрагментов печени, или конкретных типов клеток в печени, например, таких как гепатоциты). В некоторых вариантах осуществления, «образец, происходящий от субъекта», относится к моче, полученной от субъекта. «Образец, происходящий от субъекта», может относиться к крови, или полученной из крови сыворотке или плазме от субъекта.

II. иРНК по настоящему изобретению

Настоящее изобретение относится к иРНК, которые ингибируют экспрессию гена фактора комплемента В. В конкретных вариантах осуществления, иРНК включает молекулы двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии гена СFB в клетке, такой как клетка внутри организма субъекта, например, млекопитающего, такого как человек, чувствительный к развитию ассоциированного с фактором комплемента В нарушения. Средство на основе дцРНКи включает антисмысловую цепь, имеющую область комплементарности, которая является комплементарной по меньшей мере части мРНК, образованной при экспрессии гена СFB. Область комплементарности имеет длину приблизительно 19-30 нуклеотидов (например, длину приблизительно 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20 или 19 нуклеотидов). При контакте с клеткой, экспрессирующей ген СFB, иРНК ингибирует экспрессию гена СFB (например, гена СFB человека, примата, не примата или крысы) на по меньшей мере приблизительно 50%, как оценено посредством, например, способа на основе ПЦР или

разветвленной ДНК (bdNA), или посредством способа на основе белка, например, посредством иммунофлуоресцентного анализа, с использованием, например, способов Вестерн-блоттинга или проточной цитометрии. В конкретных вариантах осуществления, ингибирование экспрессии определяют посредством способа qПЦР, представленного в примерах в настоящем описании, с использованием миРНК, например, при концентрации 10 нМ, в линии клеток подходящего организма, представленного в них. В конкретных вариантах осуществления, ингибирование экспрессии *in vivo* определяют посредством нокдауна человеческого гена у грызуна, экспрессирующего человеческий ген, например, мыши или инфицированной AAV мыши, экспрессирующей ген-мишень человека, например, при введении в форме однократной дозы, например, при 3 мг/кг, в низшей точке экспрессии РНК.

дцРНК включает две цепи РНК, которые являются комплементарными и гибридизуются с формированием структуры дуплекса в условиях, в которых могут использовать дцРНК. Одна цепь дцРНК (антисмысловая цепь) включает область комплементарности, которая является в основном комплементарной, и, как правило, полностью комплементарной, последовательности-мишени. Последовательность-мишень может происходить из последовательности мРНК, образованной в ходе экспрессии гена СФВ. Другая цепь (смысловая цепь) включает область, которая является комплементарной антисмысловой цепи, так что две цепи гибридизуются и формируют структуру дуплекса при комбинировании в подходящих условиях. Как описано в другом месте в настоящем описании и как известно в данной области, комплементарные последовательности дцРНК могут также содержаться в качестве самокомплементарных областей одной молекулы нуклеиновой кислоты, в отличие от расположения на отдельных олигонуклеотидах.

Как правило, структура дуплекса имеет длину 15-30 пар оснований, например, длину 15-29, 15-28, 15-27, 15-26, 15-25, 15-24, 15-23, 15-22, 15-21, 15-20, 15-19, 15-18, 15-17, 18-30, 18-29, 18-28, 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пар оснований. В конкретных вариантах осуществления, структура дуплекса имеет длину 18-25 пар оснований, например, длину 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-25, 21-24, 21-23, 21-22, 22-25, 22-24, 22-23, 23-25, 23-24 или 24-25 пар оснований, например, длину 19-21 пара оснований. Подразумевают, что диапазоны и длины, промежуточные по отношению к перечисленным выше диапазонам и длинам, также составляют часть настоящего изобретения.

Подобным образом, область комплементарности с последовательностью-мишенью имеет длину 15-30 нуклеотидов, например, длину 15-29, 15-28, 15-27, 15-26, 15-25, 15-24, 15-23, 15-22, 15-21, 15-20, 15-19, 15-18, 15-17, 18-30, 18-29, 18-28, 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотида, например, длину 19-23

нуклеотида или длину 21-23 нуклеотида. Подразумевают, что диапазоны и длины, промежуточные по отношению к перечисленным выше диапазонам и длинам, также составляют часть настоящего изобретения.

В некоторых вариантах осуществления, структура дуплекса имеет длину 19-30 пар оснований. Подобным образом, область комплементарности с последовательностью-мишенью имеет длину 19-30 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, дцРНК имеет длину от приблизительно 19 до приблизительно 23 нуклеотидов или длину от приблизительно 25 до приблизительно 30 нуклеотидов. Как правило, дцРНК является достаточно длинной, чтобы служить в качестве субстрата для фермента Dicer. Например, в данной области хорошо известно, что дцРНК длиной, длиннее, чем приблизительно 21-23 нуклеотида, могут служить в качестве субстратов для Dicer. Как также известно специалисту в данной области, область РНК, нацеленная для расщепления, наиболее часто может составлять часть большей молекулы РНК, часто, молекулы мРНК. В соответствующих случаях, «часть» мРНК-мишени представляет собой непрерывную последовательность мРНК-мишени достаточной длины, чтобы являться субстратом для направляемого РНКи расщепления (т.е., расщепления посредством пути RISC).

Специалисту в данной области понятно также, что область дуплекса является первичной функциональной частью дцРНК, например, область дуплекса из от приблизительно 19 до приблизительно 30 пар оснований, например, приблизительно 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пара оснований. Таким образом, в одном варианте осуществления, в той степени, в которой они подвергаются процессингу до функционального дуплекса, например, из 15-30 пар оснований, который нацеливается на желательную РНК для расщепления, молекула РНК или комплекс молекул РНК, имеющие область дуплекса более чем 30 пар оснований, представляют собой дцРНК. Таким образом, специалисту в данной области понятно, что, в одном варианте осуществления, мкРНК представляет собой дцРНК. В другом варианте осуществления, дцРНК не представляет собой встречающуюся в природе мкРНК. В другом варианте осуществления, средство на основе иРНК, которое можно использовать для нацеливания на экспрессию гена фактора комплемента В, не образуется в клетке-мишени посредством расщепления большей дцРНК.

дцРНК, как описано в настоящем описании, может дополнительно включать один или несколько одноцепочечных нуклеотидных выступающих концов, например, из 1-4, 2-4, 1-3, 2-3, 1, 2, 3 или 4 нуклеотидов. дцРНК, имеющие по меньшей мере один нуклеотидный выступающий конец, могут иметь превосходящие ингибирующие свойства, относительно их эквивалентов с тупыми концами. Нуклеотидный выступающий конец может содержать или состоять из аналога нуклеотида/нуклеозида, включая дезоксинуклеотид/нуклеозид. Выступающий конец(ы) могут присутствовать в смысловой цепи, антисмысловой цепи или любой их комбинации. Кроме того, нуклеотид(ы) выступающего конца могут

присутствовать на 5'-конце, 3'-конце или обоих концах антисмысловой или смысловой цепи дцРНК.

дцРНК можно синтезировать посредством стандартных способов, известных в данной области. Двухцепочечные соединения для РНКи по настоящему изобретению можно получать с использованием двухстадийного способа. Сначала индивидуальные цепи двухцепочечной молекулы РНК получают по отдельности. Затем являющиеся компонентами цепи гибридизуют. Индивидуальные цепи соединения миРНК можно получать с использованием органического синтеза в фазе раствора или в твердой фазе, или обоих. Органический синтез обеспечивает то преимущество, что можно легко получать олигонуклеотидные цепи, содержащие неприродные или модифицированные нуклеотиды. Подобным образом, одноцепочечные олигонуклеотиды по настоящему изобретению можно получать с использованием органического синтеза в фазе раствора или в твердой фазе, или обоих.

Независимо от способа синтеза, препарат миРНК можно получать в растворе (например, водном или органическом растворе), который является подходящим для формулирования. Например, препарат миРНК можно преципитировать и перерастворять в чистой дважды дистиллированной воде, и лиофилизировать. Высушенную миРНК можно затем ресуспендировать в растворе, подходящим для намеченного способа формулирования.

В одном аспекте, дцРНК по настоящему изобретению включает по меньшей мере две нуклеотидные последовательности, смысловую последовательность и антисмысловую последовательность. Смысловая цепь выбрана из группы последовательностей, представленных в любой из таблиц 2-3, и соответствующая антисмысловая цепь для смысловой цепи выбрана из группы последовательностей из любой из таблиц 2-3. В этом аспекте, одна из двух последовательностей является комплементарной другой из двух последовательностей, где одна из последовательностей является в основном комплементарной последовательности мРНК, образованной при экспрессии гена фактора комплемента В. Таким образом, в этом аспекте, дцРНК может включать два олигонуклеотида, где один олигонуклеотид описан как смысловая цепь в любой из таблиц 2-3, и второй олигонуклеотид описан как соответствующая антисмысловая цепь для смысловой цепи в любой из таблиц 2-3.

В конкретных вариантах осуществления, в основном комплементарные последовательности дцРНК содержатся в отдельных олигонуклеотидах. В других вариантах осуществления, в основном комплементарные последовательности дцРНК содержатся в одном олигонуклеотиде.

Понятно, что, несмотря на то, что последовательности в таблице 2 не описаны как модифицированные или конъюгированные последовательности, РНК из иРНК по настоящему изобретению, например, дцРНК по настоящему изобретению, может содержать любую из последовательностей, указанных в любой из таблиц 2-3, которая является немодифицированной, неконъюгированной, или модифицированной или

конъюгированной иным образом, чем описано в них. Иными словами, настоящее изобретение охватывает дцРНК из таблиц 2-3, которые являются немодифицированными, неконъюгированными, модифицированными или конъюгированными, как описано в настоящем описании.

Специалисту в данной области хорошо известно, что дцРНК, имеющие структуру дуплекса из приблизительно 20-23 пар оснований, например, 21 пары оснований, объявлены особенно эффективными в индукции РНК-интерференции (Elbashir *et al.*, *EMBO* 2001, 20:6877-6888). Однако, другие авторы обнаружили, что более короткие или более длинные структуры дуплексов РНК могут являться также эффективными (Chu and Rana (2007) *RNA* 14:1714-1719; Kim *et al.* (2005) *Nat Biotech* 23:222-226). В вариантах осуществления, описанных выше, из-за характера олигонуклеотидных последовательностей, представленных в любой из таблиц 2-3, дцРНК, описанные в настоящем описании, могут включать по меньшей мере одну цепь длиной минимум 21 нуклеотид. Разумно ожидать, что более короткие дуплексы, имеющие любую из последовательностей в любой из таблиц 2-3 минус только несколько нуклеотидов на одном или обоих концах, могут являться сходным образом эффективными, по сравнению с дцРНК, описанными выше. Таким образом, дцРНК, имеющие последовательность из по меньшей мере 19, 20 или более непрерывных нуклеотидов, происходящую из любой из последовательностей из любой из таблиц 2-3, и отличающиеся по их способности ингибировать экспрессию гена фактора комплемента В не более, чем на приблизительно 5, 10, 15, 20, 25 или 30% ингибирования, от дцРНК, содержащей полную последовательность, подразумевают как включенные в объем настоящего изобретения.

Кроме того, РНК, представленные в таблицах 2-3, идентифицируют участок(и) в транскрипте фактора комплемента В, которые являются чувствительными к опосредованному RISC расщеплению. Таким образом, настоящее изобретение, кроме того, относится к иРНК, нацеливающих в пределах одного из этих участков. В рамках изобретения, иРНК называют нацеливающей в пределах конкретного участка транскрипта РНК, если иРНК стимулирует расщепление транскрипта в любом месте в пределах этого конкретного участка. Такая иРНК может, как правило, включать по меньшей мере приблизительно 19 непрерывных нуклеотидов из любой из последовательностей, представленных в любой из таблиц 2-3, связанные с дополнительными нуклеотидными последовательностями, взятыми из области, непрерывной с избранной последовательностью в гене фактора комплемента В.

Средство для РНКи, как описано в настоящем описании, может содержать одно или несколько несоответствий последовательности-мишени. В одном варианте осуществления, средство для РНКи, как описано в настоящем описании, содержит не более, чем 3 несоответствия (т.е., 3, 2, 1 или 0 несоответствий). В одном варианте осуществления, средство для РНКи как описано в настоящем описании, содержит не более, чем 2 несоответствия. В одном варианте осуществления, средство для РНКи, как описано в настоящем описании, содержит не более, чем 1 несоответствие. В одном варианте

осуществления, средство для РНКи, как описано в настоящем описании, содержит 0 несоответствий. В конкретных вариантах осуществления, если антисмысловая цепь средства для РНКи содержит несоответствия последовательности-мишени, несоответствие, может, необязательно, быть ограничено присутствием в пределах последних 5 нуклеотидов либо с 5'-, либо с 3'-конца области комплементарности. Например, в таких вариантах осуществления, для 23-нуклеотидного средства для РНКи, цепь, которая является комплементарной области гена СFB, как правило, не содержит никакого несоответствия в пределах центральных 13 нуклеотидов. Способы, описанные в настоящем описании, или способы, известные в данной области, можно использовать для определения того, является ли средство для РНКи, содержащее несоответствие последовательности-мишени, эффективным для ингибирования экспрессии гена СFB. Учет эффективности средств для РНКи с несоответствиями при ингибировании экспрессии гена СFB является важным, особенно, если известно, что конкретная область комплементарности в гене СFB имеет полиморфные варианты последовательности в популяции.

III. Модифицированные иРНК по настоящему изобретению

В конкретных вариантах осуществления, РНК из иРНК по настоящему изобретению например, дцРНК, является немодифицированной и не содержит, например, химические модификации или конъюгации, известные в данной области и описанные в настоящем описании. В других вариантах осуществления, РНК из иРНК по настоящему изобретению, например, дцРНК, химически модифицируют для улучшения стабильности или других обеспечивающих преимущество характеристик. В конкретных вариантах осуществления изобретения, в основном все из нуклеотидов из иРНК по настоящему изобретению являются модифицированными. В других вариантах осуществления изобретения, все из нуклеотидов из иРНК или в основном все из нуклеотидов из иРНК являются модифицированными, т.е., не более, чем 5, 4, 3, 2 или 1 немодифицированных нуклеотидов присутствуют в цепи иРНК.

Нуклеиновые кислоты, признаки которых раскрыты по настоящему изобретению, можно синтезировать и/или модифицировать посредством способов, хорошо разработанных в данной области, таких как описанные в «Current protocols in nucleic acid chemistry», Beaucage, S.L. *et al.* (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA, содержание которого, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки. Модификации включают, например, концевые модификации, например, 5'-концевые модификации (фосфорилирование, конъюгацию, инвертированные связи) или 3'-концевые модификации (конъюгацию, нуклеотиды ДНК, инвертированные связи и т.д.); модификации оснований, например, замену стабилизирующими основаниями, дестабилизирующими основаниями или основаниями, которые образуют пары оснований с расширенным репертуаром партнеров, удаление оснований (лишенные азотистого основания нуклеотиды) или конъюгацию оснований; модификации сахаров (например, в 2'-положении или 4'-положении) или замену сахара; или модификации остова, включая модификацию или замену фосфодиэфирных связей. Конкретные примеры соединений

иРНК, которые можно использовать в вариантах осуществления, описанных в настоящем описании, включают, но без ограничения, РНК, содержащие модифицированные остовы или неприродные межнуклеозидные связи. РНК, имеющие модифицированные остовы, включают, среди прочего, РНК, которые не имеют атома фосфора в остове. Для целей по настоящему изобретению, и как иногда ссылаются в данной области, модифицированные РНК, которые не имеют атома фосфора в их межнуклеозидном остове, можно также рассматривать как олигонуклеозиды. В некоторых вариантах осуществления, модифицированная РНК может иметь атом фосфора в межнуклеозидном остове.

Модифицированные остовы РНК включают, например, фосфоротиоаты, хиральные фосфоротиоаты, фосфородитиоаты, фосфотриэфиры, аминоалкилфосфотриэфиры, метильные и другие алкильные фосфонаты, включая 3'-алкиленфосфонаты и хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфорамидаты, включая 3'-аминофосфорамидат и аминоалкилфосфорамидаты, тионофосфорамидаты, тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры и боранофосфаты, имеющие нормальные 3'-5'-связи, их 2'-5'-связанные аналоги и аналоги, имеющие инвертированную полярность, где соседние пары нуклеозидных звеньев соединены от 3'-5' к 5'-3' или от 2'-5' к 5'-2'. Включены также различные соли, смешанные соли и формы свободной кислоты. В некоторых вариантах осуществления изобретения, средства на основе дцРНК по настоящему изобретению находятся в форме свободной кислоты. В других вариантах осуществления изобретения, средства на основе дцРНК по настоящему изобретению находятся в форме соли. В одном варианте осуществления, средства на основе дцРНК по настоящему изобретению находятся в форме натриевой соли. В конкретных вариантах осуществления, когда средства на основе дцРНК по настоящему изобретению находятся в форме натриевой соли, ионы натрия присутствуют в средстве как противоионы для в основном всех из фосфодиэфирных или фосфоротиоатных групп, присутствующих в средстве. Средства, в которых в основном все из фосфодиэфирных или фосфоротиоатных связей имеют противоион натрия, включают не более, чем 5, 4, 3, 2 или 1 фосфодиэфирных или фосфоротиоатных связей без противоиона натрия. В некоторых вариантах осуществления, когда средства на основе дцРНК по настоящему изобретению находятся в форме натриевой соли, ионы натрия присутствуют в средстве как противоионы для всех фосфодиэфирных или фосфоротиоатных групп, присутствующих в средстве.

Репрезентативные Патенты США, в которых объяснено получение вышеуказанных фосфорсодержащих связей, включают, но без ограничения, Патенты США No. 3687808; 4469863; 4476301; 5023243; 5177195; 5188897; 5264423; 5276019; 5278302; 5286717; 5321131; 5399676; 5405939; 5453496; 5455233; 5466677; 5476925; 5519126; 5536821; 5541316; 5550111; 5563253; 5571799; 5587361; 5625050; 6028188; 6124445; 6160109; 6169170; 6172209; 6, 239,265; 6277603; 6326199; 6346614; 6444423; 6531590; 6534639; 6608035; 6683167; 6858715; 6867294; 6878805; 7015315; 7041816; 7273933; 7321029; и Патент США RE39464, полное содержание каждого из которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

Модифицированные остовы РНК, которые не включают в состав атом фосфора, имеют остовы, сформированные короткоцепочечными алкильными или циклоалкильными межнуклеозидными связями, смешанными гетероатомами и алкильными или циклоалкильными межнуклеозидными связями, или одной или несколькими короткоцепочечными гетероатомными или гетероциклическими межнуклеозидными связями. Они включают остовы, имеющие морфолиновые связи (образованные частично из части сахара нуклеозида); силоксановые остовы; сульфидные, сульфоксидные и сульфоновые остовы; формацетиловые и тиоформацетиловые остовы; метиленформацетиловые и тиоформацетиловые остовы; содержащие алкен остовы; сульфаматные остовы; метилениминовые и метиленгидразиновые остовы; сульфонатные и сульфонамидные остовы; амидные остовы; и другие, имеющие смешанные части компонентов N, O, S и CH₂.

Репрезентативные Патенты США, в которых объяснено получение вышеуказанных олигонуклеозидов, включают, но без ограничения, Патенты США No. 5034506; 5166315; 5185444; 5214134; 5216141; 5235033; 5,64,562; 5264564; 5405938; 5434257; 5466677; 5470967; 5489677; 5541307; 5561225; 5596086; 5602240; 5608046; 5610289; 5618704; 5623070; 5663312; 5633360; 5677437; и 5677439, полное содержание каждого из которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

Для использования в иРНК, представленных в настоящем описании, рассматривают подходящие миметики РНК, в которых как сахар, так и межнуклеозидная связь, т.е. остов, нуклеотидных звеньев, заменены новыми группами. Звенья оснований сохраняют для гибридизации с соответствующим соединением нуклеиновой кислоты - мишенью. Одно такое олигомерное соединение, в котором миметик РНК, как показано, имеет превосходные гибридизационные свойства, обозначено как пептидная нуклеиновая кислота (PNA). В соединениях PNA, сахарный остов РНК заменен содержащим амид остовом, в частности, аминоэтилглициновым остовом. Нуклеиновые основания сохранены и связаны напрямую или опосредованно с аза-атомами азота амидной части остова. Репрезентативные Патенты США, в которых объяснено получение соединений PNA, включают, но без ограничения, Патенты США No. 5539082; 5714331; и 5719262, полное содержание каждого из которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки. Дополнительные соединения PNA, подходящие для использования в иРНК по настоящему изобретению, описаны, например, в Nielsen *et al.*, *Science*, 1991, 254, 1497-1500.

Некоторые варианты осуществления, признаки которых раскрыты по настоящему изобретению, включают РНК с фосфоротиоатными остовами и олигонуклеозиды с гетероатомными остовами, и в частности, --CH₂--NH--CH₂--, --CH₂--N(CH₃)--O--CH₂-- [известный как метиленовый (метиляминовый) или MMI остов], --CH₂--O--N(CH₃)--CH₂--, --CH₂--N(CH₃)--N(CH₃)--CH₂-- и --N(CH₃)--CH₂--CH₂-- из процитированного выше Патента США No. 5489677, и амидные остовы из процитированного выше Патента США No. 5602240. В некоторых вариантах осуществления, РНК, признаки которых раскрыты в настоящем описании, имеют структуры морфолинового остова из процитированного выше

Патента США No. 5034506. Нативный фосфодиэфирный остов может быть представлен как O-P(O)(OH)-OCH₂-.

Модифицированные РНК могут также содержать одну или несколько замещенных групп сахаров. иРНК, например, дцРНК, признаки которых раскрыты в настоящем описании, могут включать в положении 2' одно из следующего: OH; F; O-, S- или N-алкил; O-, S- или N-алкенил; O-, S- или N-алкинил; или O-алкил-O-алкил, где алкил, алкенил и алкинил могут представлять собой замещенный или незамещенный C₁-C₁₀ алкил или C₂-C₁₀ алкенил и алкинил. Иллюстративные пригодные модификации включают O[(CH₂)_nO]_mCH₃, O(CH₂)_nOCH₃, O(CH₂)_nNH₂, O(CH₂)_nCH₃, O(CH₂)_nONH₂ и O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂, где n и m составляют от 1 до приблизительно 10. В других вариантах осуществления, дцРНК включают в 2'-положении одно из следующего: C₁-C₁₀ низший алкил, замещенный низший алкил, алкарил, аралкил, O-алкарил или O-аралкил, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, гетероциклоалкил, гетероциклоалкарил, аминоалкиламино, полиалкиламино, замещенный силил, расщепляющая РНК группа, репортерная группа, интеркалятор, группа для улучшения фармакокинетических свойств иРНК или группа для улучшения фармакодинамических свойств иРНК и другие заместители, имеющие сходные свойства. В некоторых вариантах осуществления, модификация включает 2'-метоксиэтокси(2'-O--CH₂CH₂OCH₃, также известную как 2'-O-(2-метоксиэтил) или 2'-МОЕ) (Martin *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504) т.е., алкоксиалкоксигруппу. Другая иллюстративная модификация представляет собой 2'-диметиламинооксиэтокси, т.е., группу O(CH₂)₂ON(CH₃)₂, также известную как 2'-DMAOE, как описано в примерах в настоящем описании ниже, и 2'-диметиламиноэтоксиэтокси (также известную в данной области как 2'-O-диметиламиноэтоксиэтил или 2'-DMAEOE), т.е., 2'-O--CH₂--O--CH₂--N(CH₂)₂. Дополнительные иллюстративные модификации включают: 5'-Me-2'-F-нуклеотиды, 5'-Me-2'-OMe-нуклеотиды, 5'-Me-2'-дезоксинуклеотиды, (как R-, так и S-изомеры в этих трех семействах); 2'-алкоксиалкил; и 2'-NMA (N-метилацетамид).

Другие модификации включают 2'-метокси (2'-OCH₃), 2'-аминопропокси (2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂) и 2'-фтор (2'-F). Сходные модификации можно также осуществлять в других положениях в РНК из иРНК, в частности, 3'-положении сахара на 3'-концевом нуклеотиде или в 2'-5'-связанных дцРНК и 5'-положении 5'-концевого нуклеотида. иРНК могут также иметь миметики сахаров, такие как циклобутильные группы, вместо пентофуранозильного сахара. Репрезентативные Патенты США, в которых объяснено получение таких модифицированных структур сахаров, включают, но без ограничения, Патенты США No. 4981957; 5118800; 5319080; 5359044; 5393878; 5446137; 5466786; 5514785; 5519134; 5567811; 5576427; 5591722; 5597909; 5610300; 5627053; 5639873; 5646265; 5658873; 5670633; и 5700920, некоторые из которых принадлежат тому же заявителю, что и настоящая заявка. Полное содержание каждого из вышеуказанных, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

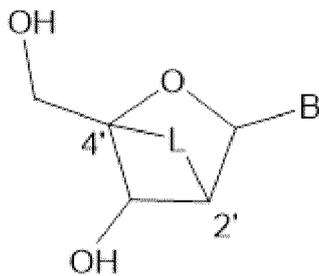
иРНК может также включать модификации или замены нуклеиновых оснований (часто обозначаемых в данной области просто как «основания»). В рамках изобретения, «немодифицированные» или «природные» нуклеиновые основания включают пуриновые основания аденин (А) и гуанин (G), и пиримидиновые основания тимин (Т), цитозин (С) и урацил (U). Модифицированные нуклеиновые основания включают другие синтетические и природные нуклеиновые основания, такие как дезокситимидин (dT), 5-метилцитозин (5-me-C), 5-гидроксиметилцитозин, ксантин, гипоксантин, 2-аминоаденин, 6-метил и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-пропил и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-тиоурацил, 2-тиотимин и 2-тиоцитозин, 5-галоурацил и цитозин, 5-пропинилурацил и цитозин, 6-азоурацил, цитозин и тимин, 5-урацил (псевдоурацил), 4-тиоурацил, 8-гало, 8-амино, 8-тиол, 8-тиоалкил, 8-гидроксил и другие 8-замещенные аденины и гуанины, 5-гало, в частности, 5-бром, 5-трифторметил и другие 5-замещенные урацилы и цитозины, 7-метилгуанин и 7-метиладенин, 8-азагуанин и 8-азааденин, 7-деазагуанин и 7-дезааденин, и 3-деазагуанин и 3-дезааденин. Дополнительные нуклеиновые основания включают основания, описанные в Патенте США No. 3687808, основания, описанные в *Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine*, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008; основания, описанные в *The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering*, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990, основания, описанные в *Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613, и основания, описанные в *Sanghvi, Y S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications*, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993. Некоторые из этих нуклеиновых оснований являются особенно полезными для увеличения аффинности связывания олигомерных соединений, признаки которых раскрыты по настоящему изобретению. Они включают 5-замещенные пиримидины, 6-азапиримидины и N-2, N-6 и 0-6-замещенные пурины, включая 2-аминопропиладенин, 5-пропинилурацил и 5-пропинилцитозин. Показано, что 5-метилцитозинового замены увеличивают стабильность дуплекса нуклеиновой кислоты на 0,6-1,2°C (Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., *dsRNA Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278) и представляют собой иллюстративные замены оснований, даже более конкретно, в сочетании с 2'-О-метоксиэтильными модификациями сахаров.

Репрезентативные Патенты США, в которых объяснено получение конкретных из вышеуказанных модифицированных нуклеиновых оснований, так же как других модифицированных нуклеиновых оснований, включают, но без ограничения, вышеуказанные Патенты США No. 3687808, 4845205; 5,130,30; 5134066; 5175273; 5367066; 5432272; 5457187; 5459255; 5484908; 5502177; 5525711; 5552540; 5587469; 5594121; 5596091; 5614617; 5681941; 5750692; 6015886; 6147200; 6166197; 6222025; 6235887; 6380368; 6528640; 6639062; 6617438; 7045610; 7427672; и 7495088, полное содержание каждого из которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

В некоторых вариантах осуществления, средство на основе иРНК по настоящему изобретению можно также модифицировать для включения одной или нескольких

бициклических сахарных групп. «Бициклический сахар» представляет собой фуранозильное кольцо, модифицированное посредством соединения мостиком двух атомов. «Бициклический сахар» представляет собой фуранозильное кольцо, модифицированное посредством кольца, сформированного посредством соединения мостиком двух атомов углерода, независимо от того, соседние это или не соседние атомы. «Бициклической нуклеозид» («BNA») представляет собой нуклеозид, имеющий группу сахара, содержащую мостик, кольцо, сформированное посредством соединения мостиком, соединяющего два атома углерода, независимо от того, соседние это или не соседние атомы сахарного кольца, таким образом, формируя бициклическую кольцевую систему. В конкретных вариантах осуществления, мостик соединяет 4'-углерод и 2'-углерод сахарного кольца, необязательно, посредством ациклических 2'-атомов кислорода. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления, средство по настоящему изобретению может включать одну или несколько запертых нуклеиновых кислот (LNA). Запертая нуклеиновая кислота представляет собой нуклеотид, имеющей модифицированную рибозную группу, в которой рибозная группа содержит дополнительный мостик, соединяющий 2'- и 4'-атомы углерода. Иными словами, LNA представляет собой нуклеотид, содержащий группу бициклического сахара, содержащую 4'-CH₂-O-2'-мостик. Эта структура эффективно «запирает» рибозу в 3'-эндо-структурной конформации. Добавление запертых нуклеиновых кислот к миРНК, как показано, увеличивает стабильность миРНК в сыворотке и уменьшает нецелевые эффекты (Elmen, J. *et al.*, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193). Примеры бициклических нуклеозидов для использования в полинуклеотидах по настоящему изобретению включают, без ограничения, нуклеозиды, содержащие мостик между 4'- и 2'-атомами рибозильного кольца. В конкретных вариантах осуществления, антисмысловые полинуклеотидные средства по настоящему изобретению включают один или несколько бициклических нуклеозидов, содержащих 4'-2'-мостик.

Запертый нуклеозид может быть представлен посредством структуры (опуская стереохимию)



где В представляет собой нуклеиновое основание или модифицированное нуклеиновое основание, и L представляет собой связывающую группу, которая соединяет 2'-углерод с 4'-углеродом рибозного кольца.

Примеры таких соединенных 4'-2'-мостиками бициклических нуклеозидов, включают, но без ограничения 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' (также обозначено как «конформационно ограниченный этил» или «сEt») и

4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (и их аналоги; см., например, Патент США No. 7399845); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (и их аналоги; см., например, Патент США No. 8278283); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (и их аналоги; см., например, Патент США No. 8278425); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (см., например, Публикацию патента США No. 2004/0171570); 4'-CH₂-N(R)-O-2', где R представляет собой H, C1-C12 алкил или защитную группу азота (см., например, Патент США No. 7427672); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (см., например, Chattopadhyaya *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134); и 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' (и их аналоги; см., например, Патент США No. 8278426). Полное содержание каждого из вышеуказанных, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

Дополнительные репрезентативные Патенты США и Публикации патентов США, в которых объяснено получение нуклеотидов запертых нуклеиновых кислот, включают, но без ограничения, следующие: Патенты США No. 6268490; 6525191; 6670461; 6770748; 6794499; 6998484; 7053207; 7034133; 7084125; 7399845; 7427672; 7569686; 7741457; 8022193; 8030467; 8278425; 8278426; 8278283; US 2008/0039618; и US 2009/0012281, полное содержание каждого из которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

Можно получать любой из вышеуказанных бициклических нуклеозидов, имеющих одну или несколько стереохимических конфигураций сахара, включая например, α -L-рибофуранозу и β -D-рибофуранозу (см. WO 99/14226).

Средство на основе иРНК по настоящему изобретению можно также модифицировать для включения одного или нескольких конформационно ограниченных этилом нуклеотидов. В рамках изобретения, «конформационно ограниченный этилом нуклеотид» или «сEt» представляет собой запертую нуклеиновую кислоту, содержащую бициклическую группу сахара, содержащую 4'-CH(CH₃)-O-2' мостик (т.е., L в предшествующей структуре). В одном варианте осуществления, конформационно ограниченный этилом нуклеотид находится в S-конформации, обозначенной в настоящем описании как «S-cEt».

иРНК по настоящему изобретению может также включать один или несколько «конформационно ограниченных нуклеотидов» («CRN»). CRN представляют собой аналоги нуклеотидов с линкером, соединяющим C2'- и C4'-атомы углерода рибозы или C3'- и C5'-атомы углерода рибозы. CRN запирает рибозное кольцо в стабильной конформации и увеличивает аффинность гибридизации с мРНК. Линкер имеет достаточную длину для помещения кислорода в оптимальное положение для стабильности и аффинности, приводящее к меньшему отклонению от плоскости рибозного кольца.

Репрезентативные публикации, в которых объяснено получение конкретных из вышеуказанных CRN, включают, но без ограничения, US2013/0190383; и WO2013/036868, полное содержание каждого из которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

В некоторых вариантах осуществления, иРНК по настоящему изобретению содержит один или несколько мономеров, представляющих собой нуклеотиды UNA

(незапертой нуклеиновой кислоты). UNA представляет собой незапертую ациклическую нуклеиновую кислоту, где какая-либо из связей сахара удалена с образованием незапертого «сахарного» остатка. В одном примере, UNA также включает мономер с удаленными связями между C1'-C4' (т.е., ковалентной углерод-кислород-углеродной связью между C1'-и C4'-атомами углерода). В другом примере, связь C2'-C3' (т.е. ковалентная углерод-углеродная связь между C2' и C3'-атомами углерода) сахара удалена (см. *Nuc. Acids Symp. Series*, 52, 133-134 (2008) и *Fluiter et al., Mol. Biosyst.*, 2009, 10, 1039 содержание которых, таким образом, приведено путем ссылки).

Репрезентативные Патентные публикации США, в которых объяснено получение UNA, включают, но без ограничения, US8314227; и US2013/0096289; US2013/0011922; и US2011/0313020, полное содержание каждого из которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

Потенциально стабилизирующие модификации на концах молекул РНК могут включать N-(ацетиламинокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-ННAc), N-(капроил-4-гидроксипролинол (Нур-С6), N-(ацетил-4-гидроксипролинол (Нур-ННAc), тимидин-2'-О-дезокситимидин (эфир), N-(аминокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-амино), 2'-докозаноилуридин-3'-фосфат, инвертированный 2'-дезоксидифицированный рибонуклеотид, такой как инвертированный dT (idT), инвертированный dA (idA) и инвертированный лишенный азотистого основания 2'-дезоксирибонуклеотид (iAb), и другие. Описание этой модификации можно обнаружить в WO 2011/005861.

В одном примере, 3'- или 5'-конец олигонуклеотида связан с инвертированным 2'-дезоксидифицированным рибонуклеотидом, таким как инвертированный dT(idT), инвертированный dA (idA) или инвертированный лишенный азотистого основания 2'-дезоксирибонуклеотид (iAb). В одном конкретном примере, инвертированный 2'-дезоксидифицированный рибонуклеотид связан с 3'-концом олигонуклеотида, таким как 3'-конец смысловой цепи, описанной в настоящем описании, где связывание происходит посредством 3'-3'-фосфодиэфирной связи или 3'-3'-фосфоротиоатной связи.

В другом примере, 3'-конец смысловой цепи связан посредством 3'-3'-фосфоротиоатной связи с инвертированным лишенным азотистого основания рибонуклеотидом (iAb). В другом примере, 3'-конец смысловой цепи связан посредством 3'-3'-фосфоротиоатной связи с инвертированным dA (idA).

В одном конкретном примере, инвертированный 2'-дезоксидифицированный рибонуклеотид связан с 3'-концом олигонуклеотида, таким как 3'-конец смысловой цепи, описанной в настоящем описании, где связывание происходит посредством 3'-3'-фосфодиэфирной связи или 3'-3'-фосфоротиоатной связи.

В другом примере, 3'-концевой нуклеотид смысловой цепи представляет собой инвертированный dA (idA) и связан с предшествующим нуклеотидом посредством 3'-3'-связи (например, 3'-3'-фосфоротиоатной связи).

Другие модификации нуклеотидов из иРНК по настоящему изобретению включают 5'-фосфат или миметик 5'-фосфата, например, 5'-концевой фосфат или миметик фосфата в

антисмысловой цепи иРНК. Пригодные миметики фосфата описаны, например, в US2012/0157511, полное содержание которого приведено в настоящем описании путем ссылки.

А. Модифицированные иРНК, содержащие мотивы по настоящему изобретению

В конкретных аспектах настоящего изобретения, средства на основе двухцепочечной РНК по настоящему изобретению включают средства с химическими модификациями, как описано, например, в WO2013/075035, полное содержание которого приведено в настоящем описании путем ссылки. Как показано в настоящем описании и в WO2013/075035, один или несколько мотивов из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах можно вводить в смысловую цепь или антисмысловую цепь средства на основе дцРНКи, в частности, в участке или около участка расщепления. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь и антисмысловая цепь средства на основе дцРНКи могут в ином случае являться полностью модифицированными. Введение этих мотивов прерывает паттерн модификации, если он присутствует, смысловой или антисмысловой цепи. Средство на основе дцРНКи можно, необязательно, конъюгировать с лигандом - производным GalNAc, например, в смысловой цепи.

Более конкретно, когда смысловая цепь и антисмысловая цепь средства на основе двухцепочечной РНК являются полностью модифицированными для наличия одного или нескольких мотивов из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах в участке или около участка расщепления по меньшей мере одной цепи средства на основе дцРНКи, наблюдали активность сайленсинга гена средства на основе дцРНКи.

Соответственно, настоящее изобретение относится к средствам на основе двухцепочечной РНК, способным к ингибированию экспрессии гена-мишени (т.е., гена CFV) *in vivo*. Средство для РНКи содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь. Каждая цепь средства для РНКи может иметь длину, например, 17-30 нуклеотидов, длину 25-30 нуклеотидов, длину 27-30 нуклеотидов, длину 19-25 нуклеотидов, длину 19-23 нуклеотида, длину 19-21 нуклеотид, длину 21-25 нуклеотидов или длину 21-23 нуклеотида.

Смысловая цепь и антисмысловая цепь как правило, формируют дуплекс двухцепочечной РНК («дцРНК»), также обозначенный в настоящем описании как «средство на основе дцРНКи». Область дуплекса средства на основе дцРНКи может представлять собой, например, область дуплекса, которая может иметь длину 27-30 пар нуклеотидов, длину 19-25 пар нуклеотидов, длину 19-23 пары нуклеотидов, длину 19-21 пара нуклеотидов, длину 21-25 пар нуклеотидов или длину 21-23 пары нуклеотидов. В другом примере, область дуплекса выбрана из длины 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 и 27 нуклеотидов.

В конкретных вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи может содержать одну или несколько областей выступающих концов или кэпирующих групп на 3'-конце, 5'-конце или обоих концах одной или обеих цепей. Выступающий конец может, независимо, иметь длину 1-6 нуклеотидов, например, длину 2-6 нуклеотидов, длину 1-5

нуклеотидов, длину 2-5 нуклеотидов, длину 1-4 нуклеотидов, длину 2-4 нуклеотида, длину 1-3 нуклеотида, длину 2-3 нуклеотида или длину 1-2 нуклеотида. В конкретных вариантах осуществления, области выступающих концов могут включать удлиненные области выступающих концов, как представлено выше. Выступающие концы могут являться результатом того, что одна цепь длиннее другой, или результатом того, что две цепи одинаковой длины смещены. Выступающий конец может формировать несоответствие мРНК-мишени, или он может являться комплементарным последовательностям генов, подвергаемых нацеливанию, или может представлять собой другую последовательность. Первая и вторая цепи могут также являться соединенными, например, посредством дополнительных оснований, с формированием шпильки, или посредством других не содержащих оснований линкеров.

В конкретных вариантах осуществления, каждый из нуклеотидов в области выступающего конца средства на основе дцРНКи может независимо представлять собой модифицированный или немодифицированный нуклеотид, включая, но без ограничения модифицированный по 2'-сахару, такой как 2'-F, 2'-O-метил, тимидин (Т), 2'-O-метоксиэтил-5-метилуридин (Тео), 2'-O-метоксиэтиладенозин (Аео), 2'-O-метоксиэтил-5-метилцитидин (m5Сео) и любые их комбинации.

Например, ТТ может представлять собой последовательность выступающего конца для любого конца в любой цепи. Выступающий конец может формировать несоответствие мРНК-мишени, или он может являться комплементарным последовательностям генов, подвергаемых нацеливанию, или может представлять собой другую последовательность.

5'- или 3'-выступающие концы в смысловой цепи, антисмысловой цепи, или обеих цепях средства на основе дцРНКи могут являться фосфорилированными. В некоторых вариантах осуществления, область(и) выступающего конца содержит два нуклеотида, имеющие фосфоротиоат между двумя нуклеотидами, где два нуклеотида могут являться одинаковыми или различными. В некоторых вариантах осуществления, выступающий конец присутствует на 3'-конце смысловой цепи, антисмысловой цепи или обеих цепей. В некоторых вариантах осуществления, этот 3'-выступающий конец присутствует в антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, этот 3'-выступающий конец присутствует в смысловой цепи.

Средство для РНКи может содержать только один выступающий конец, который может усиливать активность интерференции РНКи, не влияя на ее общую стабильность. Например, одноцепочечный выступающий конец может быть локализован на 3'-конце смысловой цепи или, альтернативно, на 3'-конце антисмысловой цепи. РНКи может также иметь тупой конец, локализованный на 5'-конце антисмысловой цепи (т.е., 3'-конце смысловой цепи) или наоборот. Как правило, антисмысловая цепь средства на основе дцРНКи имеет нуклеотидный выступающий конец на 3'-конце, и 5'-конец является тупым. Без желания быть связанными теорией, асимметричный тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи и 3'-конец выступающий конец антисмысловой цепи благоприятствуют вхождению направляющей цепи в процесс RISC.

В конкретных вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи является имеющим двойные тупые концы, длиной 19 нуклеотидов, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций в трех последовательных нуклеотидах в положениях 7, 8 и 9 от 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил-модификаций в трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 от 5'-конца.

В других вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи является имеющим двойные тупые концы, длиной 20 нуклеотидов, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций в трех последовательных нуклеотидах в положениях 8, 9 и 10 от 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил-модификаций в трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 от 5'-конца.

В других вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи является имеющим двойные тупые концы, длиной 21 нуклеотид, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций в трех последовательных нуклеотидах в положениях 9, 10 и 11 от 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил-модификаций в трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 от 5'-конца.

В конкретных вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи содержит 21-нуклеотидную смысловую цепь и 23-нуклеотидную антисмысловую цепь, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций в трех последовательных нуклеотидах в положениях 9, 10 и 11 от 5'-конца; антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метил-модификаций в трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 от 5'-конца, где один конец средства для РНКи является тупым, в то время как другой конец содержит двухнуклеотидный выступающий конец. В одном варианте осуществления, двухнуклеотидный выступающий конец присутствует на 3'-конце антисмысловой цепи.

Когда двухнуклеотидный выступающий конец присутствует на 3'-конце антисмысловой цепи, могут присутствовать две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами, где два из трех нуклеотидов представляют собой нуклеотиды выступающего конца, и третий нуклеотид представляет собой спаренный нуклеотид, следующий от нуклеотида выступающего конца. В одном варианте осуществления, средство для РНКи, кроме того, имеет две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами как на 5'-конце смысловой цепи, так и на 5'-конце антисмысловой цепи. В конкретных вариантах осуществления, каждый нуклеотид в смысловой цепи и антисмысловой цепи средства на основе дцРНКи, включая нуклеотиды, являющиеся частью мотивов, представляют собой модифицированные нуклеотиды. В конкретных вариантах осуществления каждый остаток независимо является модифицированным с использованием 2'-О-метила или 2'-фтора,

например, в чередующемся мотиве. Необязательно, средство на основе дцРНКи дополнительно содержит лиганд (такой как GalNAc).

В конкретных вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи содержит смысловую и антисмысловую цепь, где смысловая цепь имеет длину 25-30 нуклеотидных остатков, где, начиная с 5'-концевого нуклеотида (положение 1), положения 1-23 первой цепи содержат по меньшей мере 8 рибонуклеотидов; антисмысловая цепь имеет длину 36-66 нуклеотидных остатков и, начиная с 3'-концевого нуклеотида, содержит по меньшей мере 8 рибонуклеотидов в положениях, спаренных с положениями 1-23 смысловой цепи, для формирования дуплекса; где по меньшей мере 3'-концевой нуклеотид антисмысловой цепи является неспаренным со смысловой цепью, и вплоть до 6 последовательных 3'-концевых нуклеотидов являются неспаренными со смысловой цепью, таким образом, формируя 3' одноцепочечный выступающий конец из 1-6 нуклеотидов; где 5'-конец антисмысловой цепи содержит от 10 до 30 последовательных нуклеотидов, которые являются неспаренными со смысловой цепью, таким образом, формируя 10-30-нуклеотидный одноцепочечный 5'-выступающий конец; где по меньшей мере 5'-концевые и 3'-концевые нуклеотиды смысловой цепи образуют пары оснований с нуклеотидами антисмысловой цепи, когда смысловая и антисмысловая цепи выровнены для максимальной комплементарности, таким образом, формируя в основном дуплексную область между смысловой и антисмысловой цепями; и антисмысловая цепь является достаточно комплементарной РНК-мишени на протяжении длины по меньшей мере 19 рибонуклеотидов антисмысловой цепи, чтобы уменьшать экспрессию гена-мишени, когда двухцепочечную нуклеиновую кислоту вводят в клетку млекопитающего; и где смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций в трех последовательных нуклеотидах, где по меньшей мере один из мотивов встречается в участке или около участка расщепления. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-O-метил-модификаций в трех последовательных нуклеотидах в участке или около участка расщепления.

В конкретных вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи содержит смысловые и антисмысловые цепи, где средство на основе дцРНКи содержит первую цепь, имеющую длину, которая составляет по меньшей мере 25 и самое большее, 29 нуклеотидов, и вторую цепь, имеющую длину, которая составляет, самое большее, 30 нуклеотидов, с по меньшей мере одним мотивом из трех 2'-O-метил-модификаций в трех последовательных нуклеотидах в положении 11, 12 и 13 от 5'-конца; где 3'-конец первой цепи и 5'-конец второй цепи формируют тупой конец, и вторая цепь является на 1-4 нуклеотидов длиннее на своем 3'-конце, чем первая цепь, где область дуплекса, имеет длину по меньшей мере 25 нуклеотидов, и вторая цепь является достаточно комплементарной мРНК-мишени на протяжении длины по меньшей мере 19 нуклеотидов второй цепи, чтобы уменьшать экспрессию гена-мишени, когда средство для РНКи вводят в клетку млекопитающего, и где расщепление посредством Dicer средства на основе дцРНКи приводит к образованию миРНК, содержащей 3'-конец второй цепи, таким образом, уменьшению экспрессию гена-

мишени у млекопитающего. Необязательно, средство на основе дцРНКи дополнительно содержит лиганд.

В конкретных вариантах осуществления, смысловая цепь средства на основе дцРНКи содержит по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах, где один из мотивов встречается в участке расщепления в смысловой цепи.

В конкретных вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства на основе дцРНКи может также содержать по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах, где один из мотивов встречается в участке или около участка расщепления в антисмысловой цепи.

Для средства на основе дцРНКи, имеющего область дуплекса длиной 19-23 нуклеотида, участок расщепления антисмысловой цепи присутствует, как правило, около 10, 11 и 12 положений от 5'-конца. Таким образом мотивы из трех идентичных модификаций могут встречаться в положениях 9, 10 и 11; положениях 10, 11 и 12; положениях 11, 12 и 13; положениях 12, 13 и 14; или положениях 13, 14 и 15 антисмысловой цепи, начиная счет с первого нуклеотида от 5'-конца антисмысловой цепи, или начиная счет с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса от 5'-конца антисмысловой цепи. Участок расщепления в антисмысловой цепи может также изменяться, в соответствии с длиной области дуплекса средства на основе дцРНКи от 5'-конца.

Смысловая цепь средства на основе дцРНКи может содержать по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах в участке расщепления цепи; и антисмысловая цепь может иметь по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах в участке или около участка расщепления цепи. Когда смысловая цепь и антисмысловая цепь формируют дцРНК дуплекс, смысловая цепь и антисмысловая цепь могут являться выровненными таким образом, что один мотив из трех нуклеотидов на смысловой цепи и один мотив из трех нуклеотидов на антисмысловой цепи имеют перекрывание по меньшей мере одного нуклеотида, т.е., по меньшей мере один из трех нуклеотидов мотива в смысловой цепи формирует пару оснований с по меньшей мере одним из трех нуклеотидов мотива в антисмысловой цепи. Альтернативно, по меньшей мере два нуклеотида могут перекрываться, или все три нуклеотида могут перекрываться.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства на основе дцРНКи может содержать более одного мотива из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах. Первый мотив может встречаться в участке или около участка расщепления цепи и другие мотивы могут представлять собой фланкирующую модификацию. Термин «фланкирующая модификация» в настоящем описании относится к мотиву, встречающемуся в другой части цепи, который отделен от мотива в участке или около участка расщепления той же самой цепи. Фланкирующая модификация либо является смежной с первым мотивом, либо отделена по меньшей мере одним или несколькими нуклеотидами. Когда мотивы являются непосредственно смежными друг с другом, тогда

химические структуры мотивов отличаются друг от друга, и когда мотивы разделены одним или несколькими нуклеотидами, тогда химические структуры могут являться одинаковыми или различными. Могут присутствовать две или более фланкирующие модификации. Например, когда присутствуют две фланкирующие модификации, каждая фланкирующая модификация может встречаться на одном конце относительно первого мотива, который находится в участке или около участка расщепления, или на каждой стороне от главного мотива.

Подобно смысловой цепи, антисмысловая цепь средства на основе дцРНКи может содержать более одного мотива из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах, где по меньшей мере один из мотивов встречается в участке или около участка расщепления цепи. Эта антисмысловая цепь может также содержать одну или несколько фланкирующих модификаций, при выравнивании подобных фланкирующим модификациям, которые могут присутствовать на смысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, фланкирующая модификация в смысловой цепи или антисмысловой цепи средства на основе дцРНКи, как правило, не включает первые один или два концевых нуклеотида на 3'-конце, 5'-конце или обоих концах цепи.

В других вариантах осуществления, фланкирующая модификация в смысловой цепи или антисмысловой цепи средства на основе дцРНКи как правило, не включает первые один или два спаренных нуклеотида в области дуплекса на 3'-конце, 5'-конце или обоих концах цепи.

Когда каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи средства на основе дцРНКи содержит по меньшей мере одну фланкирующую модификацию, фланкирующие модификации могут попадать на один и тот же конец области дуплекса и иметь перекрывание одного, двух или трех нуклеотидов.

Когда каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи средства на основе дцРНКи содержит по меньшей мере две фланкирующие модификации, смысловая цепь и антисмысловая цепь могут быть выровнены таким образом, что две модификации, каждая из одной цепи, попадают на один конец области дуплекса, с перекрыванием одного, двух или трех нуклеотидов; две модификации, каждая из одной цепи, попадают на другой конец области дуплекса, с перекрыванием одного, двух или трех нуклеотидов; две модификации одной цепи попадают с каждой стороны от главного мотива, с перекрыванием одного, двух или трех нуклеотидов в области дуплекса.

В некоторых вариантах осуществления, каждый нуклеотид в смысловой цепи и антисмысловой цепи средства на основе дцРНКи, включая нуклеотиды, которые являются частью мотивов, может являться модифицированным. Каждый нуклеотид может являться модифицированным с использованием одинаковой или различной модификации, которые могут включать одно или несколько изменений одного или обоих атомов кислорода не образующего связь фосфата или одного или нескольких атомов кислорода образующего связь фосфата; изменение составляющего рибозного сахара, например, 2'-гидроксила на рибозном сахаре; полную замену фосфатной группы «дефосфо»-линкерами; модификацию

или замену встречающегося в природе основания; и замену или модификацию рибозо-фосфатного остова.

Поскольку нуклеиновые кислоты представляют собой полимеры из субъединиц, многие из модификаций встречаются в положении, которое повторяется в нуклеиновой кислоте, например, модификация основания или фосфатной группы, или не образующего связь О фосфатной группы. В некоторых случаях, модификация встречается во всех рассматриваемых положениях в нуклеиновой кислоте, но во многих случаях не встречается. В качестве примера, модификация может встречаться только в 3'- или 5'-концевом положении, может встречаться только в концевой области, например, в положении в концевом нуклеотиде или в последних 2, 3, 4, 5 или 10 нуклеотидах цепи. Модификация может встречаться в двухцепочечной области, одноцепочечной области, или в обеих. Модификация может встречаться только в двухцепочечной области РНК или может встречаться только в одноцепочечной области РНК. Например, фосфоротиоатная модификация в положении не образующего связь О может встречаться только на одном или обоих концах, может встречаться только в концевой области, например, в положении в концевом нуклеотиде или в последних 2, 3, 4, 5, или 10 нуклеотидах цепи, или может встречаться в одноцепочечных и одноцепочечных областях, в частности, на концах. 5'-конец или концы могут являться фосфорилированными.

Может являться возможным, например, для улучшения стабильности, включать конкретные основания в выступающие концы, или включать модифицированные нуклеотиды или суррогаты нуклеотидов, в одноцепочечные выступающие концы, например, в 5'- или 3'-выступающий конец, или в оба. Например, может являться желательным включать пуриновые нуклеотиды в выступающие концы. В некоторых вариантах осуществления, все или некоторые из оснований в 3'- или 5'-выступающем конце могут являться модифицированными, например, с использованием модификации, описанной в настоящем описании. Модификации могут включать, например, использование модификаций в 2'-положении рибозного сахара с модификациями, которые известны в данной области, например, использование дезоксирибонуклеотидов, 2'-дезоксидезокси-2'-фтор- (2'-F) или 2'-О-метил-модифицированных, вместо рибозного сахара нуклеинового основания, и модификаций в фосфатной группе, например, фосфоротиоатных модификаций. Выступающие концы необязательно должны являться гомологичными последовательности-мишени.

В некоторых вариантах осуществления, каждый остаток смысловой цепи и антисмысловой цепи независимо является модифицированным с использованием LNA, CRN, cET, UNA, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтила, 2'-О-метила, 2'-О-аллила, 2'-С-аллила, 2'-дезоксидезокси, 2'-гидроксила или 2'-фтора. Цепи могут содержать более одной модификации. В одном варианте осуществления, каждый остаток смысловой цепи и антисмысловой цепи независимо является модифицированным с использованием 2'-О-метила или 2'-фтора.

По меньшей мере две различные модификации, как правило, присутствуют в смысловой цепи и антисмысловой цепи. Эти две модификации могут представлять собой 2'-О-метил- или 2'-фтор-модификации, или другие.

В конкретных вариантах осуществления, N_a или N_b содержат модификации чередующегося паттерна. Термин «чередующийся мотив», в рамках изобретения, относится к мотиву, имеющему одну или несколько модификаций, где каждая модификация встречается в чередующихся нуклеотидах одной цепи. Чередующийся нуклеотид может относиться к каждому второму нуклеотиду или к каждому третьему нуклеотиду, или к сходному паттерну. Например, если каждый из А, В и С представляет один тип модификации нуклеотида, чередующийся мотив может представлять собой «АВАВАВАВАВАВ...», «ААВВААВВААВВ...», «ААВААВААВААВ...», «АААВВАААВВВ...» или «АВСАВСАВСАВС...» и т. д.

Тип модификаций, содержащихся в чередующемся мотиве, может является одинаковым или различным. Например, если каждый из А, В, С, D представляет один тип модификации нуклеотида, чередующиеся паттерны, т.е., модификации каждого второго нуклеотида, могут являться одинаковыми, но каждая из смысловой цепи или антисмысловой цепи может быть выбрана из нескольких возможных модификаций в чередующемся мотиве, таких как «АВАВАВ...», «АСАСАС...» «ВДВДВД...» или «СДСДСД...» и т. д.

В некоторых вариантах осуществления, средство на основе дцРНК по настоящему изобретению содержит паттерн модификаций для чередующегося мотива в смысловой цепи, сдвинутый относительно паттерна модификации для чередующегося мотива в антисмысловой цепи. Сдвиг может быть таким, что модифицированная группа нуклеотидов смысловой цепи соответствует модифицированной другим способом группе нуклеотидов антисмысловой цепи, и наоборот. Например, при спаривании смысловой цепи с антисмысловой цепью в дуплексе дцРНК, чередующийся мотив в смысловой цепи может начинаться с «АВАВАВ» от 5'- к 3'-концу цепи, и чередующийся мотив в антисмысловой цепи может начинаться с «ВАВАВА» от 5'- к 3'-концу цепи в области дуплекса. В качестве другого примера, чередующийся мотив в смысловой цепи может начинаться с «ААВВААВВ» от 5'- к 3'-концу цепи, и чередующийся мотив в антисмысловой цепи может начинаться с «ВВААВВАА» от 5'- к 3'-концу цепи в области дуплекса, так что присутствует полный или частичный сдвиг паттернов модификаций между смысловой цепью и антисмысловой цепью.

В одном конкретном примере, чередующийся мотив в смысловой цепи представляет собой «АВАВАВ» от 5'- к 3'-концу цепи, где каждый А представляет собой немодифицированный рибонуклеотид, и каждый В представляет собой 2'-О-метил-модифицированный нуклеотид.

В одном конкретном примере, чередующийся мотив в смысловой цепи представляет собой «АВАВАВ» от 5'- к 3'-концу цепи, где каждый А представляет собой 2'-дезокси-2'-

фтор-модифицированный нуклеотид, и каждый В представляет собой 2'-О-метил-модифицированный нуклеотид.

В другом конкретном примере, чередующийся мотив в антисмысловой цепи представляет собой «ВАВАВА» от 3'- к 5'-концу цепи, где каждый А представляет собой 2'-дезоксид-2'-фтор-модифицированный нуклеотид, и каждый В представляет собой 2'-О-метил-модифицированный нуклеотид.

В одном конкретном примере, чередующийся мотив в смысловой цепи представляет собой «АВАВАВ» от 5'- к 3'-концу цепи, и чередующийся мотив в антисмысловой цепи представляет собой «ВАВАВА» от 3'- к 5'-концу цепи, где каждый А представляет собой немодифицированный рибонуклеотид, и каждый В представляет собой 2'-О-метил-модифицированный нуклеотид.

В одном конкретном примере, чередующийся мотив в смысловой цепи представляет собой «АВАВАВ» от 5'- к 3'-концу цепи, и чередующийся мотив в антисмысловой цепи представляет собой «ВАВАВА» от 3'- к 5'-концу цепи, где каждый А представляет собой 2'-дезоксид-2'-фтор-модифицированный нуклеотид, и каждый В представляет собой 2'-О-метил-модифицированный нуклеотид.

В некоторых вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи содержит паттерн чередующегося мотива из 2'-О-метил-модификации и 2'-F-модификации на смысловой цепи, первоначально имеющий сдвиг, относительно паттерна чередующегося мотива из 2'-О-метил-модификации и 2'-F-модификации в антисмысловой цепи, т.е., 2'-О-метил-модифицированный нуклеотид в смысловой цепи образует пару оснований с 2'-F-модифицированным нуклеотидом в антисмысловой цепи, и наоборот. Положение 1 смысловой цепи может начинаться с 2'-F-модификации, и положение 1 антисмысловой цепи может начинаться с 2'-О-метил-модификации.

Введение одного или нескольких мотивов из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах в смысловую цепь или антисмысловую цепь прерывает исходный паттерн модификаций, присутствующий в смысловой цепи или антисмысловой цепи. Это прерывание паттерна модификаций смысловой или антисмысловой цепи посредством введения одного или нескольких мотивов из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах в смысловую или антисмысловую цепь может усиливать активность сайленсинга гена против гена-мишени.

В некоторых вариантах осуществления, когда мотив из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах вводят в любую из цепей, модификация нуклеотида, следующего за мотивом, представляет собой модификацию, отличную от модификации мотива. Например, часть последовательности, содержащей мотив, представляет собой «...N_aYYYN_b...», где «Y» представляет модификацию мотива из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах, и «N_a» и «N_b» представляют модификацию нуклеотида, следующего за мотивом «YYY», которая отличается от модификации Y, и где N_a и N_b могут представлять собой одинаковые или

различные модификации. Альтернативно, N_a или N_b могут присутствовать или отсутствовать, когда присутствует фланкирующая модификация.

иРНК может дополнительно содержать по меньшей мере одну фосфоротиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь. Модификация фосфоротиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи может встречаться у любого нуклеотида смысловой цепи, антисмысловой цепи или обеих цепей в любом положении цепи. Например, модификация межнуклеотидной связи может встречаться у каждого нуклеотида в смысловой цепи или антисмысловой цепи; каждая модификация межнуклеотидной связи может встречаться в чередующемся паттерне в смысловой цепи или антисмысловой цепи; или смысловая цепь или антисмысловая цепь могут содержать обе модификации межнуклеотидной связи в чередующемся паттерне. Чередующийся паттерн модификаций межнуклеотидной связи в смысловой цепи может являться одинаковым или отличным от антисмысловой цепи, и чередующийся паттерн модификаций межнуклеотидной связи в смысловой цепи может иметь сдвиг относительно чередующегося паттерна модификаций межнуклеотидной связи в антисмысловой цепи. В одном варианте осуществления, двухцепочечное средство для РНКи содержит 6-8 фосфоротиоатных межнуклеотидных связей. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь содержит две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи на 5'-конце и две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи на 3'-конце, и смысловая цепь содержит по меньшей мере две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи либо на 5'-конце, либо на 3'-конце.

В некоторых вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи содержит модификацию фосфоротиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи в области выступающего конца. Например, область выступающего конца может содержать два нуклеотида с фосфоротиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связью между двумя нуклеотидами. Модификации межнуклеотидной связи также можно осуществлять для связывания нуклеотидов выступающего конца с концевыми спаренными нуклеотидами в области дуплекса. Например, по меньшей мере 2, 3, 4 или все нуклеотиды выступающего конца могут являться связанными посредством фосфоротиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи, и необязательно, могут присутствовать дополнительные фосфоротиоатные или метилфосфонатные межнуклеотидные связи, связывающие нуклеотид выступающего конца со спаренным нуклеотидом, следующим за нуклеотидом выступающего конца. Например, могут присутствовать по меньшей мере две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами, в которых два из трех нуклеотидов представляют собой нуклеотиды выступающего конца, и третий представляет собой спаренный нуклеотид, следующим за нуклеотидом выступающего конца. Эти три концевые нуклеотида могут присутствовать на 3'-конце антисмысловой цепи, 3'-конце смысловой цепи, 5'-конце антисмысловой цепи или 5'-конце антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, 2-нуклеотидный выступающий конец присутствует на 3'-конце антисмысловой цепи, и присутствуют две фосфоротиоатные

межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами, где два из трех нуклеотидов представляют собой нуклеотиды выступающего конца, и третий нуклеотид представляет собой спаренный нуклеотид, следующий от нуклеотида выступающего конца. Необязательно, средство на основе дцРНКи может дополнительно иметь две фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами как на 5'-конце смысловой цепи, так и на 5'-конце антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления, средство на основе дцРНКи содержит несоответствие(я) мишени, в дуплексе, или их комбинации. Несоответствие может присутствовать в области выступающего конца или в области дуплекса. Пары оснований можно ранжировать на основании их предрасположенности способствовать диссоциации или плавлению (например, по свободной энергии связывания или диссоциации конкретного спаривания, где наиболее простым способом является проверка пар по отдельности для индивидуальных пар оснований, хотя также можно использовать анализ ближайшего соседа или подобный). В отношении содействия диссоциации: А:U предпочтительнее, чем G:C; G:U предпочтительнее, чем G:C; и I:C предпочтительнее, чем G:C (I=инозин). Несоответствия, например, неканонические или отличные от канонических типы спаривания (как описано в другом месте в настоящем описании), предпочтительнее, чем канонические (А:Т, А:U, G:C) типы спаривания; и типы спаривания, которые включают универсальное основание, предпочтительнее, чем канонические типы спаривания.

В конкретных вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи содержит по меньшей мере одну из первых 1, 2, 3, 4 или 5 пар оснований в областях дуплекса от 5'-конца антисмысловой цепи, независимо выбранные из группы из: А:U, G:U, I:C и несоответствующих пар, например, неканонических или отличных от канонических типов спаривания или типов спаривания, которые включают универсальное основание, чтобы способствовать диссоциации антисмысловой цепи на 5'-конце дуплекса.

В конкретных вариантах осуществления, нуклеотид в положении 1 в области дуплекса от 5'-конца в антисмысловой цепи выбран из А, dA, dU, U и dT. Альтернативно, по меньшей мере одна из первых 1, 2 или 3 пар оснований в области дуплекса от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой пару оснований AU. Например, первая пара оснований в области дуплекса от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой пару оснований AU.

В других вариантах осуществления, нуклеотид на 3'-конце смысловой цепи представляет собой дезокситимидин (dT), или нуклеотид на 3'-конце антисмысловой цепи представляет собой дезокситимидин (dT). Например, присутствует короткая последовательность дезокситимидиновых нуклеотидов, например, два нуклеотида dT на 3'-конце смысловой, антисмысловой цепи или обеих цепей.

В конкретных вариантах осуществления, последовательность смысловой цепи может быть представлена формулой (I):



где:

каждый из i и j независимо представляет собой 0 или 1;

каждый из p и q независимо представляет собой 0-6;

каждый N_a независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-25 модифицированных нуклеотидов, где каждая последовательность содержит по меньшей мере два различно модифицированных нуклеотида;

каждый N_b независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10 модифицированных нуклеотидов;

каждый из n_p и n_q независимо представляет собой нуклеотид выступающего конца; где N_b и Y не имеют одинаковую модификацию; и

каждый из XXX, YYY и ZZZ независимо представляет собой один мотив из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах. В одном варианте осуществления, YYY все представляют собой 2'-F-модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах осуществления, N_a или N_b содержит модификации чередующегося паттерна.

В некоторых вариантах осуществления, мотив YYY встречается в участке или около участка расщепления смысловой цепи. Например, когда средство на основе дцРНК имеет область дуплекса длиной 17-23 нуклеотида, мотив YYY может встречаться в участке или около участка расщепления (например: может встречаться в положениях 6, 7, 8; 7, 8, 9; 8, 9, 10; 9, 10, 11; 10, 11, 12; или 11, 12, 13) смысловой цепи, начиная счет с первого нуклеотида от 5'-конца; или, необязательно, начиная счет с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса от 5'-конца.

В одном варианте осуществления, i представляет собой 1, и j представляет собой 0, или i представляет собой 0, и j представляет собой 1, или оба i и j представляют собой 1. Смысловая цепь, таким образом, может быть представлена следующими формулами:

5' n_p - N_a -YYY- N_b -ZZZ- N_a - n_q 3' (Ib);

5' n_p - N_a -XXX- N_b -YYY- N_a - n_q 3' (Ic); или

5' n_p - N_a -XXX- N_b -YYY- N_b -ZZZ- N_a - n_q 3' (Id).

Когда смысловая цепь представлена формулой (Ib), N_b представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый N_a независимо может представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда смысловая цепь представлена формулой (Ic), N_b представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый N_a независимо может представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда смысловая цепь представлена формулой (Id), каждый N_b независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-5, 0-

4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. В одном варианте осуществления, N_b представляет собой 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Каждый N_a независимо может представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Каждый из X, Y и Z могут являться одинаковыми или отличными друг от друга.

В других вариантах осуществления, i представляет собой 0, и j представляет собой 0, и смысловая цепь может быть представлена формулой:



Когда смысловая цепь представлена формулой (Ia), каждый N_a независимо может представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

В одном варианте осуществления, последовательность антисмысловой цепи РНКи может быть представлена формулой (II):



где:

каждый из k и l независимо представляет собой 0 или 1;

каждый из p' и q' независимо представляет собой 0-6;

каждый N_a' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-25 модифицированных нуклеотидов, где каждая последовательность содержит по меньшей мере два различно модифицированных нуклеотида;

каждый N_b' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10 модифицированных нуклеотидов;

каждый из p' и q' независимо представляет собой нуклеотид выступающего конца;

где N_b' и Y' не имеют одинаковую модификацию; и

каждый из X'X'X', Y'Y'Y' и Z'Z'Z' независимо представляет собой один мотив из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах.

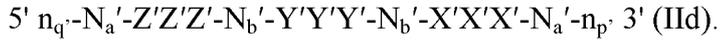
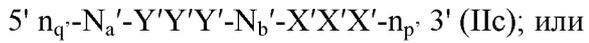
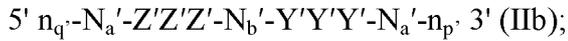
В некоторых вариантах осуществления, N_a' или N_b' содержит модификации чередующегося паттерна.

Мотив Y'Y'Y' встречается в участке или около участка расщепления антисмысловой цепи. Например, когда средство на основе дцРНКи имеет область дуплекса длиной 17-23 нуклеотида, мотив Y'Y'Y' может встречаться в положениях 9, 10, 11; 10, 11, 12; 11, 12, 13; 12, 13, 14; или 13, 14, 15 антисмысловой цепи, начиная счет с первого нуклеотида, от 5'-конца; или, необязательно, начиная счет с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса, от 5'-конца. В одном варианте осуществления, мотив Y'Y'Y' встречается в положениях 11, 12, 13.

В конкретных вариантах осуществления, мотив Y'Y'Y' все представляют собой 2'-ОМе-модифицированные нуклеотиды.

В конкретных вариантах осуществления, k представляет собой 1, и l представляет собой 0, или k представляет собой 0, и l представляет собой 1, или оба k и l представляют собой 1.

Антисмысловая цепь, таким образом, может быть представлена следующими формулами:

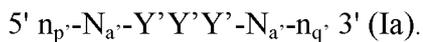


Когда антисмысловая цепь представлена формулой (IIb), N_b' представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый N_a' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда антисмысловая цепь представлена формулой (IIc), N_b' представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый N_a' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда антисмысловая цепь представлена формулой (IId), каждый N_b' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый N_a' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов. В одном варианте осуществления, N_b' представляет собой 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

В других вариантах осуществления, k представляет собой 0, и l представляет собой 0, и антисмысловая цепь может быть представлена формулой:



Когда антисмысловая цепь представлена формулой (IIa), каждый N_a' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Каждый из X' , Y' и Z' могут являться одинаковыми или отличными друг от друга.

Каждый нуклеотид смысловой цепи и антисмысловой цепи может являться независимо модифицированным с использованием LNA, CRN, UNA, cEt, гликолевой нуклеиновой кислоты (GNA), гексит-нуклеиновой кислоты (HNA), CeNA, 2'-метоксиэтила, 2'-О-метила, 2'-О-аллила, 2'-С-аллила, 2'-гидроксила или 2'-фтора. Например, каждый нуклеотид смысловой цепи и антисмысловой цепи независимо является модифицированным с использованием 2'-О-метила или 2'-фтора. Каждый X , Y , Z , X' , Y' и Z' , в частности, может представлять собой 2'-О-метил-модификацию или 2'-фтор-модификацию.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства на основе дцРНКи может содержать мотив YYY , встречающийся в положениях 9, 10 и 11 цепи, когда область дуплекса составляет 21 н., начиная счет с первого нуклеотида от 5'-конца, или, необязательно, начиная счет с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса, от 5'-конца; и Y представляет собой 2'-F-модификацию. Смысловая цепь может дополнительно содержать мотив XXX или мотивы ZZZ в качестве фланкирующих модификаций на противоположном конце области дуплекса; и каждый из XXX и ZZZ независимо представляет собой 2'-ОМе-модификацию или 2'-F-модификацию.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь может содержать мотив $Y'Y'Y'$, встречающийся в положениях 11, 12, 13 цепи, начиная счет с первого нуклеотида от 5'-конца, или, необязательно, начиная счет с первого спаренного нуклеотида в области дуплекса, от 5'-конца; и Y' представляет собой 2'-О-метил-модификацию. Антисмысловая цепь может дополнительно содержать мотив $X'X'X'$ или мотивы $Z'Z'Z'$ в качестве фланкирующих модификаций на противоположном конце области дуплекса; и каждый из $X'X'X'$ и $Z'Z'Z'$ независимо представляет собой 2'-ОМе-модификацию или 2'-F-модификацию.

Смысловая цепь, представленная любой из вышеуказанных формул (Ia), (Ib), (Ic) и (Id), формирует дуплекс с антисмысловой цепью, представленной любой из формул (IIa), (IIb), (IIc) и (IId), соответственно.

Соответственно, средства на основе дцРНКи для использования в способах по настоящему изобретению, могут содержать смысловую цепь и антисмысловую цепь, где каждая цепь имеет 14-30 нуклеотидов, где дуплекс иРНК представлен формулой (III):

смысловая: $5' n_p - N_a - (X X X)_i - N_b - Y Y Y - N_b - (Z Z Z)_j - N_a - n_q 3'$

антисмысловая: $3' n_p' - N_a' - (X' X' X')_k - N_b' - Y' Y' Y' - N_b' - (Z' Z' Z')_l - N_a' - n_q' 5'$

(III),

где:

каждый из i, j, k и l независимо представляет собой 0 или 1;

каждый из p, p', q и q' независимо представляет собой 0-6;

каждый N_a и N_a' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-25 модифицированных нуклеотидов, где каждая последовательность содержит по меньшей мере два различно модифицированных нуклеотида;

каждый N_b и N_b' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10 модифицированных нуклеотидов;

где каждый из n_p', n_p, n_q' и n_q , каждый из которых может присутствовать или отсутствовать, независимо представляет собой нуклеотид выступающего конца; и

каждый из $XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y'$ и $Z'Z'Z'$ независимо представляет собой один мотив из трех идентичных модификаций в трех последовательных нуклеотидах.

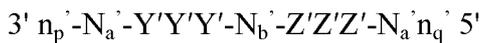
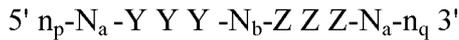
В одном варианте осуществления, i представляет собой 0, и j представляет собой 0; или i представляет собой 1, и j представляет собой 0; или i представляет собой 0, и j

представляет собой 1; или оба i и j представляют собой 0; или оба i и j представляют собой 1. В другом варианте осуществления, k представляет собой 0, и l представляет собой 0; или k представляет собой 1, и l представляет собой 0; k представляет собой 0, и l представляет собой 1; или оба k и l представляют собой 0; или оба k и l представляют собой 1.

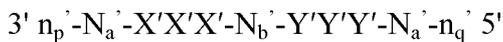
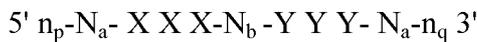
Иллюстративные комбинации смысловой цепи и антисмысловой цепи, формирующих дуплекс иРНК, включают формулы ниже:



(IIIa)



(IIIb)



(IIIc)



(III d)

Когда средство на основе дцРНК представлено формулой (IIIa), каждый N_a независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда средство на основе дцРНК представлено формулой (IIIb), каждый N_b независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 1-10, 1-7, 1-5 или 1-4 модифицированных нуклеотидов. Каждый N_a независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда средство на основе дцРНК представлено формулой (IIIc), каждый N_b , N_b' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый N_a независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Когда средство на основе дцРНК представлено формулой (III d), каждый N_b , N_b' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый N_a , N_a' независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15, или 2-10 модифицированных нуклеотидов. Каждый из N_a , N_a' , N_b и N_b' независимо содержит модификации чередующегося паттерна.

Каждый из X , Y , и Z в формулах (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (III d) могут являться одинаковыми или отличными друг от друга.

Когда средство на основе дцРНКи представлено формулой (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (IIIд), по меньшей мере один из нуклеотидов Y может формировать пару оснований с одним из нуклеотидов Y'. Альтернативно, по меньшей мере два из нуклеотидов Y формируют пары оснований с соответствующими нуклеотидами Y'; или все три из Y нуклеотиды формируют пары оснований с соответствующими нуклеотидами Y'.

Когда средство на основе дцРНКи представлено формулой (IIIb) или (IIIд), по меньшей мере один из нуклеотидов Z может формировать пару оснований с одним из нуклеотидов Z'. Альтернативно, по меньшей мере два из нуклеотидов Z формируют пары оснований с соответствующими нуклеотидами Z'; или все три из нуклеотидов Z формируют пары оснований с соответствующими нуклеотидами Z'.

Когда средство на основе дцРНКи представлено формулой (IIIc) или (IIIд), по меньшей мере один из нуклеотидов X может формировать пару оснований с одним из нуклеотидов X'. Альтернативно, по меньшей мере два из нуклеотидов X формируют пары оснований с соответствующими нуклеотидами X'; или все три из нуклеотидов X формируют пары оснований с соответствующими нуклеотидами X'.

В конкретных вариантах осуществления, модификация нуклеотида Y отличается от модификации нуклеотида Y', модификация нуклеотида Z отличается от модификации нуклеотида Z', или модификация нуклеотида X отличается от модификации нуклеотида X'.

В конкретных вариантах осуществления, когда средство на основе дцРНКи представлено формулой (IIIд), модификации N_a представляют собой 2'-О-метил или 2'-фтор-модификации. В других вариантах осуществления, когда средство для РНКи представлено формулой (IIIд), модификации N_a представляет собой 2'-О-метил- или 2'-фтор-модификации, и n_p' > 0, и по меньшей мере один n_p' связан с соседним нуклеотидом посредством фосфоротиоатной связи. В других вариантах осуществления, когда средство для РНКи представлено формулой (IIIд), модификации N_a представляют собой 2'-О-метил или 2'-фтор-модификации, n_p' > 0, и по меньшей мере один n_p' связан с соседним нуклеотидом посредством фосфоротиоатной связи, и смысловая цепь конъюгирована с одним или несколькими производными GalNAc, присоединенными посредством двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера (описанного ниже). В других вариантах осуществления, когда средство для РНКи представлено формулой (IIIд), модификации N_a представляют собой 2'-О-метил- или 2'-фтор-модификации, n_p' > 0, и по меньшей мере один n_p' связан с соседним нуклеотидом посредством фосфоротиоатной связи, смысловая цепь содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную связь, и смысловая цепь конъюгирована с одним или несколькими производными GalNAc, присоединенными посредством двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера.

В некоторых вариантах осуществления, когда средство на основе дцРНКи представлено формулой (IIIa), модификации N_a представляют собой 2'-О-метил или 2'-фтор-модификации, n_p' > 0, и по меньшей мере один n_p' связан с соседним нуклеотидом посредством фосфоротиоатной связи, смысловая цепь содержит по меньшей мере одну

фосфоротиоатную связь, и смысловая цепь конъюгирована с одним или несколькими производными GalNAc, присоединенными посредством двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера.

В некоторых вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи представляет собой мультимер, содержащий по меньшей мере два дуплекса, представленных формулой (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (IIIId), где дуплексы соединены посредством линкера. Линкер может являться расщепляемым или нерасщепляемым. Необязательно, мультимер дополнительно содержит лиганд. Каждый из дуплексов может нацеливаться на один и тот же ген или на два различных гена; или каждый из дуплексов может нацеливаться на один и тот же ген в двух различных участках-мишенях.

В некоторых вариантах осуществления, средство на основе дцРНКи представляет собой мультимер, содержащий три, четыре, пять, шесть или более дуплексов, представленных формулой (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (IIIId), где дуплексы соединены посредством линкера. Линкер может являться расщепляемым или нерасщепляемым. Необязательно, мультимер дополнительно содержит лиганд. Каждый из дуплексов может нацеливаться на один и тот же ген или два различных гена; или каждый из дуплексов может нацеливаться на один и тот же ген в двух различных участках-мишенях.

В одном варианте осуществления, два средства на основе дцРНКи, представленные по меньшей мере одной из формул (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (IIIId), связаны друг с другом на 5'-конце, и одним или обоим из 3'-концов, и, необязательно конъюгированы с лигандом. Каждое из средств может нацеливаться на один и тот же ген или два различных гена; или каждое из средств может нацеливаться на один и тот же ген в двух различных участках-мишенях.

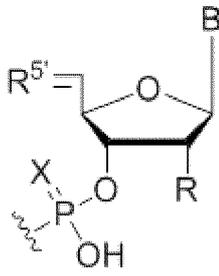
В конкретных вариантах осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению может содержать низкое количество нуклеотидов, содержащих 2'-фтор-модификацию, например, 10 или менее нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией. Например, средство для РНКи может содержать 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 или 0 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией. В конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит 10 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией, например, 4 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией в смысловой цепи и 6 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией в антисмысловой цепи. В другом конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит 6 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией, например, 4 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией в смысловой цепи и 2 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией в антисмысловой цепи.

В других вариантах осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению может содержать чрезвычайно низкое количество нуклеотидов, содержащих 2'-фтор-модификацию, например, 2 или менее нуклеотидов, содержащих 2'-фтор-модификацию. Например, средство для РНКи может содержать 2, 1 или 0 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией. В конкретном варианте осуществления, средство для РНКи может содержать 2 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией, например, 0 нуклеотидов с 2-фтор-

модификацией в смысловой цепи и 2 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией в антисмысловой цепи.

В различных публикациях описаны мультимерные иРНК, которые можно использовать в способах по настоящему изобретению. Такие публикации включают WO2007/091269, Патент США No. 7858769, WO2010/141511, WO2007/117686, WO2009/014887 и WO2011/031520, полное содержание каждого из которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

В конкретных вариантах осуществления, композиции и способы по настоящему изобретению включают винилфосфонатную (VP) модификацию средства для РНКи, как описано в настоящем описании. В иллюстративных вариантах осуществления, 5'-винилфосфонат-модифицированный нуклеотид по настоящему изобретению имеет структуру:



где X представляет собой O или S;

R представляет собой водород, гидроксильный, фтор, или C₁₋₂₀алкокси (например, метокси или н-гексадецилокси);

R^{5'} представляет собой =C(H)-P(O)(OH)₂, и двойная связь между C5' углеродом и R^{5'} находится в *E*- или *Z*-ориентации (например, *E*-ориентации); и

B представляет собой нуклеиновое основание или модифицированное нуклеиновое основание, необязательно, где B представляет собой аденин, гуанин, цитозин, тимин или урацил.

В одном варианте осуществления, R^{5'} представляет собой =C(H)-P(O)(OH)₂, и двойная связь между C5' углеродом и R^{5'} находится в *E*-ориентации. В другом варианте осуществления, R представляет собой метокси, и R^{5'} представляет собой =C(H)-P(O)(OH)₂, и двойная связь между C5' углеродом и R^{5'} находится в *E*-ориентации. В другом варианте осуществления, X представляет собой S, R представляет собой метокси, и R^{5'} представляет собой =C(H)-P(O)(OH)₂, и двойная связь между C5' углеродом и R^{5'} находится в *E*-ориентации.

Винилфосфонат по настоящему изобретению может быть присоединен либо к антисмысловой, либо к смысловой цепи дцРНК по настоящему изобретению. В конкретных вариантах осуществления, фосфонат по настоящему изобретению присоединен к антисмысловой цепи дцРНК, необязательно, на 5'-конце антисмысловой цепи дцРНК.

Винилфосфонатные модификации также предусматривают для композиций и способов по настоящему изобретению. Иллюстративная структура винилфосфоната включает предшествующую структуру, где R^{5'} представляет собой =C(H)-OP(O)(OH)₂, и

двойная связь между C5' углеродом и R5' находится в E- или Z-ориентации (например, E-ориентации).

Как более подробно описано ниже, иРНК, содержащая конъюгацию одной или нескольких углеводных групп с иРНК, может оптимизировать одно или несколько свойств иРНК. Во многих случаях, углеводная группа может быть присоединена к модифицированной субъединице иРНК. Например, рибозный сахар одной или нескольких рибонуклеотидных субъединиц иРНК можно заменять другой группой, например, отличным от углевода (например, циклическим) носителем, к которому присоединен углеводный лиганд. Рибонуклеотидная субъединица, в которой рибозный сахар субъединицы был заменен таким образом, обозначена в настоящем описании как субъединица с модификацией посредством замены рибозы (RRMS). Циклический носитель может представлять собой карбоциклическую кольцевую систему, т.е., все атомы кольца представляют собой атомы углерода, или гетероциклическую кольцевую систему, т.е., один или несколько атомов кольца может представлять собой гетероатом, например, азот, кислород, серу. Циклический носитель может представлять собой моноциклическую кольцевую систему, или может содержать два или более колец, например, конденсированных колец. Циклический носитель может представлять собой полностью насыщенную кольцевую систему, или он может содержать одну или несколько двойных связей.

Лиганд может быть присоединен к полинуклеотиду посредством носителя. Носители включают (i) по меньшей мере одну «точку присоединения к остову», например, две «точки присоединения к остову» и (ii) по меньшей мере одну «связывающую точку присоединения». «Точка присоединения к остову», в рамках изобретения, относится к функциональной группе, например, гидроксильной группе, или как правило, связи, доступной и подходящей для встраивания носителя в остов, например, фосфатный, или модифицированный фосфатный, например, содержащий серу, остов, рибонуклеиновой кислоты. «Связывающая точка присоединения» (TAP), в некоторых вариантах осуществления, относится к являющемуся составляющим кольца атому циклического носителя, например, атому углерода или гетероатому (отличному от атома, обеспечивающего точку присоединения к остову), связывающему выбранную группу. Группа может представлять собой, например, углевод, например, моносахарид, дисахарид, трисахарид, тетрасахарид, олигосахарид или полисахарид. Необязательно, выбранная группа присоединена посредством промежуточного связывающего фрагмента к циклическому носителю. Таким образом, циклический носитель может часто включать функциональную группу, например, аминогруппу, или как правило, обеспечивать связь, подходящую для встраивания или связывания другого химического объекта, например, лиганда, в состав кольца.

иРНК может являться конъюгированной с лигандом посредством носителя, где носитель может представлять собой циклическую группу или ациклическую группу. В некоторых вариантах осуществления, циклическая группа выбрана из пирролидинила,

пиразолинила, пиразолидинила, имидазолинила, имидазолидинила, пиперидинила, пиперазинила, [1,3]диоксолана, оксазолидинила, изоксазолидинила, морфолинила, тиазолидинила, изотиазолидинила, хиноксалинила, пиридазинонила, тетрагидрофурила и декалина. В некоторых вариантах осуществления, ациклическая группа представляет собой сериноловый остов или диэтаноламиновый остов.

i. Термически дестабилизирующие модификации

В конкретных вариантах осуществления, молекулу дцРНК можно оптимизировать для РНК-интерференции посредством включения термически дестабилизирующих модификаций в области затравки антисмысловой цепи. В рамках изобретения, «область затравки» означает в положениях 2-9 5'-конца упомянутой цепи или в положениях 2-8 5'-конца упомянутой цепи. Например, термически дестабилизирующие модификации можно включать в области затравки антисмысловой цепи для уменьшения или ингибирования неспецифического сайленсинга генов.

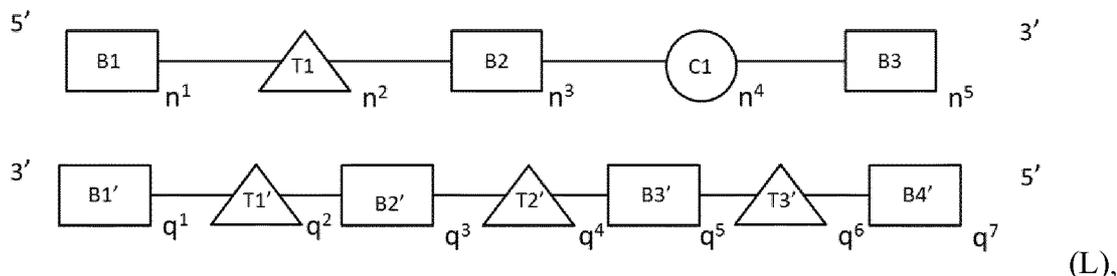
Термин «термически дестабилизирующая модификация(и)» включает модификация(и), которые могут приводить к получению дцРНК с более низкой общей температурой плавления (T_m), чем T_m дцРНК без наличия такой модификации(й). Например, термически дестабилизирующая модификация(и) может уменьшать T_m дцРНК на 1-4 °С, например, на один, два, три или четыре градуса Цельсия. И термин «термически дестабилизирующий нуклеотид» относится к нуклеотиду, содержащему одну или несколько термически дестабилизирующих модификаций.

Обнаружено, что дцРНК с антисмысловой цепью, содержащей по меньшей мере одну термически дестабилизирующую модификацию дуплекса в пределах первых 9 положений нуклеотидов, считая от 5'-конца, антисмысловой цепи, имеют уменьшенную активность неспецифического сайленсинга генов. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь содержит по меньшей мере одну (например, одну, две, три, четыре, пять или более) термически дестабилизирующую модификацию дуплекса в пределах первых 9 положений нуклеотидов 5'-области антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, одна или несколько термически дестабилизирующая модификация(и) дуплекса локализована/локализованы в положениях 2-9, например, положениях 4-8, от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых дополнительных вариантах осуществления, термически дестабилизирующая модификация(и) дуплекса локализована/локализованы в положении 6, 7 или 8 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых дополнительных вариантах осуществления, термически дестабилизирующая модификация дуплекса локализована в положении 7 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, термически дестабилизирующая модификация дуплекса локализована в положении 2, 3, 4, 5 или 9 от 5'-конца антисмысловой цепи.

Термически дестабилизирующие модификации могут включать, но без ограничения, лишённую азотистого основания модификацию; несоответствие противоположному нуклеотиду на противоположной цепи; и модификацию сахара, такую как 2'-дезоксимо модификация, ациклический нуклеотид, например, незапертые нуклеиновые кислоты

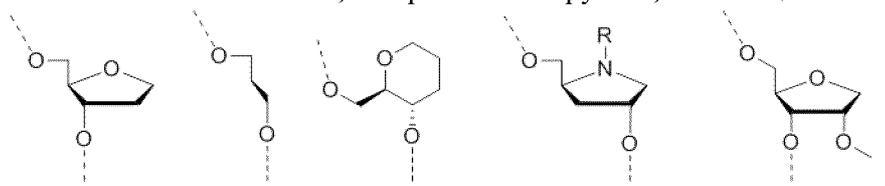
(UNA) или гликолевую нуклеиновую кислоту (GNA); и 2'-5'-связанные рибонуклеотиды («3'-РНК»).

Средство на основе иРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, где каждая цепь имеет 14-40 нуклеотидов. Средство для РНКи может быть представлено формулой (L):

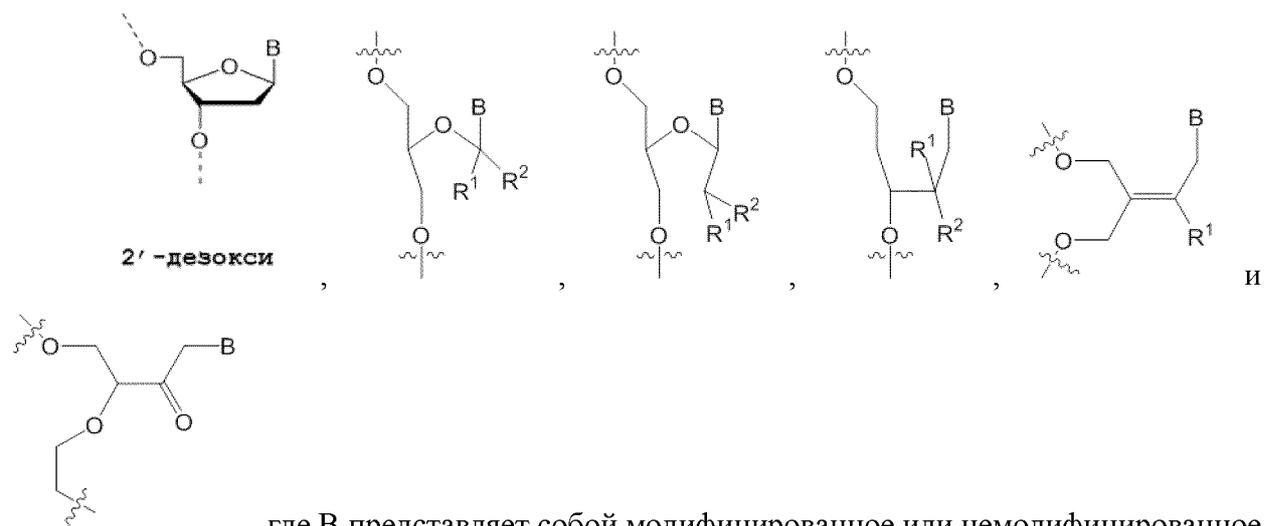


в формуле (L), каждый из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' независимо представляет собой нуклеотид, содержащий модификацию, выбранную из группы, состоящей из 2'-О-алкила, 2'-замещенного алкокси, 2'-замещенного алкила, 2'-гало, ENA и BNA/LNA. В одном варианте осуществления, каждый из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит 2'-ОМе-модификации. В одном варианте осуществления, каждый из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит 2'-ОМе- или 2'-F-модификации. В одном варианте осуществления, по меньшей мере один из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит 2'-О-N-метилацетидамо- (2'-O-NMA) модификацию.

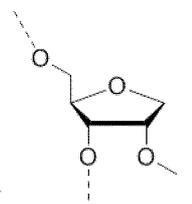
C1 представляет собой термически дестабилизирующий нуклеотид, помещенный в участке, противоположном области затравки антисмысловой цепи (т.е., в положениях 2-8 5'-конца антисмысловой цепи или в положениях 2-9 5'-конца упомянутой цепи). Например, C1 присутствует в положении смысловой цепи, образующем пару с нуклеотидом в положениях 2-8 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере, C1 присутствует в положении 15 от 5'-конца смысловой цепи. C1 нуклеотид несет термически дестабилизирующую модификацию, которая может включать модификацию лишения азотистого основания; несоответствие противоположному нуклеотиду в дуплексе; и модификацию сахара, такую как 2'-дезоксид-модификация, или ациклический нуклеотид, например, незапертые нуклеиновые кислоты (UNA) или глицириновую нуклеиновую кислоту (GNA). В одном варианте осуществления, C1 имеет термически дестабилизирующую модификацию, выбранную из группы, состоящей из: i) несоответствия противоположному нуклеотиду в антисмысловой цепи; ii) модификации лишения азотистого основания, выбранной из группы, состоящей из:



и iii) модификации сахара, выбранной из группы, состоящей из:



, где В представляет собой модифицированное или немодифицированное нуклеиновое основание, R^1 и R^2 независимо представляют собой H, галоген, OR_3 или алкил; и R_3 представляет собой H, алкил, циклоалкил, арил, аралкил, гетероарил или сахар. В одном варианте осуществления, термически дестабилизирующая модификация в С1 представляет собой несоответствие, выбранное из группы, состоящей из G:G, G:A, G:U, G:T, A:A, A:C, C:C, C:U, C:T, U:U, T:T и U:T; и необязательно, по меньшей мере одно нуклеиновое основание в несоответствующей паре представляет собой 2'-дезокси-нуклеиновое основание. В одном примере, термически дестабилизирующая



модификация в С1 представляет собой GNA или

Каждый из T1, T1', T2' и T3' независимо представляет собой нуклеотид, содержащий модификацию, придающую нуклеотиду стерический объем, меньший или равный стерическому объему 2'-ОМе-модификации. Стерический объем относится к сумме стерических эффектов модификации. Способы определения стерических эффектов модификации нуклеотида известны специалисту в данной области. Модификация может присутствовать в 2'-положении рибозного сахара нуклеотида, или представлять собой модификацию нерибозного нуклеотида, ациклического нуклеотида или остова нуклеотида, которая является сходной или эквивалентной 2'-положению рибозного сахара и придает нуклеотиду стерический объем, меньший или равный стерическому объему 2'-ОМе-модификации. Например, каждый из T1, T1', T2' и T3' независимо выбран из ДНК, РНК, LNA, 2'-F и 2'-F-5'-метила. В одном варианте осуществления, T1 представляет собой ДНК. В одном варианте осуществления, T1' представляет собой ДНК, РНК или LNA. В одном варианте осуществления, T2' представляет собой ДНК или РНК. В одном варианте осуществления, T3' представляет собой ДНК или РНК.

n^1 , n^3 и q^1 независимо имеют длину 4-15 нуклеотидов.

n^5 , q^3 и q^7 независимо имеют длину 1-6 нуклеотид(ов).

n^4 , q^2 и q^6 независимо имеют длину 1-3 нуклеотид(а); альтернативно, n^4 представляет собой 0.

q^5 независимо имеет длину 0-10 нуклеотид(ов).

n^2 и q^4 независимо имеют длину 0-3 нуклеотид(а).

Альтернативно, n^4 имеет длину 0-3 нуклеотид(а).

В одном варианте осуществления, n^4 может представлять собой 0. В одном примере, n^4 представляет собой 0, и q^2 и q^6 представляют собой 1. В другом примере, n^4 представляет собой 0, и q^2 и q^6 представляют собой 1, с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи).

В одном варианте осуществления, каждый из n^4 , q^2 и q^6 представляет собой 1.

В одном варианте осуществления, каждый из n^2 , n^4 , q^2 , q^4 и q^6 представляет собой 1.

В одном варианте осуществления, C1 присутствует в положении 14-17 5'-конца смысловой цепи, когда смысловая цепь имеет длину 19-22 нуклеотида, и n^4 представляет собой 1. В одном варианте осуществления, C1 присутствует в положении 15 5'-конца смысловой цепи

В одном варианте осуществления, T3' начинается в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере, T3' присутствует в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^6 равен 1.

В одном варианте осуществления, T1' начинается в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере, T1' присутствует в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^2 равен 1.

В одном иллюстративном варианте осуществления, T3' начинается от положения 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и T1' начинается от положения 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере, T3' начинается от положения 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^6 равен 1, и T1' начинается от положения 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^2 равен 1.

В одном варианте осуществления, T1' и T3' отделены на длину 11 нуклеотидов (т.е. не считая нуклеотиды T1' и T3').

В одном варианте осуществления, T1' присутствует в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере, T1' присутствует в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^2 равен 1, и присутствует модификация в положении или положениях 2' в нерибозном, ациклическом остатке или остове, которая придает меньший стерический объем, чем 2'-ОМе-рибоза.

В одном варианте осуществления, T3' присутствует в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере, T3' присутствует в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^6 равен 1, и присутствует модификация в положении или

положениях 2' в нерибозном, ациклическом остатке или остове, которая придает меньший или равный стерический объем, по сравнению с 2'-ОМе-рибозой.

В одном варианте осуществления, T1 присутствует в участке расщепления смысловой цепи. В одном примере, T1 присутствует в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, когда смысловая цепь имеет длину 19-22 нуклеотида, и n^2 представляет собой 1. В одном иллюстративном варианте осуществления, T1 присутствует в участке расщепления смысловой цепи в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, когда смысловая цепь имеет длину 19-22 нуклеотида, и n^2 представляет собой 1.

В одном варианте осуществления, T2' начинается в положении 6 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере, T2' присутствует в положениях 6-10 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^4 представляет собой 1.

В одном иллюстративном варианте осуществления, T1 присутствует в участке расщепления смысловой цепи, например, в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, когда смысловая цепь имеет длину 19-22 нуклеотида, и n^2 представляет собой 1; T1' присутствует в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^2 равен 1, и присутствует модификация T1' в положении 2' рибозного сахара или в положениях в нерибозном, ациклическом остатке или остове, которая придает меньший стерический объем, чем 2'-ОМе-рибоза; T2' присутствует в положениях 6-10 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^4 представляет собой 1; и T3' присутствует в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^6 равен 1, и присутствует модификация T3' в положении или положениях 2' в нерибозном, ациклическом остатке или остове, которая придает меньший или равный стерический объем, по сравнению с 2'-ОМе-рибозой.

В одном варианте осуществления, T2' начинается в положении 8 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере, T2' начинается в положении 8 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^4 представляет собой 2.

В одном варианте осуществления, T2' начинается в положении 9 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере, T2' присутствует в положении 9 от 5'-конца антисмысловой цепи, и q^4 представляет собой 1.

В одном варианте осуществления, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q^2 представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^3 представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q^4 представляет собой 1, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^5 q^5 представляет собой 6, T3' представляет собой 2'-F, q^6 представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и q^7 представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи).

В одном варианте осуществления, n^4 представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n^5 представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q^1 представляет

собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1.

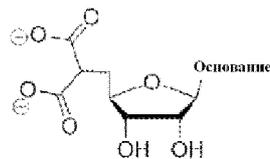
В одном варианте осуществления, B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи).

В одном варианте осуществления, B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, B4' представляет собой 2' F, и q⁷ представляет собой 1.

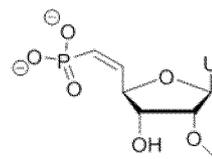
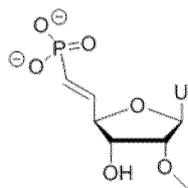
В одном варианте осуществления, B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, T1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, B4' представляет собой 2' F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи).

Средство для РНКи может содержать содержащую фосфор группу на 5'-конце смысловой цепи или антисмысловой цепи. 5'-концевая содержащая фосфор группа может представлять собой 5'-концевой фосфат (5'-P), 5'-концевой фосфоротиоат (5'-PS), 5'-

концевой фосфородитиоат ($5'$ -PS₂), $5'$ -концевой винилфосфонат ($5'$ -VP), $5'$ -концевой



метилфосфонат (MePhos), или $5'$ -дезоксидезокси- $5'$ -С-малонил (). Когда $5'$ -концевая содержащая фосфор группа представляет собой $5'$ -концевой винилфосфонат ($5'$ -VP), $5'$ -VP может представлять собой изомер $5'$ -E-VP (т.е., транс-винилфосфонат,



), изомер $5'$ -Z-VP (т.е., цис-винилфосфонат,

) или их смеси.

В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит содержащую фосфор группу на $5'$ -конце смысловой цепи. В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит содержащую фосфор группу на $5'$ -конце антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -P. В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -P в антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -PS. В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -PS в антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -VP. В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -VP в антисмысловой цепи. В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -E-VP в антисмысловой цепи. В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -Z-VP в антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -PS₂. В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -PS₂ в антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -PS₂. В одном варианте осуществления, средство для РНКи содержит $5'$ -дезоксидезокси- $5'$ -С-малонил в антисмысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q⁷ представляет собой 1. Средство для РНКи также содержит $5'$ -PS.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет

собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' ОМе, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца). Средство для РНКи также содержит 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1. Средство для РНКи также содержит 5'-Р.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1. Средство для РНКи также содержит 5'-PS.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1. Средство для РНКи также содержит 5'-VP. 5'-VP может представлять собой 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию.

смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-дезоксис-5'-С-малонил.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' F, и q⁷ представляет собой 1. Средство для РНКи также содержит 5'-Р.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' F, и q⁷ представляет собой 1. Средство для РНКи также содержит 5'-PS.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' F, и q⁷ представляет собой 1. Средство для РНКи также содержит 5'-VP. 5'-VP может представлять собой 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой

от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию) и нацеливающий лиганд.

В одном варианте осуществления, 5'-VP присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-PS₂ и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-PS₂ присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-

собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' ОМе, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца), и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца). Средство для РНКи также содержит 5'-PS₂ и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-PS₂ присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' ОМе, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца). Средство для РНКи также содержит 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-Р и

нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-P присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-PS присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию) и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-VP присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой

2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-PS₂ и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-PS₂ присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q⁴ представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-Р и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-Р присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-PS присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию) и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-VP присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-

конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-PS₂ и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-PS₂ присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В одном варианте осуществления, В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n¹ представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'F, n² представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n³ представляет собой 7, n⁴ представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n⁵ представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q¹ представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q² представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q³ представляет собой 4, q⁴ представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q⁵ представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q⁶ представляет собой 1, В4' представляет собой 2' F, и q⁷ представляет собой 1; с двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положении 1-5 смысловой цепи (считая от 5'-конца смысловой цепи) и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 1 и 2, и двумя фосфоротиоатными модификациями межнуклеотидной связи в положениях 18-23 антисмысловой цепи (считая от 5'-конца антисмысловой цепи). Средство для РНКи также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. В одном варианте осуществления, 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд присутствует на 3'-конце смысловой цепи.

В конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит:

(а) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера; и

(iii) 2'-F-модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11, 13, 17, 19 и 21, и 2'-ОМе-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 12, 14-16, 18 и 20 (считая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 5, 9, 11-13, 15, 17, 19, 21 и 23, и 2'F-модификации в положениях 2, 4, 6-8, 10, 14, 16, 18, 20 и 22 (считая от 5'-конца); и

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 21 и 22, и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая от 5'-конца);

где средства на основе дцРНК имеют двухнуклеотидный выступающий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит:

(а) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-F-модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11, 13, 15, 17, 19 и 21, и 2'-ОМе-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 18 и 20 (считая от 5'-конца); и

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9, 11-13, 15, 17, 19 и 21-23, и 2'-F-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18 и 20 (считая от 5'-конца); и

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22, и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая от 5'-конца);

где средства для РНКи имеют двухнуклеотидный выступающий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит:

(а) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-6, 8, 10 и 12-21, 2'-F-модификации в положениях 7 и 9, и дезоксинуклеотид (например, dT) в положении 11 (считая от 5'-конца);

и

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 7, 9, 11, 13, 15, 17 и 19-23, и 2'-F-модификации в положениях 2, 4-6, 8, 10, 12, 14, 16 и 18 (считая от 5'-конца); и

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22, и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая от 5'-конца);

где средства для РНКи имеют двухнуклеотидный выступающий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-6, 8, 10, 12, 14 и 16-21, и 2'-F-модификации в положениях 7, 9, 11, 13 и 15; и

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 и 21-23, и 2'-F-модификации в положениях 2-4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 и 20 (считая от 5'-конца); и

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22, и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая от 5'-конца);

где средства для РНКи имеют двухнуклеотидный выступающий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-9 и 12-21, и 2'-F-модификации в положениях 10 и 11; и

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9, 11-13, 15, 17, 19 и 21-23, и 2'-F-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18 и 20 (считая от 5'-конца); и

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22, и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая от 5'-конца);

где средства для РНКи имеют двухнуклеотидный выступающий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-F-модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11 и 13, и 2'-ОМе-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 12 и 14-21; и

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 5-7, 9, 11-13, 15, 17-19 и 21-23, и 2'-F-модификации в положениях 2, 4, 8, 10, 14, 16 и 20 (считая от 5'-конца); и

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22, и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая от 5'-конца);

где средства для РНКи имеют двухнуклеотидный выступающий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 2, 4, 6, 8, 12, 14, 15, 17 и 19-21, и 2'-F-модификации в положениях 3, 5, 7, 9-11, 13, 16 и 18; и

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 25 нуклеотидов;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 4, 6, 7, 9, 11-13, 15, 17 и 19-23, 2'-F-модификации в положениях 2, 3, 5, 8, 10, 14, 16 и 18, и дезокси-нуклеотиды (например, dT) в положениях 24 и 25 (считая от 5'-конца); и

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22, и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая от 5'-конца);

где средства для РНКи имеют четырехнуклеотидный выступающий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-6, 8 и 12-21, и 2'-F-модификации в положениях 7 и 9-11; и

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3-5, 7, 8, 10-13, 15 и 17-23, и 2'-F-модификации в положениях 2, 6, 9, 14 и 16 (считая от 5'-конца); и

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22, и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая от 5'-конца);

где средства для РНКи имеют двухнуклеотидный выступающий конец на 3'-конце антисмысловой цепи, и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-6, 8 и 12-21, и 2'-F-модификации в положениях 7 и 9-11; и

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 23 нуклеотида;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3-5, 7, 10-13, 15 и 17-23, и 2'-F-модификации в положениях 2, 6, 8, 9, 14 и 16 (считая от 5'-конца); и

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 21 и 22, и между положениями нуклеотидов 22 и 23 (считая от 5'-конца);

где средства для РНКи имеют двухнуклеотидный выступающий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В другом конкретном варианте осуществления, средство для РНКи по настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) длину 19 нуклеотидов;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, где указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-4, 6 и 10-19, и 2'-F-модификации в положениях 5 и 7-9; и

(iv) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, и между положениями нуклеотидов 2 и 3 (считая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) длину 21 нуклеотид;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3-5, 7, 10-13, 15, и 17-21, и 2'-F-модификации в положениях 2, 6, 8, 9, 14 и 16 (считая от 5'-конца); и

(iii) фосфоротиоатные межнуклеотидные связи между положениями нуклеотидов 1 и 2, между положениями нуклеотидов 2 и 3, между положениями нуклеотидов 19 и 20, и между положениями нуклеотидов 20 и 21 (считая от 5'-конца);

где средства для РНКи имеют двухнуклеотидный выступающий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

В конкретных вариантах осуществления, иРНК для использования в способах по настоящему изобретению представляет собой средство, выбранное из средств, перечисленных в любой из таблиц 2-3. Эти средства могут дополнительно содержать лиганд.

III. иРНК, конъюгированные с лигандами

Другая модификация РНК из иРНК по настоящему изобретению включает химическое связывание с иРНК одного или нескольких лигандов, групп или конъюгатов,

улучшающих активность, клеточное распределение или клеточное поглощение иРНК, например, в клетке. Такие группы включают, но без ограничения, липидные группы, такие как группа холестерина (Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86: 6553-6556). В других вариантах осуществления, лиганд представляет собой холевую кислоту (Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053-1060), тиоэфир, например, берил-S-тримитилтиол (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306-309; Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765-2770), тиохолестерин (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533-538), алифатическую цепь, например, остатки додекандиола или ундецила (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J*, 1991, 10:1111-1118; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327-330; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49-54), фосфолипид, например, ди-гексадецил-рац-глицерин или 1,2-ди-О-гексадецил-рац-глицеро-3-фосфонат триэтиламмония (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777-3783), полиаминовую или полиэтиленгликолевую цепь (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969-973), или адамантануксусную кислоту (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654), группу пальмитила (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229-237), или группу октадециламина или гексиламинокарбонилноксистерина (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923-937).

В конкретных вариантах осуществления, лиганд изменяет распределение, нацеливание или время жизни средства на основе иРНК, в которое он включен. В конкретных вариантах осуществления, лиганд обеспечивает улучшенную аффинность для выбранной мишени, например, молекулы, клетки или типа клеток, компартмента, например, компартмента клетки или органа, ткани, органа или области организма, например, по сравнению с молекулами в отсутствие такого лиганда. В некоторых вариантах осуществления, лиганды не участвуют в спаривании дуплекса в дуплексной нуклеиновой кислоте.

Лиганды могут включать природное вещество, такое как белок (например, человеческий сывороточный альбумин (HSA), липопротеин низкой плотности (LDL) или глобулин); углевод (например, декстран, пуллулан, хитин, хитозан, инулин, циклодекстрин, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин, или гиалуроновая кислота); или липид. Лиганд может также представлять собой рекомбинантную или синтетическую молекулу, такую как синтетический полимер, например, синтетическая полиаминокислота. Примеры полиаминокислот включают полиаминокислоту, такую как полилизин (PLL), поли-L-аспарагиновую кислоту, поли-L-глутаминовую кислоту, сополимер стирола-ангидрида малеиновой кислоты, сополимер поли(L-лактида-гликолида), сополимер дивинилового эфира-малеинового ангидрида, сополимер N-(2-гидроксипропил)метакриламида (НМРА), полиэтиленгликоль (PEG), поливиниловый спирт (PVA), полиуретан, поли(2-этилакриловую кислоту), полимеры N-изопропилакриламида или полифосфазин. Пример полиаминов включают: полиэтиленимин, полилизин (PLL), спермин, спермидин, полиамин, псевдопептид-полиамин, пептидомиметический полиамин, дендримерный

полиамин, аргинин, амидин, протамин, катионный липид, катионный порфирин, четвертичную соль полиамина или альфа-спиральный пептид.

Лиганды могут также включать нацеливающие группы, например, нацеливающее на клетку или ткань средство, например, лектин, гликопротеин, липид или белок, например, антитело, которое связывается с определенным типом клеток, таким как клетка почки. Нацеливающая группа может представлять собой тиреотропин, меланотропин, лектин, гликопротеин, поверхностно-активное вещество белок А, углевод муцин, мультивалентную лактозу, мультивалентную галактозу, N-ацетилгалактозамин, N-ацетилглюкозамин, мультивалентную маннозу, мультивалентную фукозу, гликозилированные полиаминокислоты, мультивалентную галактозу, трансферрин, бисфосфонат, полиглутамат, полиаспартат, липид, холестерин, стероид, желчную кислоту, фолат, витамин В12, витамин А, биотин, или пептид RGD или пептидомиметик RGD. В конкретных вариантах осуществления, лиганд представляет собой мультивалентную галактозу, например, N-ацетилгалактозамин.

Другие примеры лигандов включают красители, интеркалирующие средства (например, акридины), перекрестно сшивающие линкеры (например, псорален, митомицин С), порфирины (TPPC4, тексафирин, сапфирин), полициклические ароматические углеводороды (например, феназин, дигидрофеназин), искусственные эндонуклеазы (например, ЭДТА), липофильные молекулы, например, холестерин, холевую кислоту, адамантануксусную кислоту, 1-пиренмасляную кислоту, дигидротестостерон, 1,3-бис-О(гексадецил)глицерин, геранилоксигексильную группу, гексадецилглицерин, борнеол, ментол, 1,3-пропандиол, гептадецильную группу, пальмитиновую кислоту, миристиновую кислоту, ОЗ-(олеил)литохолевую кислоту, ОЗ-(олеил)холеновую кислоту, диметокситритил или феноксазин и конъюгаты пептида (например, пептида *antennapedia*, пептида Tat), алкилирующие средства, фосфат, аминок, меркапто, PEG (например, PEG-40K), MPEG, [MPEG]₂, полиамино, алкил, замещенный алкил, меченные радиоактивной меткой маркеры, ферменты, гаптенy (например, биотин), облегчающие транспорт/абсорбцию средства (например, аспирин, витамин Е, фолиевую кислоту), синтетические рибонуклеазы (например, имидазол, бисимидазол, гистамин, имидазольные кластеры, акридин-имидазольные конъюгаты, Eu³⁺ комплексы тетраазамакроциклоv), динитрофенил, HRP или AP.

Лиганды могут представлять собой белки, например, гликопротеины, или пептиды, например, молекулы, имеющие специфическую аффинность для колиганда, или антитела, например, антитело, которое связывается со специфическим типом клеток, таким как клетка печени. Лиганды могут также включать гормоны и рецепторы гормонов. Они могут также включать непептидные молекулы, такие как липиды, лектины, углеводы, витамины, кофакторы, мультивалентную лактозу, мультивалентную галактозу, N-ацетилгалактозамин, N-ацетилглюкозамин, мультивалентную маннозу или мультивалентную фукозу. Лиганд может представлять собой, например, липополисахарид, активатор MAP-киназы p38 или активатор NF-κB.

Лиганд может представлять собой вещество, например, лекарственное средство, которое может увеличивать поглощение средства на основе иРНК в клетке, например, посредством разрушения цитоскелета клетки, например, посредством разрушения микротрубочек, микрофиламентов или промежуточных филаментов клетки. Лекарственное средство может представлять собой, например, таксол, винкристин, винбластин, цитохалазин, нокодазол, яплакинолид, латрункулин А, фаллоидин, свинхолид А, инданоцин или миосервин.

В некоторых вариантах осуществления, лиганд, присоединенный к иРНК, как описано в настоящем описании, действует как фармакокинетический модулятор (РК модулятор). РК модуляторы включают липофилы, желчные кислоты, стероиды, аналоги фосфолипидов, пептиды, связывающие белок средства, PEG, витамины и т.д. Иллюстративные РК модуляторы включают, но без ограничения, холестерин, жирные кислоты, холевую кислоту, литохолевую кислоту, диалкилглицериды, диацилглицерид, фосфолипиды, сфинголипиды, напроксен, ибупрофен, витамин Е, биотин. Известно также, что олигонуклеотиды, которые содержат ряд фосфоротиоатных связей, связываются с сывороточным белком, таким образом, короткие олигонуклеотиды, например, олигонуклеотиды из приблизительно 5 оснований, 10 оснований, 15 оснований или 20 оснований, содержащие множество фосфоротиоатных связей в остове, также являются пригодными по настоящему изобретению в качестве лигандов (например, в качестве модулирующих РК лигандов). Кроме того, аптамеры, которые связываются с компонентами сыворотки (например, сывороточными белками), также являются пригодными для использования в качестве модулирующих РК лигандов в вариантах осуществления, описанных в настоящем описании.

Конъюгированные с лигандами иРНК по настоящему изобретению можно синтезировать с использованием олигонуклеотида, несущего боковую реакционноспособную функциональную группу, такого как полученный в результате присоединения связывающей молекулы к олигонуклеотиду (описано ниже). Этот реакционноспособный олигонуклеотид может напрямую вступать в реакцию с коммерчески доступными лигандами, лигандами, которые синтезированы как несущие любую из разнообразных защитных групп, или лигандами, которые имеют связывающую группу, присоединенную к ним.

Олигонуклеотиды, используемые в конъюгатах по настоящему изобретению, можно удобным и общепринятым образом получать посредством хорошо известного способа твердофазного синтеза. Оборудование для такого синтеза продают несколько поставщиков, включая, например, Applied Biosystems® (Foster City, Calif.). Любые другие способы такого синтеза, известные в данной области, можно использовать дополнительно или альтернативно. Также известно использование сходных способов для получения других олигонуклеотидов, таких как фосфоротиоаты и алкилированные производные.

В конъюгированных с лигандом иРНК и несущих лиганд-молекулу специфическим для последовательности образом связанных нуклеозидах по настоящему изобретению,

олигонуклеотиды и олигонуклеозиды можно собирать в подходящем синтезаторе ДНК с использованием стандартных предшественников нуклеотидов или нуклеозидов, или предшественников конъюгатов нуклеотидов или нуклеозидов, которые уже несут связывающую группу, предшественников конъюгатов лиганд-нуклеотид или -нуклеозид, которые уже несут молекулу лиганда, или ненуклеозидных несущих лиганд структурных блоков.

При использовании предшественников конъюгатов нуклеотидов, которые уже несут связывающую группу, синтез специфических для последовательности связанных нуклеозидов, как правило, завершают, и затем проводят реакцию молекулы лиганда со связывающей группой с образованием конъюгированного с лигандом олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления, олигонуклеотиды или связанные нуклеозиды по настоящему изобретению синтезируют посредством автоматического синтезатора с использованием фосфорамидитов, происходящих из конъюгатов лиганд-нуклеозид, в дополнение к стандартным фосфорамидитам и нестандартным фосфорамидитам, которые являются коммерчески доступными и общепринятым образом используемыми в синтезе олигонуклеотидов.

А. Конъюгаты липидов

В конкретных вариантах осуществления, лиганд или конъюгат представляет собой липидную молекулу или молекулу на основе липида. Такая липидная молекула или молекула на основе липида может связываться с сывороточным белком, например, человеческим сывороточным альбумином (HSA). Связывающийся с HSA лиганд позволяет распределение конъюгата в целевой ткани, например, в отличной от ткани почек ткани-мишени организма. Например, ткань-мишень может представлять собой печень, включая паренхимальные клетки печени. Другие молекулы, которые могут связывать HSA, также можно использовать в качестве лигандов. Например, можно использовать напроксен или аспирин. Липидный лиганд или лиганд на основе липида может (а) увеличивать устойчивость к деградации конъюгата, (b) увеличивать нацеливание на или транспорт в клетку-мишень или клеточную мембрану, или (с) может быть использован для коррекции связывания с сывороточным белком, например, HSA.

Лиганд на основе липида можно использовать для ингибирования, например, контроля связывания конъюгата с тканью-мишенью. Например, липидный лиганд или лиганд на основе липида, который связывается с HSA более сильно, с меньшей вероятностью может нацеливаться на почку и, таким образом, с меньшей вероятностью может выводиться из организма. Липидный лиганд или лиганд на основе липида, который менее сильно связывается с HSA, можно использовать для нацеливания конъюгата на почку.

В конкретных вариантах осуществления, лиганд на основе липида связывается с HSA. В одном варианте осуществления, он связывает HSA с аффинностью, достаточной для того, чтобы конъюгат предпочтительно распределялся в ткань, отличную от ткани

почек. Однако предпочтительно, чтобы аффинность не была настолько сильной, чтобы связывание HSA-лиганд было необратимым.

В других вариантах осуществления, лиганд на основе липида связывается с HSA слабо или вообще не связывается, так что конъюгат может распределяться в почку. Другие группы, которые нацеливаются на клетки почки, также можно использовать вместо или в дополнение к лиганду на основе липида.

В другом аспекте, лиганд представляет собой группу, например, витамин, который поглощается клеткой-мишенью, например, пролиферирующей клеткой. Он является особенно полезным для лечения нарушений, характеризующихся нежелательной пролиферацией клеток, например, злокачественного или незлокачественного типа, например, злокачественных клеток. Иллюстративные витамины включают витамин А, Е и К. Другие иллюстративные витамины включают витамин В, например, фолиевую кислоту, В12, рибофлавин, биотин, пиридоксаль, или другие витамины или питательные вещества, поглощаемые целевыми клетками, такими как клетки печени. Также включены HSA и липопротеин низкой плотности (LDL).

В. Средства для проникновения в клетку

В другом аспекте, лиганд представляет собой средство для проникновения в клетку, такое как спиральное средство для проникновения в клетку. В одном варианте осуществления, средство является амфипатическим. Иллюстративное средство представляет собой пептид, такой как tat или antennopedia. Если средство представляет собой пептид, он может являться модифицированным, включая пептидилмиметик, инвертомеры, непептидные или псевдопептидные связи и использование D-аминокислот. В одном варианте осуществления, спиральное средство представляет собой альфа-спиральное средство, например, имеющее липофильную и липофобную фазу.

Лиганд может представлять собой пептид или пептидомиметик. Пептидомиметик (также обозначенный в настоящем описании как олигопептидомиметик) представляет собой молекулу, способную к сворачиванию в определенную трехмерную структуру, сходную с природным пептидом. Присоединение пептида и пептидомиметиков к средствам на основе иРНК может влиять на фармакокинетическое распределение иРНК, например, посредством улучшения клеточных узнавания и абсорбции. Группа пептида или пептидомиметика может иметь длину приблизительно 5-50 аминокислот, например, приблизительно 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 аминокислот.

Пептид или пептидомиметик может представлять собой, например, пептид для проникновения в клетку, катионный пептид, амфипатический пептид или гидрофобный пептид (например, состоящий, главным образом, из Tug, Tgr или Phe). Пептидная группа может представлять собой дендримерный пептид, конформационно ограниченный пептид или перекрестно сшитый пептид. В другом альтернативном варианте, пептидная группа может включать гидрофобную последовательность, обеспечивающую перенос через мембрану (MTS). Иллюстративный содержащий гидрофобную MTS пептид представляет собой RFGF, имеющий аминокислотную последовательность AAVALLPAVLLALLAP

(SEQ ID NO:15). Аналог RFGF (например, аминокислотная последовательность AALLPVLLAAP (SEQ ID NO:16), содержащий гидрофобную MTS, также может представлять собой нацеливающую группу. Группа пептида может представлять собой «доставляющий» пептид, который может переносить большие полярные молекулы, включая пептиды, олигонуклеотиды и белки, через клеточные мембраны. Например, было обнаружено, что последовательности из белка Tat HIV (GRKKRRQRRRPPQ (SEQ ID NO:17) и белка Antennapedia Drosophila (RQIKIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO:18) являются способными функционировать в качестве доставляющих пептидов. Пептид или пептидомиметик может являться кодированным случайной последовательностью ДНК, например, пептид, идентифицированный из библиотеки фагового дисплея, или комбинаторной библиотеки одна бусина-одно соединение (OBOC) (Lam *et al.*, Nature, 354:82-84, 1991). Примеры пептида или пептидомиметика, связанного со средством на основе дцРНК посредством введенного мономерного звена, для целей нацеливания на клетку, представляют собой пептид аргинин-глицин-аспарагиновая кислота (RGD) или миметик RGD. Пептидная группа может иметь длину в диапазоне от приблизительно 5 аминокислот до приблизительно 40 аминокислот. Пептидные группы могут иметь структурную модификацию, например, для увеличения стабильности или управления конформационными свойствами. Можно использовать любую из структурных модификаций, описанных ниже.

Пептид RGD для использования в композициях и способах по настоящему изобретению может являться линейным или циклическим, и может являться модифицированным, например, гликозилированным или метилированным, чтобы способствовать нацеливанию на специфическую ткань(и). Содержащие RGD пептиды и пептидомиметики могут включать D-аминокислоты, так же как синтетические миметики RGD. В дополнение к RGD, можно использовать другие группы, нацеливающие на лиганд интегрин, например, PECAM-1 или VEGF.

«Пептид для проникновения в клетку» является способным к проникновению в клетку, например, клетку микроорганизма, такую как клетка бактерии или гриба, или клетку млекопитающего, такую как клетка человека. Пептид для проникновения в клетку микроорганизма может представлять собой, например, α -спиральный линейный пептид (например, LL-37 или церопин P1), содержащий дисульфидную связь пептид (например, α -дефензин, β -дефензин или бактенецин) или пептид, содержащий только одну или две преобладающие аминокислоты (например, PR-39 или индолицидин). Пептид для проникновения в клетку также может включать сигнал ядерной локализации (NLS). Например, пептид для проникновения в клетку может представлять собой двухкомпонентный амфипатический пептид, такой как MPG, происходящий из домена слитого пептида gp41 HIV-1 и NLS из большого Т-антигена SV40 (Simeoni *et al.*, Nucl. Acids Res. 31:2717-2724, 2003).

С. Углеводные конъюгаты

В некоторых вариантах осуществления композиций и способов по настоящему изобретению, иРНК дополнительно содержит углевод. Конъюгированная с углеводом иРНК являются предпочтительной для доставки *in vivo* нуклеиновых кислот, так же как композиций, пригодных для терапевтического применения *in vivo*, как описано в настоящем описании. В рамках изобретения, «углевод» относится к соединению, которое представляет собой либо собственно углевод, состоящий из одного или нескольких моносахаридных звеньев, имеющих по меньшей мере 6 атомов углерода (который может являться линейным, разветвленным или циклическим) с атомом кислорода, азота или серы, связанным с каждым атомом углерода; либо соединение, частью которого является углеводная группа, образованная из одного или нескольких моносахаридных звеньев, где каждое имеет по меньшей мере шесть атомов углерода (которое может являться линейным, разветвленным или циклическим), с атомом кислорода, азота или серы, связанным с каждым атомом углерода. Репрезентативные углеводы включают сахара (моно-, ди-, три- и олигосахариды, содержащие приблизительно 4, 5, 6, 7, 8 или 9 моносахаридных звеньев) и полисахариды, такие как крахмалы, гликоген, целлюлоза и полисахаридные камеди. Конкретные моносахариды включают C5 и выше (например, C5, C6, C7 или C8) сахара; ди- и трисахариды включают сахара, имеющие два или три моносахаридных звена (например, C5, C6, C7 или C8).

В конкретных вариантах осуществления, углеводный конъюгат для использования в композициях и способах по настоящему изобретению представляет собой моносахарид.

В конкретных вариантах осуществления, моносахарид представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc). Конъюгаты GalNAc содержащие одно или несколько производных N-ацетилгалактозамина (GalNAc), описаны, например, в US 8106022, полное содержание которого, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки. В некоторых вариантах осуществления, конъюгат GalNAc служит в качестве лиганда, нацеливающего иРНК на конкретные клетки. В некоторых вариантах осуществления, конъюгат GalNAc нацеливает иРНК на клетки печени, например, посредством того, что служит в качестве лиганда для асиалогликопротеинового рецептора клеток печени (например, гепатоцитов).

В некоторых вариантах осуществления, углеводный конъюгат содержит одно или несколько производных GalNAc. Производные GalNAc могут быть присоединены посредством линкера, например, двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера. В некоторых вариантах осуществления, конъюгат GalNAc является конъюгированным с 3'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, конъюгат GalNAc является конъюгированным со средством на основе иРНК (например, с 3'-концом смысловой цепи) посредством линкера, например, линкера, как описано в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления конъюгат GalNAc является конъюгированным с 5'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, конъюгат GalNAc является конъюгированным со средством на основе иРНК (например, с

5'-концом смысловой цепи) посредством линкера, например, линкера, как описано в настоящем описании.

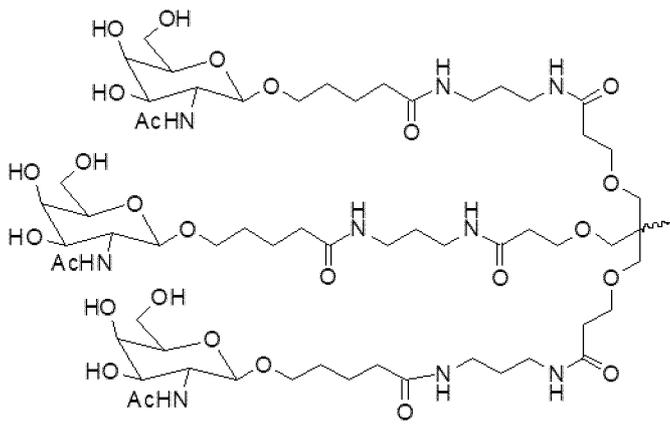
В конкретных вариантах осуществления изобретения, GalNAc или производное GalNAc присоединены к средству на основе иРНК по настоящему изобретению посредством одновалентного линкера. В некоторых вариантах осуществления, GalNAc или производное GalNAc присоединены к средству на основе иРНК по настоящему изобретению посредством двухвалентного линкера. В других вариантах осуществления изобретения, GalNAc или производное GalNAc присоединены к средству на основе иРНК по настоящему изобретению посредством трехвалентного линкера. В других вариантах осуществления изобретения, GalNAc или производное GalNAc присоединены к средству на основе иРНК по настоящему изобретению посредством тетравалентного линкера.

В конкретных вариантах осуществления, двухцепочечные средства для РНКи по настоящему изобретению содержат один GalNAc или одно производное GalNAc, присоединенные к средству на основе иРНК. В конкретных вариантах осуществления, двухцепочечные средства для РНКи по настоящему изобретению содержат множество (например, 2, 3, 4, 5 или 6) GalNAc или производных GalNAc, каждые из которых независимо присоединены к множеству нуклеотидов двухцепочечного средства для РНКи посредством множества одновалентных линкеров.

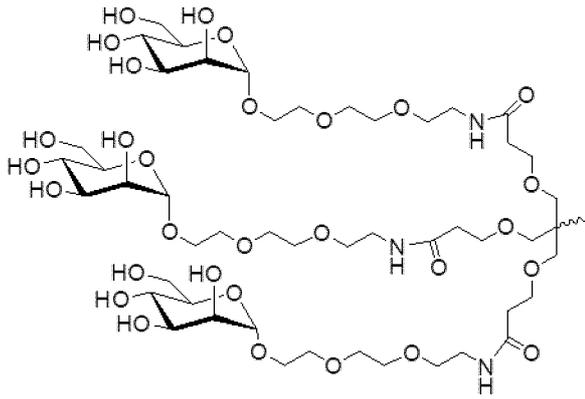
В некоторых вариантах осуществления, например, когда две цепи средства на основе иРНК по настоящему изобретению являются частями одной большей молекулы, соединенными посредством непрерывной цепи нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, формирующих петлю шпильки, содержащую множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле шпильки может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенные посредством одновалентного линкера. Петля шпильки может быть также сформирована удлиненным выступающим концом в одной цепи дуплекса.

В некоторых вариантах осуществления, например, когда две цепи средства на основе иРНК по настоящему изобретению являются частями одной большей молекулы, соединенными посредством непрерывной цепи нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, формирующих петлю шпильки, содержащую множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле шпильки может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенные посредством одновалентного линкера. Петля шпильки может быть также сформирована удлиненным выступающим концом в одной цепи дуплекса.

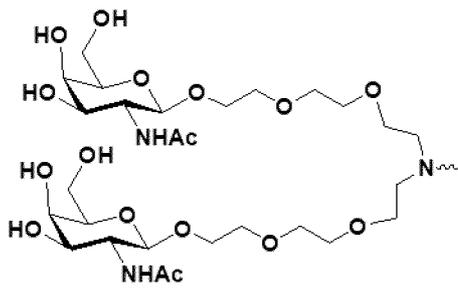
В одном варианте осуществления, углеводный конъюгат для использования в композициях и способах по настоящему изобретению выбран из группы, состоящей из:



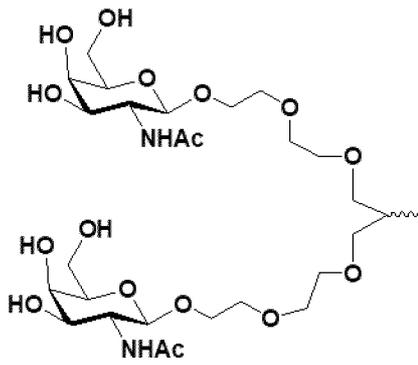
Формула II,



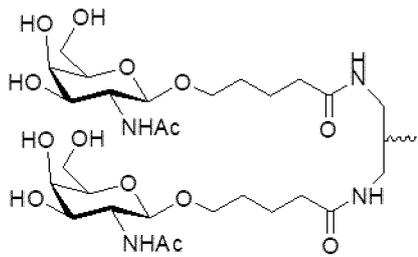
Формула III,



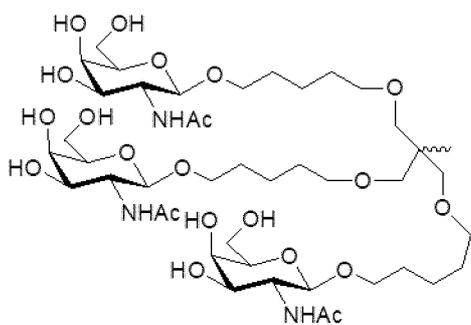
Формула IV,



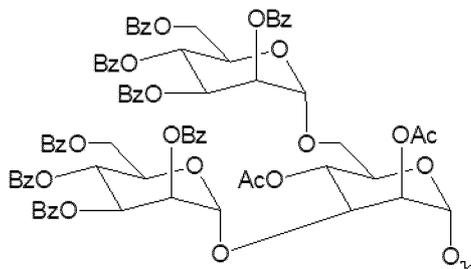
Формула V,



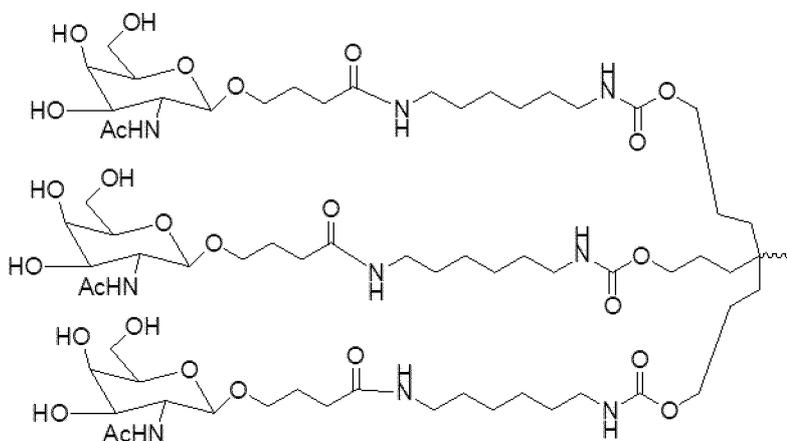
Формула VI,



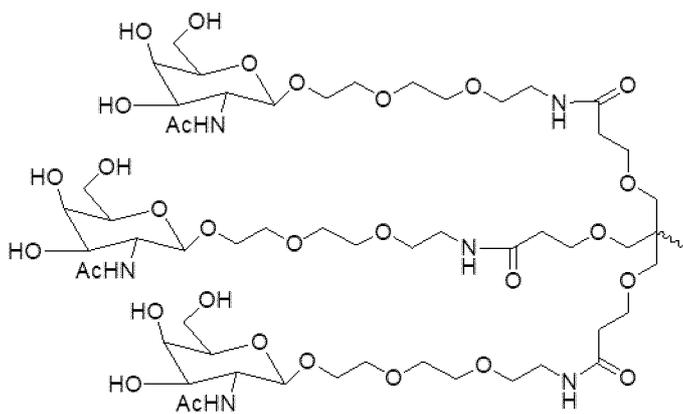
Формула VII,



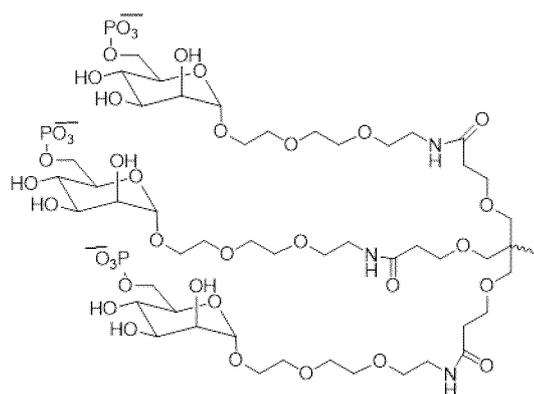
Формула VIII,



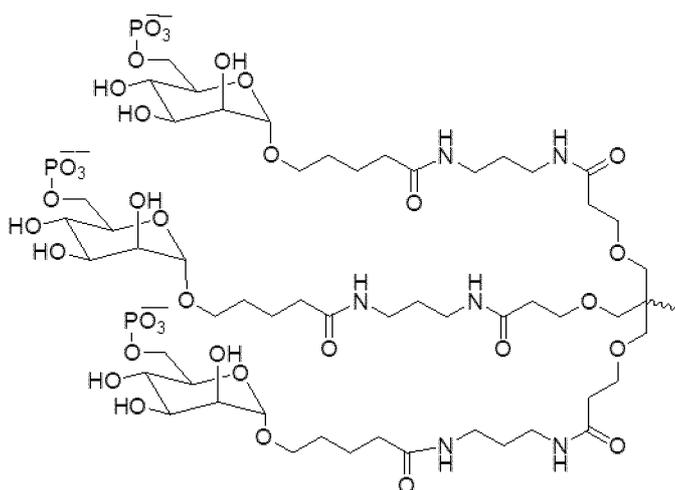
Формула IX,



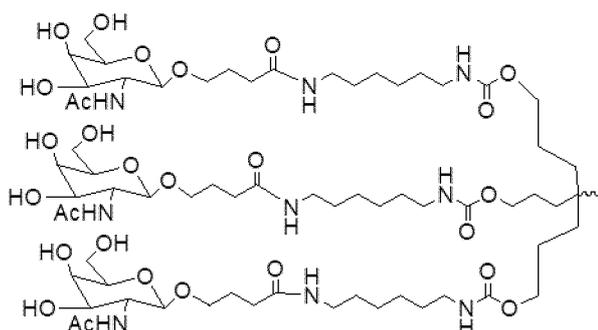
Формула X,



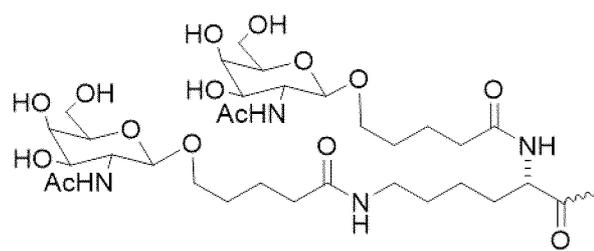
Формула XI,



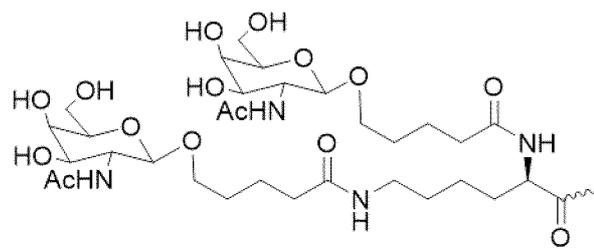
Формула XII,



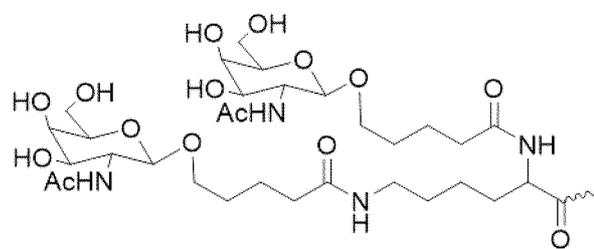
Формула XIII,



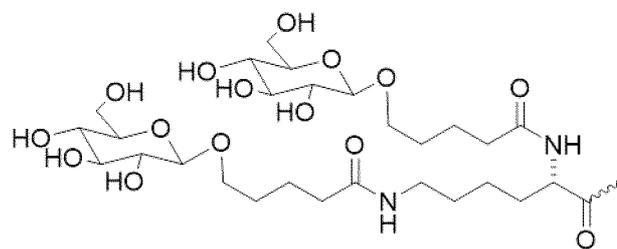
Формула XIV,



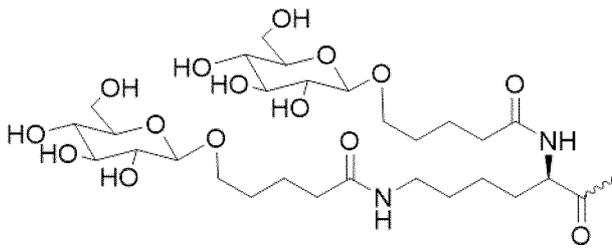
Формула XV,



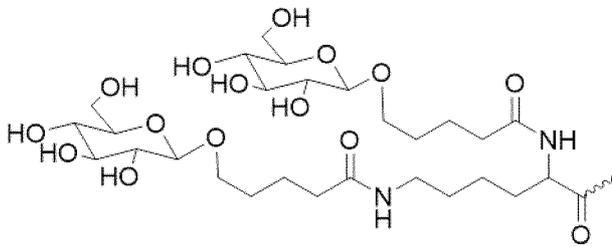
Формула XVI,



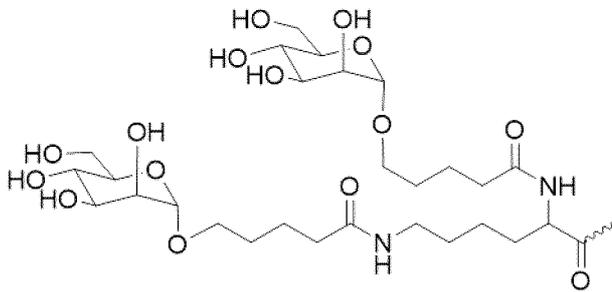
Формула XVII,



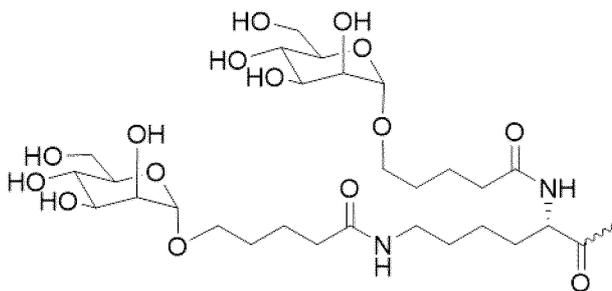
Формула XVIII,



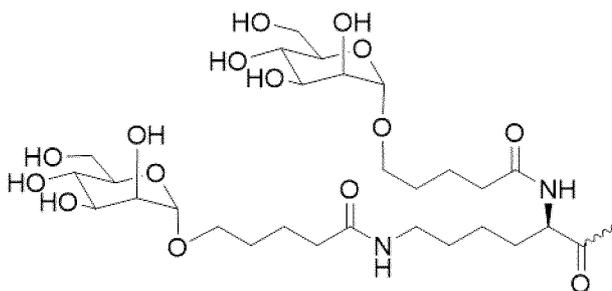
Формула XIX,



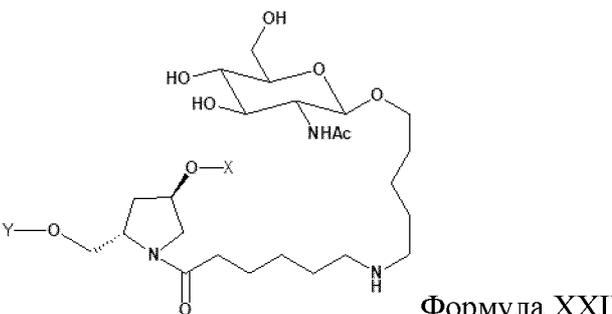
Формула XX,



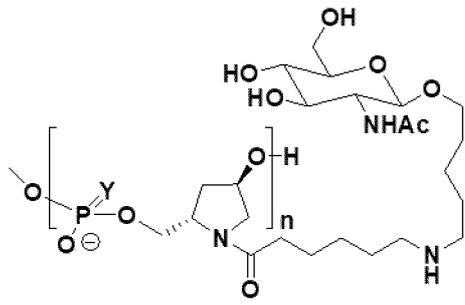
Формула XXI,



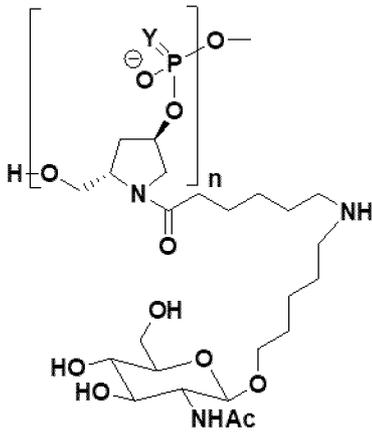
Формула XXII,



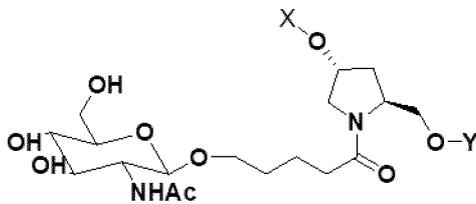
Формула XXIII;



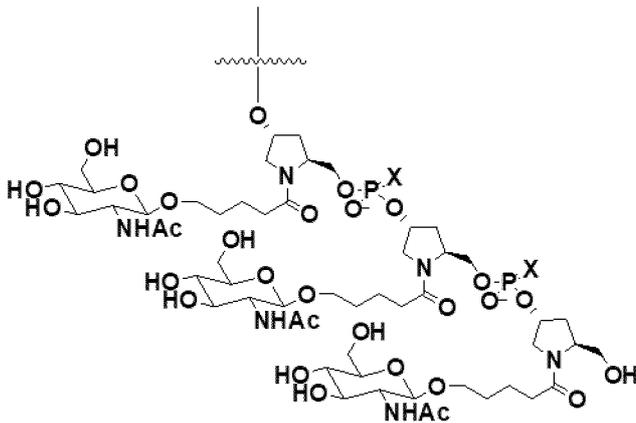
, где Y представляет собой O или S, и n представляет собой 3-6 (формула XXIV);



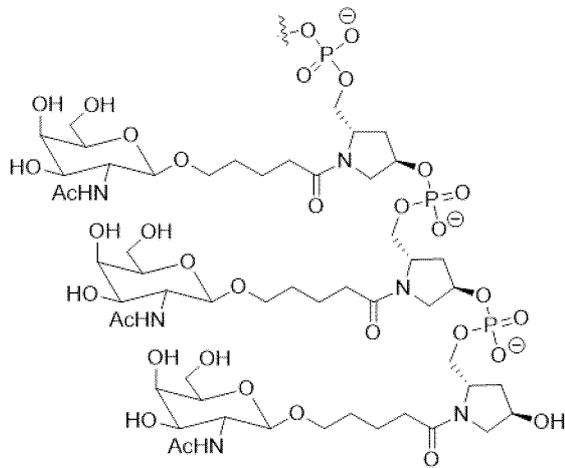
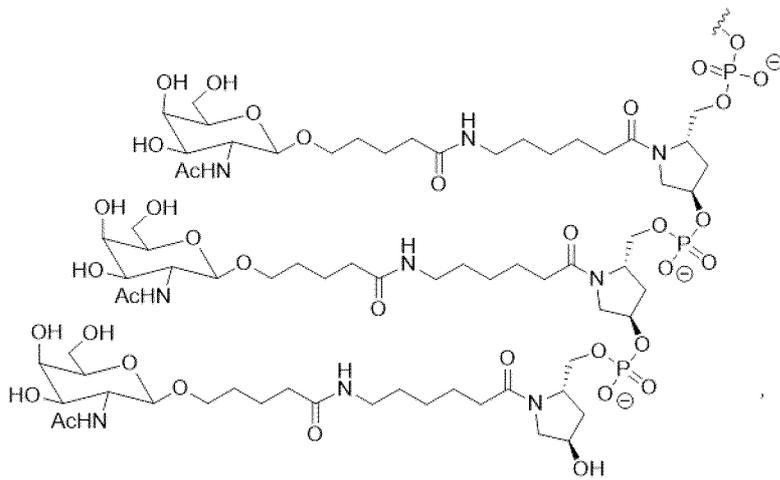
, где Y представляет собой O или S, и n представляет собой 3-6 (формула XXV);



Формула XXVI;

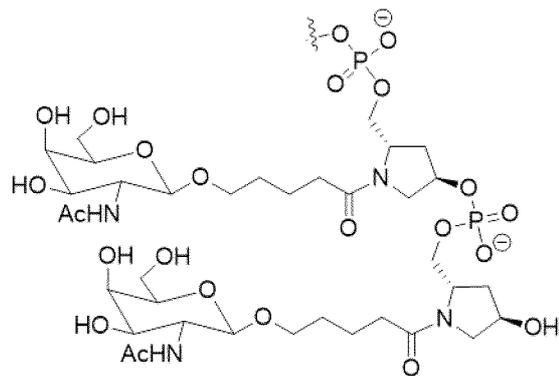
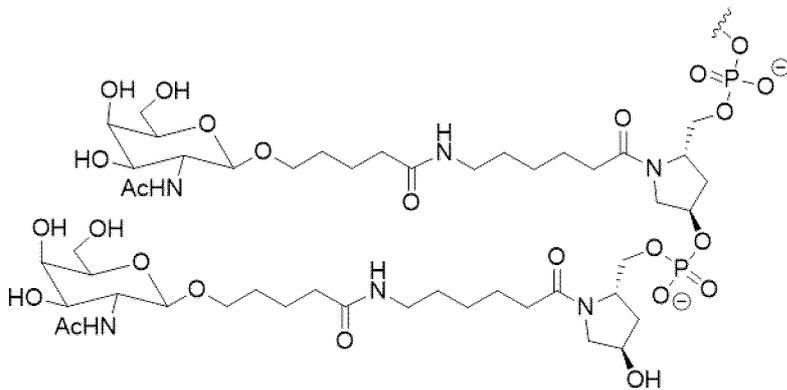


, где X представляет собой O или S (формула XXVII);



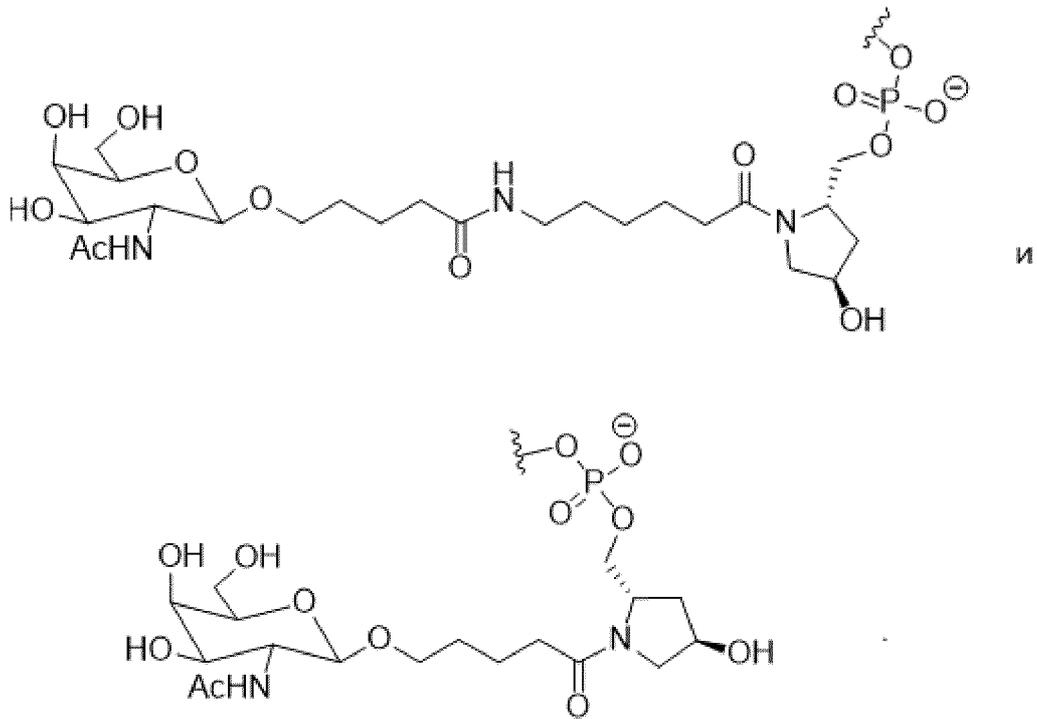
Формула XXVIII; формула

XXIX;

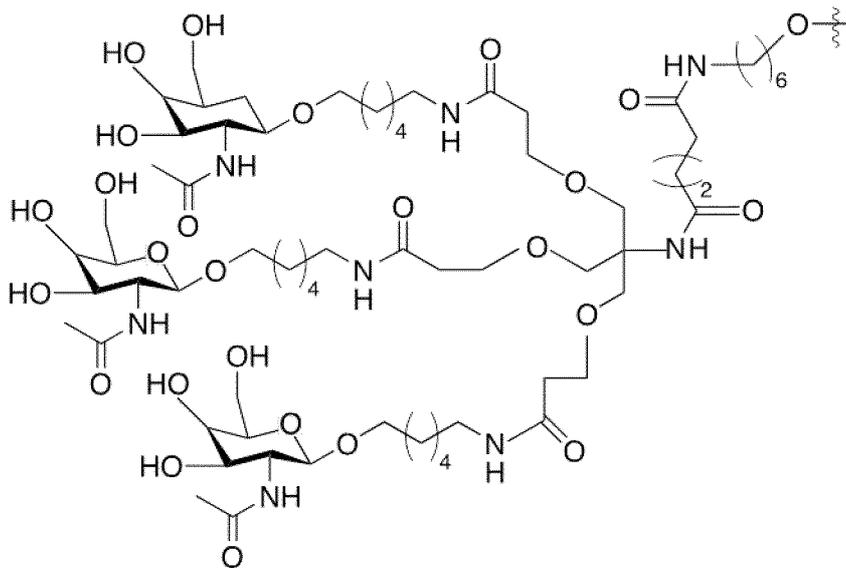


Формула XXX; формула

XXXI;

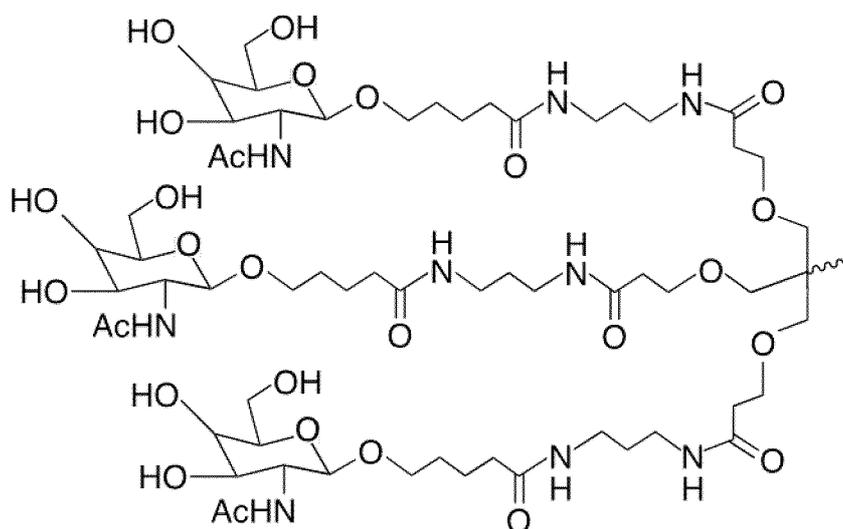


Формула XXXII; формула XXXIII.



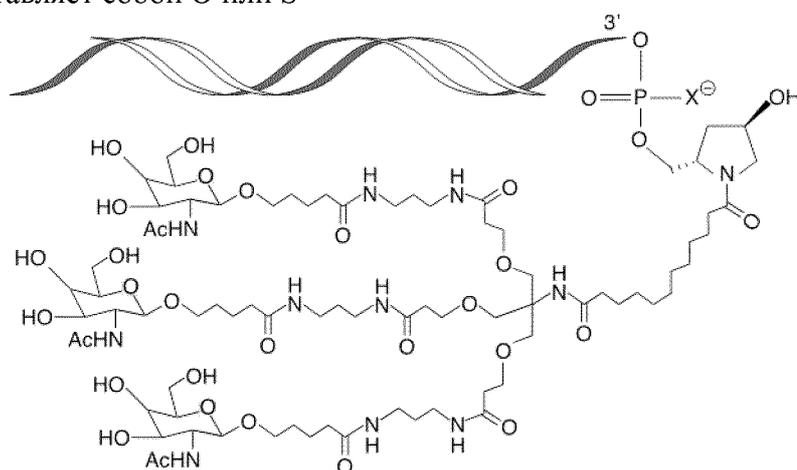
Формула XXXIV.

В другом варианте осуществления, углеводный конъюгат для использования в композициях и способах по настоящему изобретению представляет собой моносахарид. В одном варианте осуществления, моносахарид представляет собой N-ацетилгалактозамин, такой как

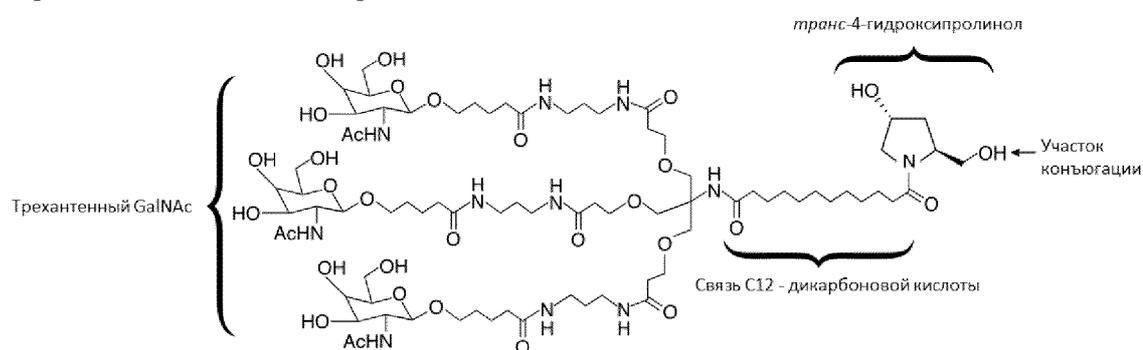


Формула II.

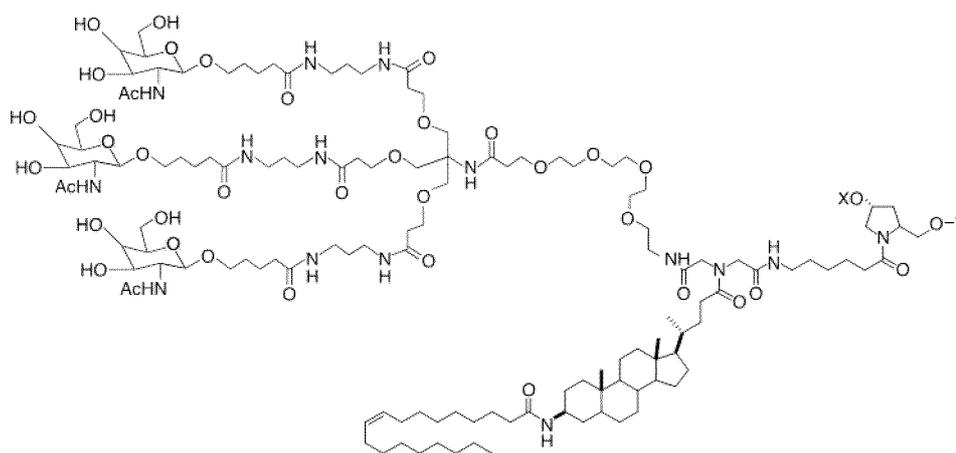
В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи присоединено к углеводному конъюгату посредством линкера, как показано на следующей схеме, где X представляет собой O или S



В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи является конъюгированным с L96, как определено в таблице 1 и показано ниже:



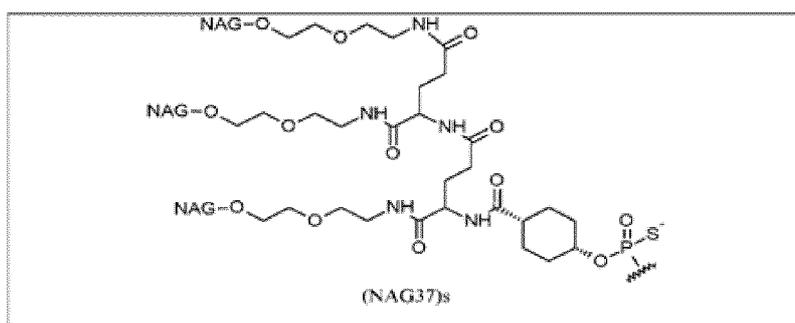
Другой репрезентативный углеводный конъюгат для использования в вариантах осуществления, описанных в настоящем описании включает, но без ограничения,



(формула

XXXVI), когда один из X или Y представляет собой олигонуклеотид, другой представляет собой водород.

В некоторых вариантах осуществления, подходящий лиганд представляет собой лиганд, описанный в WO 2019/055633, полное содержание которого приведено в настоящем описании путем ссылки. В одном варианте осуществления, лиганд содержит структуру ниже:



В конкретных вариантах осуществления изобретения, GalNAc или производное GalNAc присоединены к средству на основе иРНК по настоящему изобретению посредством одновалентного линкера. В некоторых вариантах осуществления, GalNAc или производное GalNAc присоединены к средству на основе иРНК по настоящему изобретению посредством двухвалентного линкера. В других вариантах осуществления изобретения, GalNAc или производное GalNAc присоединены к средству на основе иРНК по настоящему изобретению посредством трехвалентного линкера.

В одном варианте осуществления, двухцепочечные средства для РНКи по настоящему изобретению содержат одно или несколько GalNAc или производных GalNAc, присоединенных к средству на основе иРНК. GalNAc может быть присоединен к любому нуклеотиду, посредством линкера, в смысловой цепи или антисмысловой цепи. GalNAc может быть присоединен к 5'-концу смысловой цепи, 3'-концу смысловой цепи, 5'-концу антисмысловой цепи или 3'-концу антисмысловой цепи. В одном варианте осуществления, GalNAc присоединен к 3'-концу смысловой цепи, например, посредством трехвалентного линкера.

В других вариантах осуществления, двухцепочечные средства для РНКи по настоящему изобретению содержат множество (например, 2, 3, 4, 5 или 6) GalNAc или производных GalNAc, каждые из которых независимо присоединены к множеству нуклеотидов двухцепочечного средства для РНКи посредством множества линкеров, например, одновалентных линкеров.

В некоторых вариантах осуществления, например, когда две цепи средства на основе иРНК по настоящему изобретению являются частями одной большей молекулы, соединенными посредством непрерывной цепи нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, формирующих петлю шпильки, содержащую множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле шпильки может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенные посредством одновалентного линкера.

В некоторых вариантах осуществления, углеводный конъюгат дополнительно содержит один или несколько дополнительных лигандов, как описано выше, таких как, но без ограничения, РК модулятор или пептид для проникновения в клетку.

Дополнительные углеводные конъюгаты и линкеры, подходящие для использования по настоящему изобретению, включают описанные в Публикациях РСТ No. WO 2014/179620 и WO 2014/179627, полное содержание каждого из которых приведено в настоящем описании путем ссылки.

D. Линкеры

В некоторых вариантах осуществления, конъюгат или лиганд, описанные в настоящем описании, могут быть присоединены к олигонуклеотиду иРНК с использованием различных линкеров, которые могут являться расщепляемыми или нерасщепляемыми.

Термин «линкер» или «связывающая группа» обозначает органическую группу, которая соединяет две части соединения, например, ковалентно соединяет две части соединения. Линкеры, как правило, содержат прямую связь или атом, такой как кислород или сера, звено, такое как NR₈, C(O), C(O)NH, SO, SO₂, SO₂NH, или цепь атомов, такую как, но без ограничения, замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный алкенил, замещенный или незамещенный алкинил, арилалкил, арилалкенил, арилалкинил, гетероарилалкил, гетероарилалкенил, гетероарилалкинил, гетероциклилалкил, гетероциклилалкенил, гетероциклилалкинил, арил, гетероарил, гетероциклил, циклоалкил, циклоалкенил, алкиларилалкил, алкиларилалкенил, алкиларилалкинил, алкениларилалкил, алкениларилалкенил, алкениларилалкинил, алкиниларилалкил, алкиниларилалкенил, алкиниларилалкинил, алкилгетероарилалкил, алкилгетероарилалкенил, алкилгетероарилалкинил, алкенилгетероарилалкил, алкенилгетероарилалкенил, алкенилгетероарилалкинил, алкинилгетероарилалкил, алкинилгетероарилалкенил, алкинилгетероарилалкинил, алкилгетероциклилалкил, алкилгетероциклилалкенил, алкилгетероциклилалкинил, алкенилгетероциклилалкил, алкенилгетероциклилалкенил, алкенилгетероциклилалкинил, алкинилгетероциклилалкил,

алкинилгетероциклилалкенил, алкинилгетероциклилалкинил, алкиларил, алкениларил, алкиниларил, алкилгетероарил, алкенилгетероарил, алкинилгетероарил, в котором один или несколько метиленов могут прерываться или оканчиваться O, S, S(O), SO₂, N(R₈), C(O), замещенным или незамещенным арилом, замещенным или незамещенным гетероарилом или замещенным или незамещенным гетероциклом; где R₈ является водородом, ацилом, алифатическим или замещенным алифатическим. В одном варианте осуществления, линкер составляет приблизительно 1-24 атомов, 2-24, 3-24, 4-24, 5-24, 6-24, 6-18, 7-18, 8-18, 7-17, 8-17, 6-16, 7-17 или 8-16 атомов.

Расщепляемая связывающая группа представляет собой группу, которая является достаточно стабильной вне клетки, но которая при проникновении в клетку-мишень расщепляется с высвобождением двух частей, которые линкер удерживает вместе. В одном варианте осуществления, расщепляемая связывающая группа расщепляется в по меньшей мере приблизительно 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или более, или по меньшей мере в 100 раз быстрее в клетке-мишени или при первом эталонном условии (которое можно, например, выбирать для имитации или представления внутриклеточных условий), чем в крови субъекта, или при втором эталонном условии (которое можно, например, выбирать для имитации или представления условий, обнаруженных в крови или сыворотке).

Расщепляемые связывающие группы являются чувствительными к расщепляющим средствам, например, pH, окислительно-восстановительному потенциалу или присутствию вызывающих деградацию молекул. Как правило, расщепляющие средства более распространены или обнаружены на более высоких уровнях или с большей активностью внутри клеток, чем в сыворотке или крови. Примеры таких вызывающих деградацию средств включают: окислительно-восстановительные средства, которые выбирают для конкретных субстратов или которые не имеют субстратной специфичности, включая, например, окисляющие или восстанавливающие ферменты, или восстанавливающие средства, такие как меркаптаны, присутствующие в клетках, которые могут осуществлять деградацию расщепляемой посредством окислительно-восстановительных реакций связывающей группы посредством восстановления; эстеразы; эндосомы или средства, которые могут создавать кислую среду, например, приводящие к pH пять или ниже; ферменты, которые могут осуществлять гидролиз или деградацию расщепляемой посредством кислоты связывающей группы, действуя в качестве универсальной кислоты, пептидазы (которые могут являться специфическими для субстрата) и фосфатазы.

Расщепляемая линкерная группа, такая как дисульфидная связь, может являться чувствительной к pH. pH сыворотки крови человека составляет 7,4, в то время как средний внутриклеточный pH составляет немного меньше, находясь в диапазоне приблизительно 7,1-7,3. Эндосомы имеют более кислый pH, в диапазоне 5,5-6,0, и лизосомы имеют даже более кислый pH около 5,0. Некоторые линкеры могут иметь расщепляемую связывающую группу, которая расщепляется при выбранном pH, таким образом, высвобождая катионный липид из лиганда внутри клетки или в желательный компартмент клетки.

Линкер может включать расщепляемую связывающую группу, которая расщепляется посредством конкретного фермента. Тип расщепляемой связывающей группы, включенной в линкер, может зависеть от клетки, подлежащей нацеливанию. Например, нацеливающий на печень лиганд может быть связан с катионным липидом через линкер, включающий сложноэфирную группу. Клетки печени богаты эстеразами, и таким образом, линкер может расщепляться более эффективно в клетках печени, чем в типах клеток, не богатых для которых не характерно эстеразами. Другие типы клеток, богатые эстеразами, включают клетки легкого, коры почки и яичка.

Линкеры, содержащие пептидные связи, можно использовать при нацеливании на типы клеток, богатые пептидазами, такие как клетки печени и синовиоциты.

Как правило, пригодность расщепляемой связывающей группы-кандидата можно оценивать посредством тестирования способности осуществляющего деградацию средства (или условия) расщеплять эту связывающую группу-кандидата. Может также являться желательным также тестировать расщепляемую линкерную группу-кандидата в отношении способности противостоять расщеплению в крови или при приведении в контакт с другой не являющейся мишенью тканью. Таким образом, можно определять относительную чувствительность к расщеплению между первым и вторым условиями, где первое выбирают в качестве показателя расщепления в клетке-мишени, а второе выбирают в качестве показателя расщепления в других тканях или биологических жидкостях, например, крови или сыворотке. Оценки можно проводить в бесклеточных системах, в клетках, в культуре клеток, в культуре органов или тканей, или в целых организмах животных. Может являться полезным проводить первичные оценки в бесклеточных или культуральных условиях и подтверждать посредством дальнейших оценок в целых организмах животных. В конкретных вариантах осуществления, применимые соединения-кандидаты расщепляются в по меньшей мере приблизительно 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100 раз быстрее в клетке (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внутриклеточных условий), по сравнению с кровью или сывороткой (или условиями *in vitro*, выбранными для имитации внеклеточных условий).

i. Расщепляемые посредством окислительно-восстановительных реакций связывающие группы

В конкретных вариантах осуществления, расщепляемая связывающая группа представляет собой расщепляемую посредством окислительно-восстановительных реакций связывающую группу, которая расщепляется при восстановлении или окислении. Примером расщепляемой при восстановлении связывающей группы является дисульфидная связывающая группа (-S-S-). Для определения того, является ли расщепляемая связывающая группа-кандидат подходящей «расщепляемой при восстановлении связывающей группой», или например, подходящей для использования с конкретной группой иРНК и конкретным нацеливающим средством, можно обратиться к способам, описанным в настоящем описании. Например, кандидата можно оценивать посредством инкубации с дитиотрептолом (DTT) или другим восстанавливающим

средством, с использованием реагентов, известных в данной области, которые имитируют скорость расщепления, которую можно было бы наблюдать в клетке, например, клетке-мишени. Кандидатов можно также оценивать в условиях, выбранных для имитации условий в крови или сыворотке. В одном варианте осуществления, соединения-кандидаты расщепляются на, самое большее, приблизительно 10% в крови. В других вариантах осуществления, применимые соединения-кандидаты подвергаются деградации в по меньшей мере приблизительно 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или приблизительно 100 раз быстрее в клетке (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внутриклеточных условий), по сравнению с кровью (или условиями *in vitro*, выбранными для имитации внеклеточных условий). Скорость расщепления соединений-кандидатов можно определять с использованием стандартных анализов ферментной кинетики в условиях, выбранных для имитации внутриклеточных сред, и сравнивать с условиями, выбранными для имитации внеклеточных сред.

ii. Расщепляемые связывающие группы на основе фосфата

В других вариантах осуществления, расщепляемый линкер содержит расщепляемую связывающую группу на основе фосфата. Расщепляемая связывающая группа на основе фосфата расщепляется средствами, которые осуществляют деградацию или гидролиз фосфатной группы. Примером средства, которое расщепляет фосфатные группы в клетках, являются ферменты, такие как фосфатазы в клетках. Примерами связывающих групп на основе фосфата являются -O-P(O)(ORk)-O-, -O-P(S)(ORk)-O-, -O-P(S)(SRk)-O-, -S-P(O)(ORk)-O-, -O-P(O)(ORk)-S-, -S-P(O)(ORk)-S-, -O-P(S)(ORk)-S-, -S-P(S)(ORk)-O-, -O-P(O)(Rk)-O-, -O-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-O-, -S-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)(Rk)-S-, -O-P(S)(Rk)-S-, где Rk в каждом случае может представлять собой, независимо, C1-C20 алкил, C1-C20 галоалкил, C6-C10 арил или C7-C12 аралкил. Иллюстративные варианты осуществления включают -O-P(O)(OH)-O-, -O-P(S)(OH)-O-, -O-P(S)(SH)-O-, -S-P(O)(OH)-O-, -O-P(O)(OH)-S-, -S-P(O)(OH)-S-, -O-P(S)(OH)-S-, -S-P(S)(OH)-O-, -O-P(O)(H)-O-, -O-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-O-, -S-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-S- и -O-P(S)(H)-S-. В конкретных вариантах осуществления, связывающая группа на основе фосфата представляет собой -O-P(O)(OH)-O-. Этих кандидатов можно оценивать с использованием способов, аналогичных описанным выше.

iii. Расщепляемые кислотой связывающие группы

В других вариантах осуществления, расщепляемый линкер содержит расщепляемую кислотой связывающую группу. Расщепляемая кислотой связывающая группа представляет собой связывающую группу, которая расщепляется в кислых условиях. В конкретных вариантах осуществления, расщепляемые кислотой связывающие группы расщепляются в кислой среде с pH приблизительно 6,5 или ниже (например, приблизительно 6,0, 5,5, 5,0 или ниже), или посредством средств, таких как ферменты, которые могут действовать в качестве универсальной кислоты. В клетке, конкретные органеллы с низким pH, такие как эндосомы и лизосомы, могут обеспечить расщепляющую среду для расщепляемых кислотой связывающих групп. Примеры расщепляемых кислотой

связывающих групп включают, но без ограничения, гидразоны, сложные эфиры и сложные эфиры аминокислот. Расщепляемые кислотой группы могут иметь общую формулу $-C=NN-$, $C(O)O$ или $-OC(O)$. Иллюстративный вариант осуществления представляет собой случай, когда углерод, присоединенный к кислороду сложного эфира (в алкокси-группе), входит в состав арильной группы, замещенной алкильной группы или третичной алкильной группы, такой как диметилпентил или т-бутил. Этих кандидатов можно оценивать с использованием способов, аналогичных описанным выше.

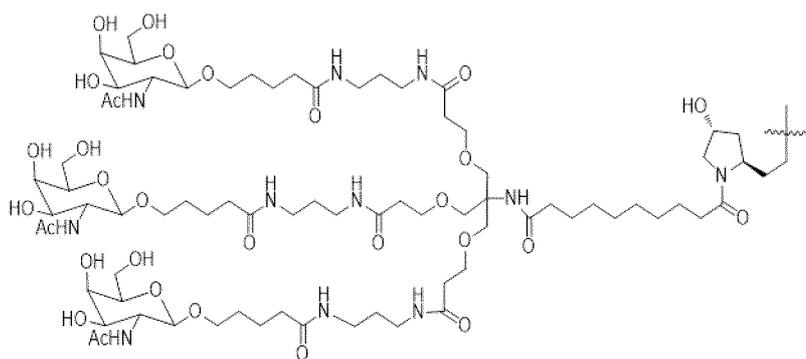
iv. Связывающие группы на основе сложного эфира

В других вариантах осуществления, расщепляемый линкер содержит расщепляемую связывающую группу на основе сложного эфира. Расщепляемая связывающая группа на основе сложного эфира расщепляется ферментами, такими как эстеразы и амидазы, в клетках. Примеры расщепляемых связывающих групп на основе сложного эфира включают, но без ограничения, сложные эфиры с алкиленовыми, алкениленовыми и алкиниленовыми группами. Сложноэфирные расщепляемые связывающие группы имеют общую формулу $-C(O)O-$ или $-OC(O)-$. Этих кандидатов можно оценивать с использованием способов, аналогичных описанным выше.

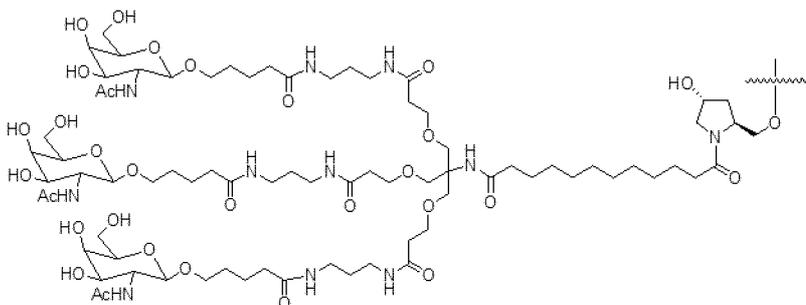
v. Расщепляемые связывающие группы на основе пептида

В других вариантах осуществления, расщепляемый линкер содержит расщепляемую связывающую группу на основе пептида. Расщепляемая связывающая группа на основе пептида расщепляется ферментами, такими как пептидазы и протеазы, в клетках. Расщепляемые связывающие группы на основе пептида представляют собой пептидные связи, образованные между аминокислотами с получением олигопептидов (например, дипептидов, трипептидов и т. д.) и полипептидов. Расщепляемые группы на основе пептида не включают амидную группу ($-C(O)NH-$). Амидная группа может быть образована между любым алкиленом, алкениленом или алкиниленом. Пептидная связь представляет собой специализированный тип амидной связи, образующейся между аминокислотами с образованием пептидов и белков. Расщепляемая группа на основе пептида, как правило, ограничена пептидной связью (т.е., амидной связью), образующейся между аминокислотами с образованием пептидов и белков, и не включает всю амидную функциональную группу. Расщепляемые связывающие группы на основе пептида имеют общую формулу $-NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-$, где RA и RB представляют собой R-группы двух смежных аминокислот. Этих кандидатов можно оценивать с использованием способов, аналогичных описанным выше.

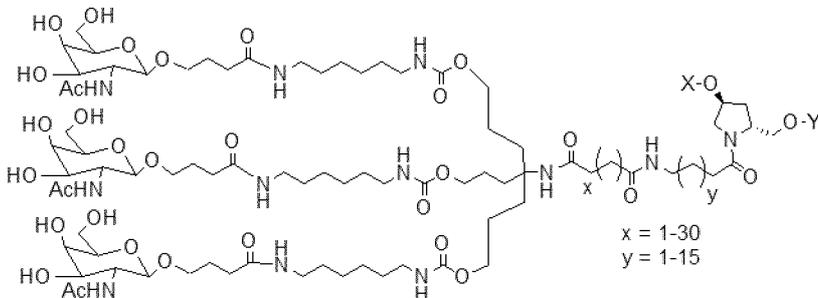
В некоторых вариантах осуществления, иРНК по настоящему изобретению является конъюгированной с углеводом посредством линкера. Неограничивающие примеры углеводных конъюгатов иРНК с линкерами из композиций и способов по настоящему изобретению включают, но без ограничения,



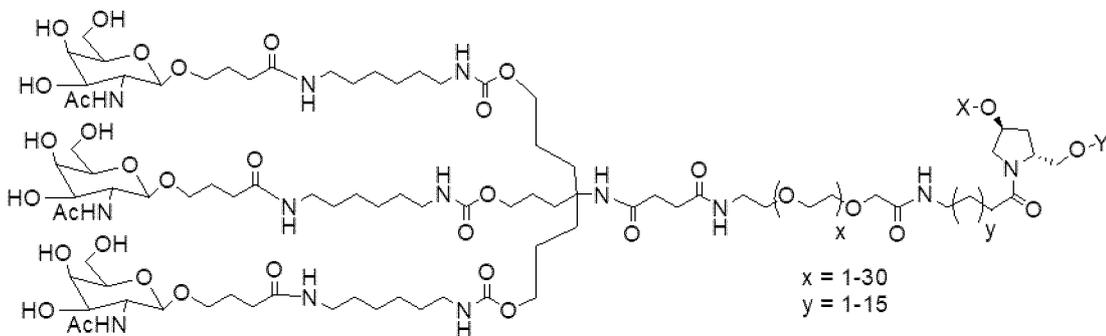
(Формула XXXVII),



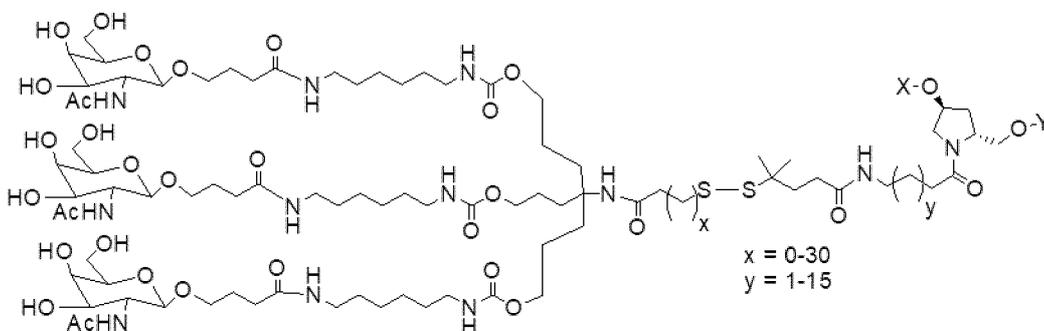
(Формула XXXVIII),



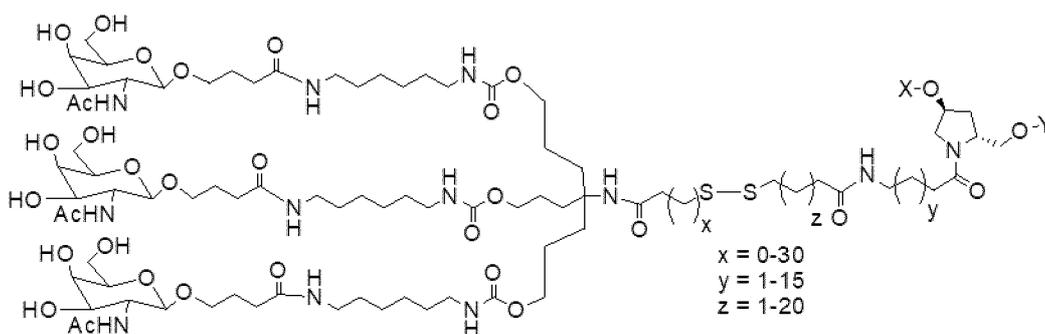
(Формула XXXIX),



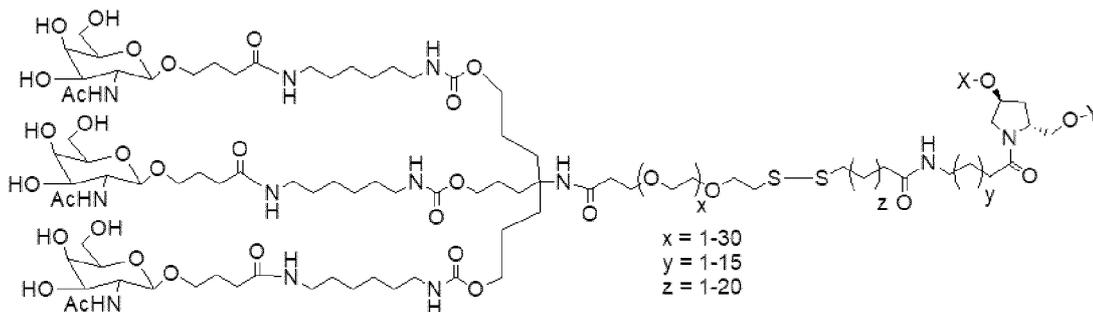
(Формула XL),



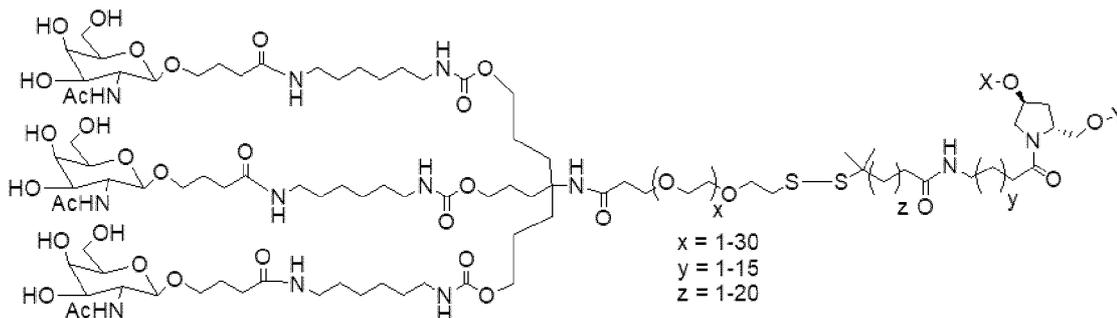
(Формула XLI),



(Формула XLII),



(Формула XLIII) и

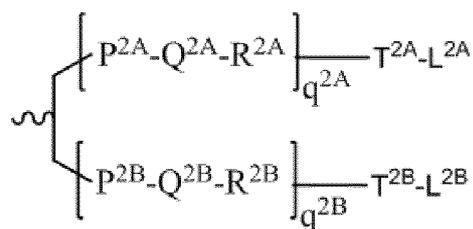


(Формула XLIV), когда один из X или Y представляет собой олигонуклеотид, другой представляет собой водород.

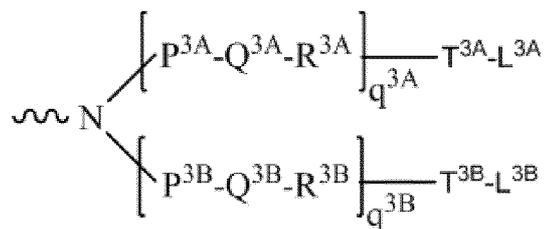
В конкретных вариантах осуществления композиций и способов по настоящему изобретению, лиганд представляет собой одно или несколько производных «GalNAc» (N-ацетилгалактозамина), присоединенных посредством двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера.

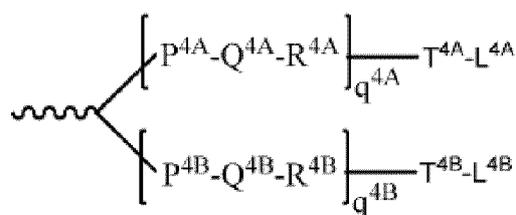
В одном варианте осуществления, дцРНК по настоящему изобретению является конъюгированной с двухвалентным или трехвалентным разветвленным линкером, выбранным из группы структур, показанных в любой из формул (XLV) - (XLVIII):

Формула XLV

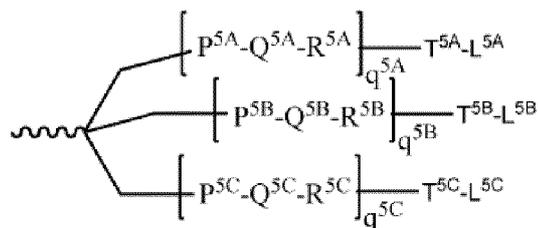


Формула XLVI





или



Формула XLVII

Формула XLVIII;

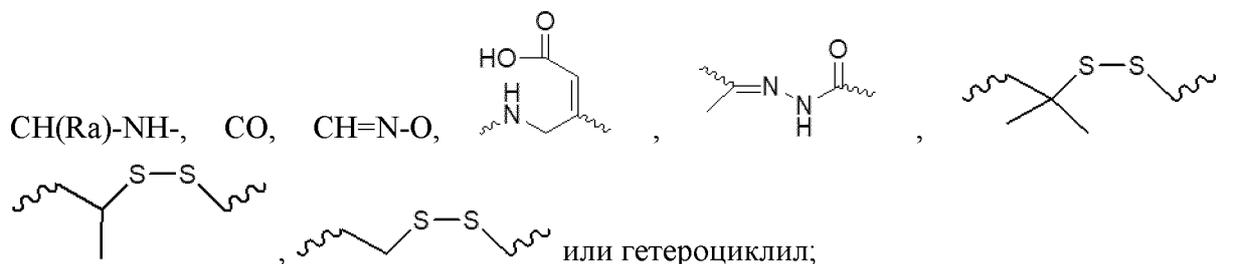
где:

q^{2A} , q^{2B} , q^{3A} , q^{3B} , q^{4A} , q^{4B} , q^{5A} , q^{5B} и q^{5C} независимо для каждого случая представляют собой 0-20, и где повторяющиеся звенья могут являться одинаковыми или различными;

каждый из P^{2A} , P^{2B} , P^{3A} , P^{3B} , P^{4A} , P^{4B} , P^{5A} , P^{5B} , P^{5C} , T^{2A} , T^{2B} , T^{3A} , T^{3B} , T^{4A} , T^{4B} , T^{5A} , T^{5B} , T^{5C} независимо для каждого случая отсутствуют, представляют собой CO, NH, O, S, OC(O), NHC(O), CH₂, CH₂NH или CH₂O;

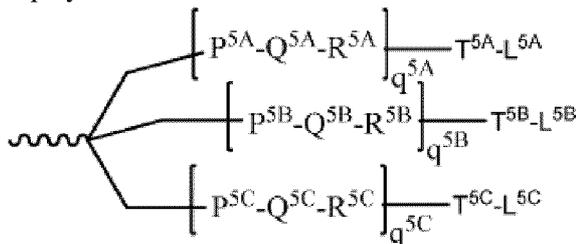
q^{2A} , q^{2B} , q^{3A} , q^{3B} , q^{4A} , q^{4B} , q^{5A} , q^{5B} , q^{5C} независимо для каждого случая отсутствуют, представляют собой алкилен, замещенный алкилен, где один или несколько метиленов могут прерываться или оканчиваться одним или несколькими из O, S, S(O), SO₂, N(RN), C(R')=C(R''), C≡C или C(O);

каждый из R^{2A} , R^{2B} , R^{3A} , R^{3B} , R^{4A} , R^{4B} , R^{5A} , R^{5B} , R^{5C} независимо для каждого случая отсутствуют, представляют собой NH, O, S, CH₂, C(O)O, C(O)NH, NHCH(Ra)C(O), -C(O)-



L^{2A} , L^{2B} , L^{3A} , L^{3B} , L^{4A} , L^{4B} , L^{5A} , L^{5B} и L^{5C} представляют собой лиганд; т.е., каждый, независимо для каждого случая, представляет собой моносахарид (такой как GalNAc), дисахарид, трисахарид, тетрасахарид, олигосахарид или полисахарид; и R^a представляет собой H или боковую цепь аминокислоты. Трехвалентные конъюгирующие производные GalNAc являются особенно полезными для использования со средствами для РНКи для ингибирования экспрессии гена-мишени, такие как с формулой (XLIX):

Формула XLIX



где L^{5A} , L^{5B} и L^{5C} представляют собой моносахарид, такой как производное GalNAc.

Примеры подходящих двухвалентных и трехвалентных разветвленных линкерных групп, конъюгированных с производными GalNAc, включают, но без ограничения, структуры, указанные выше как формулы II, VII, XI, X и XIII.

Репрезентативные Патенты США, в которых объяснено получение конъюгатов РНК, включают, но без ограничения, Патенты США No. 4828979; 4948882; 5218105; 5525465; 5541313; 5545730; 5552538; 5578717, 5580731; 5591584; 5109124; 5118802; 5138045; 5414077; 5486603; 5512439; 5578718; 5608046; 4587044; 4605735; 4667025; 4762779; 4789737; 4824941; 4835263; 4876335; 4904582; 4958013; 5082830; 5112963; 5214136; 5082830; 5112963; 5214136; 5245022; 5254469; 5258506; 5262536; 5272250; 5292873; 5317098; 5371241, 5391723; 5416203, 5451463; 5510475; 5512667; 5514785; 5565552; 5567810; 5574142; 5585481; 5587371; 5595726; 5597696; 5599923; 5599928; 5688941; 6294664; 6320017; 6576752; 6783931; 6900297; 7037646; и 8106022, полное содержание каждого из которых, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

Не является необходимым, чтобы все положения в данном соединении являлись единообразно модифицированными, и фактически, более одной из вышеупомянутых модификаций могут быть включены в одно соединение или даже в один нуклеозид в иРНК. Настоящее изобретение также включает соединения иРНК, представляющие собой химерные соединения.

«Химерные» соединения иРНК или «химеры», в контексте настоящего изобретения, представляют собой соединения иРНК, такие как средства на основе дцРНК, содержащие две или более химически отличающихся области, каждая из которых состоит по меньшей мере из одного мономерного звена, т.е., нуклеотида, в случае соединения дцРНК. Эти иРНК, как правило, содержат по меньшей мере одну область, где РНК модифицирована таким образом, чтобы придавать иРНК увеличенную устойчивость к деградации посредством нуклеазы, увеличенное клеточное поглощение или увеличенную аффинность связывания для нуклеиновой кислоты-мишени. Дополнительная область иРНК может служить в качестве субстрата для ферментов, способных расщеплять гибриды РНК:ДНК или РНК:РНК. В качестве примера, РНКазы H представляет собой клеточную эндонуклеазу, которая расщепляет цепь РНК из дуплекса РНК:ДНК. Активация РНКазы H, таким образом, приводит к расщеплению РНК-мишени, таким образом, сильно увеличивая эффективность ингибирования экспрессии гена посредством иРНК. Следовательно, сравнимые результаты часто можно получать с использованием более коротких иРНК, при использовании химерных дцРНК, по сравнению с фосфоротиоатными дезокси-дцРНК, гибридизующимися с той же самой областью-мишенью. Расщепление РНК-мишени можно общепринятым способом детектировать посредством электрофореза в геле и, при необходимости, связанных способов гибридизации нуклеиновых кислот, известных в данной области.

В конкретных случаях, РНК из иРНК может быть модифицирована посредством не являющейся лигандом группы. Ряд не являющихся лигандами молекул конъюгировали с иРНК для улучшения активности, клеточного распределения или клеточного поглощения иРНК, и способы осуществления такой конъюгации доступны в научной литературе. Такие

не являющиеся лигандами группы имеют включенные липидные группы, такие как холестерин (Kubo, T. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365(1):54-61; Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:6553), холевая кислота (Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053), тиоэфир, например, гексил-S-третилтиол (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306; Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765), тиохолестерин (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533), алифатическая цепь, например, остатки додекандиола или ундецила (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J.*, 1991, 10:111; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49), фосфолипид, например, ди-гексадецил-рац-глицерин или 1,2-ди-О-гексадецил-рац-глицеро-3-Н-фосфонат триэтиламмония (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777), полиаминовая или полиэтиленгликолевая цепь (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969), или адамантануксусная кислота (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651), группа пальмитила (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229), или группа октадециламина или гексиламино-карбонил-оксихолестерина (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923). Репрезентативные Патенты США, в которых объяснено получение таких конъюгатов РНК, были перечислены выше. Типичные протоколы конъюгации включают синтез РНК, несущих аминоклипер в одном или нескольких положениях последовательности. Аминогруппу затем подвергают реакции с молекулой, подвергаемой конъюгации, с использованием подходящих связывающих или активирующих реагентов. Реакцию конъюгации можно проводить либо с использованием РНК, все еще связанной с твердой подложкой, либо после отщепления РНК, в фазе раствора. Очистка конъюгата РНК посредством HPLC, как правило, обеспечивает получение чистого конъюгата.

IV. Доставка иРНК по настоящему изобретению

Доставку иРНК по настоящему изобретению в клетку например, клетку внутри организма субъекта, такого как субъект-человек (например, нуждающийся в этом субъект, такой как субъект, подверженный риску или имеющий диагноз ассоциированного с фактором комплемента В нарушения), можно обеспечивать рядом различных способов. Например, доставку можно проводить посредством приведения клетки в контакт с иРНК по настоящему изобретению либо *in vitro*, либо *in vivo*. Доставку *in vivo* можно также проводить напрямую, посредством введения композиции, содержащей иРНК, например, дцРНК, субъекту. Альтернативно, доставку *in vivo* можно проводить опосредованно, посредством введения одного или нескольких векторов, кодирующих и управляющих экспрессией иРНК. Эти альтернативы дополнительно обсуждают ниже.

В общем, любой способ доставки молекулы нуклеиновой кислоты (*in vitro* или *in vivo*) можно адаптировать для использования с иРНК по настоящему изобретению (см., например, Akhtar S. and Julian RL. (1992) *Trends Cell. Biol.* 2(5):139-144 и WO94/02595, полное содержание которых приведено в настоящем описании путем ссылки). В случае доставки *in vivo*, факторы, которые необходимо учитывать для доставки молекулы иРНК, включают, например, биологическую стабильность доставляемой молекулы,

предотвращение неспецифических эффектов и накопление доставляемой молекулы в ткани-мишени. Показан также успех РНК-интерференции с использованием местной доставки в ЦНС посредством прямой инъекции (Dorn, G., *et al.* (2004) *Nucleic Acids* 32:e49; Tan, PH., *et al.* (2005) *Gene Ther.* 12:59-66; Makimura, H., *et al.* (2002) *BMC Neurosci.* 3:18; Shishkina, GT., *et al.* (2004) *Neuroscience* 129:521-528; Thakker, ER., *et al.* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:17270-17275; Akaneya, Y., *et al.* (2005) *J. Neurophysiol.* 93:594-602). Модификация РНК или фармацевтического носителя также может позволять нацеливание иРНК на ткань-мишень и исключать нежелательные нецелевые эффекты. Молекулы иРНК можно модифицировать посредством химической конъюгации с липофильными группами, такими как холестерин, для усиления клеточного поглощения и предотвращения деградации. Например, иРНК, нацеленную против АроВ, конъюгированную с липофильной группой холестерина, системно инъецировали мышам, и получали в результате нокдаун мРНК ароВ, как в печени, так и в тощей кишке (Soutschek, J., *et al.* (2004) *Nature* 432:173-178).

В альтернативном варианте осуществления, иРНК можно доставлять с использованием систем доставки лекарственных средств, таких как наночастица, дендример, полимер, липосомы или катионная система доставки. Положительно заряженные катионные системы доставки облегчают связывание молекулы иРНК (отрицательно заряженной) и также усиливают взаимодействия на отрицательно заряженной клеточной мембране для обеспечения возможности эффективного поглощения иРНК клеткой. Катионные липиды, дендримеры или полимеры можно либо связывать с иРНК, либо индуцировать для формирования везикулы или мицеллы (см., например, Kim SH, *et al.* (2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116), которые инкапсулируют иРНК. Формирование везикул или мицелл дополнительно предотвращает деградацию иРНК при системном введении. Способы получения и введения комплексов катионы-иРНК полностью находятся в компетенции специалиста в данной области (см., например, Sorensen, DR, *et al.* (2003) *J. Mol. Biol* 327:761-766; Verma, UN, *et al.* (2003) *Clin. Cancer Res.* 9:1291-1300; Arnold, AS *et al.* (2007) *J. Hypertens.* 25:197-205, полное содержание которых приведено в настоящем описании путем ссылки). Некоторые неограничивающие примеры систем доставки лекарственных средств, которые можно использовать для системной доставки иРНК, включают DOTAP (Sorensen, DR., *et al.* (2003), выше; Verma, UN, *et al.* (2003), выше), «твердые частицы нуклеиновой кислоты-липиды» (Zimmermann, TS, *et al.* (2006) *Nature* 441:111-114), кардиолипид (Chien, PY, *et al.* (2005) *Cancer Gene Ther.* 12:321-328; Pal, A, *et al.* (2005) *Int J. Oncol.* 26:1087-1091), полиэтиленимин (Bonnet ME, *et al.* (2008) *Pharm. Res.* Aug 16 Epub ahead of print; Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 71659), пептиды Arg-Gly-Asp (RGD) (Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.* 3:472-487) и полиамидамины (Tomalia, DA, *et al.* (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67; Yoo, H., *et al.* (1999) *Pharm. Res.* 16:1799-1804). В некоторых вариантах осуществления, иРНК формирует комплекс с циклодекстрином для системного введения. Способы введения и фармацевтические

композиции иРНК и циклодекстринов можно обнаружить в Патенте США No. 7427605, полное содержание которого приведено в настоящем описании путем ссылки.

А. Вектор, кодирующий иРНК по настоящему изобретению

иРНК, нацеливающую на ген фактора комплемента В, можно экспрессировать с транскрипционных единиц, вставленных в ДНК- или РНК-векторы (см., например, Couture, A, *et al.*, TIG. (1996), 12:5-10; Skillern, A, *et al.*, Международная публикация PCT No. WO 00/22113, Conrad, Международная публикация PCT No. WO 00/22114, и Conrad, Патент США No. 6054299). Экспрессия может являться временной (порядка от нескольких часов до нескольких недель) или стабильной (от нескольких недель до нескольких месяцев или дольше), в зависимости от конкретной используемой конструкции и ткани или типа клеток - мишени. Эти трансгены можно вводить в форме линейной конструкции, кольцевой плазмиды или вирусного вектора, который может представлять собой интегрирующий или неинтегрирующий вектор. Трансген можно также конструировать, чтобы позволять его наследование в форме внехромосомной плазмиды (Gassmann, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1995) 92:1292).

Вирусные векторные системы, которые можно использовать со способами и композициями, описанными в настоящем описании, включают, но без ограничения, (a) аденовирусные векторы; (b) ретровирусные векторы, включая, но без ограничения, лентивирусные векторы, вирус лейкоза мышей Молони и т.д.; (c) аденоассоциированные вирусные векторы; (d) векторы на основе вируса простого герпеса; (e) векторы SV 40; (f) векторы на основе вируса полиомы; (g) векторы на основе вируса папилломы; (h) пикорнавирусные векторы; (i) поксвирусные векторы, такие как ортопоксвирусные, например, векторы на основе вируса осповакцины или авипоксвирусные, например, на основе оспы канареек или оспы кур; и (j) зависимый от помощника или выпотрошенный аденовирус. Дефектные по репликации вирусы также могут обеспечивать преимущество. Различные векторы могут или не могут становиться встроенными в геном клетки. Конструкции могут включать вирусные последовательности для трансфекции, если желательно. Альтернативно, конструкция может быть вставлена в векторы, способные к эпизомной репликации, например, векторы EPV и EBV. Конструкции для рекомбинантной экспрессии иРНК могут, как правило, требовать регуляторных элементов, например, промоторов, энхансеров и т.д., для обеспечения экспрессии иРНК в клетках-мишенях. Другие аспекты, которые необходимо учитывать для векторов и конструкций, известны в данной области.

V. Фармацевтические композиции по настоящему изобретению

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям и составам, включающим иРНК по настоящему изобретению. В одном варианте осуществления, настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим иРНК, как описано в настоящем описании, и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтические композиции, содержащие иРНК, можно использовать для предотвращения или лечения ассоциированного с фактором комплемента В нарушения.

Такие фармацевтические композиции формулируют на основании способа доставки. Одним примером являются композиции, сформулированные для системного введения посредством парентеральной доставки, например, посредством подкожной (SC), внутримышечной (IM) или внутривенной (IV) доставки. Фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно вводить в дозах, достаточных для ингибирования экспрессии гена фактора комплемента В.

В некоторых вариантах осуществления, фармацевтические композиции по настоящему изобретению являются стерильными. В другом варианте осуществления, фармацевтические композиции по настоящему изобретению являются свободными от пирогенов.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно вводить в дозах, достаточных для ингибирования экспрессии гена фактора комплемента В. Как правило, подходящая доза иРНК по настоящему изобретению может лежать в диапазоне от приблизительно 0,001 до приблизительно 200,0 миллиграмм на килограмм массы тела реципиента в сутки, как правило, в диапазоне приблизительно 1-50 мг на килограмм массы тела в сутки. Как правило, подходящая доза иРНК по настоящему изобретению может лежать в диапазоне от приблизительно 0,1 мг/кг до приблизительно 5,0 мг/кг, например, между приблизительно 0,3 мг/кг и приблизительно 3,0 мг/кг. Режим повторяющихся доз может включать введение терапевтического количества иРНК на регулярной основе, например, каждый месяц, один раз в каждые 3-6 месяцев, или один раз в год. В конкретных вариантах осуществления, иРНК вводят от приблизительно одного раза в месяц до приблизительно одного раза в шесть месяцев.

После начального режима лечения, сеансы лечения можно проводить на менее частой основе. Длительность лечения можно определять на основании тяжести заболевания.

В других вариантах осуществления, однократная доза фармацевтических композиций может оказывать длительное действие, так что такие дозы вводят с интервалами не более, чем 1, 2, 3 или 4 месяца. В некоторых вариантах осуществления изобретения, однократную дозу фармацевтических композиций по настоящему изобретению вводят приблизительно один раз в месяц. В других вариантах осуществления изобретения, однократную дозу фармацевтических композиций по настоящему изобретению вводят один раз в квартал (т.е., приблизительно каждые три месяца). В других вариантах осуществления изобретения, однократную дозу фармацевтических композиций по настоящему изобретению вводят два раза в год (т.е., приблизительно один раз в каждые шесть месяцев).

Специалисту в данной области понятно, что конкретные факторы могут влиять на дозировку и расписание, необходимые для эффективного лечения субъекта, включая, но без ограничения, мутации, присутствующие у субъекта, предшествующие виды лечения, общее состояние здоровья или возраст субъекта и присутствующие другие заболевания. Кроме того, лечение субъекта с использованием профилактически или терапевтически

эффективного количества композиции, по необходимости, может включать однократный сеанс лечения или серии сеансов лечения.

иРНК можно доставлять таким способом, чтобы осуществлять нацеливание на конкретную ткань (например, гепатоциты).

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают, но без ограничения, растворы, эмульсии и содержащие липосомы составы. Эти композиции можно получать из множества компонентов, которые включают, но без ограничения, предварительно образованные жидкости, самоэмульгирующиеся твердые вещества и самоэмульгирующиеся полутвердые вещества. Составы включают составы, нацеленные на печень.

Фармацевтические составы по настоящему изобретению, которые можно удобным образом представлять в единичной дозированной форме, можно получать в соответствии с общепринятыми способами, хорошо известными в фармацевтической промышленности. Такие способы включают стадию объединения активных ингредиентов с фармацевтическим носителем(ями) или наполнителем(ями). Как правило, составы получают посредством равномерного и тщательного объединения активных ингредиентов с жидкими носителями.

A. Дополнительные составы

i. Эмульсии

Композиции по настоящему изобретению можно получать и составлять в форме эмульсий. Эмульсии, как правило, представляют собой гетерогенные системы одной жидкости, диспергированной в другой в форме капель, обычно превышающих 0,1 мкм в диаметре (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 245; Block in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 2, p. 335; Higuchi et al., in Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 301). Эмульсии часто представляют собой двухфазные системы, включающие две несмешиваемые жидкие фазы, тщательно перемешанные и диспергированные друг в друге. Как правило, эмульсии могут представлять собой вариант либо вода-в-масле (w/o), либо масло-в-воде (o/w). Когда водная фаза является тонко измельченной и диспергированной в форме мелких капель в основной масляной фазе, полученную композицию называют эмульсией вода-в-масле (w/o). Альтернативно, когда масляная фаза является тонко измельченной и диспергированной в форме мелких капель в основной водной фазе, полученную композицию называют эмульсией масло-в-воде (o/w) (o/w). Эмульсии могут содержать дополнительные компоненты, в дополнение к диспергированным фазам, и активное лекарственное средство, которое может присутствовать в форме раствора либо в водной фазе, либо в масляной фазе,

либо само по себе в форме отдельной фазы. Фармацевтические наполнители, такие как эмульгаторы, стабилизаторы, красители и антиоксиданты, также могут присутствовать в эмульсиях, по необходимости. Фармацевтические эмульсии могут также представлять собой гетерогенные эмульсии, состоящие из более чем двух фаз, например, такие как в случае эмульсий масло-в-воде-в-масле (o/w/o) и вода-в-масле-в-воде (w/o/w). Такие сложные составы часто обеспечивают конкретные преимущества, которых нет у простых двойных эмульсий. Гетерогенные эмульсии, в которых индивидуальные масляные капли эмульсии o/w заключают мелкие водные капли, составляют эмульсию w/o/w. Подобным образом, система масляных капель, заключенная в глобулы воды, стабилизированные в непрерывной масляной фазе, обеспечивает эмульсию o/w/o.

Эмульсии характеризуются малой или отсутствующей термодинамической стабильностью. Часто диспергированная или дискретная фаза эмульсии хорошо диспергирована во внешней или непрерывной фазе и поддерживается в этой форме посредством эмульгаторов или вязкости состава. Другие способы стабилизации эмульсий предусматривают использование эмульгаторов, которые могут быть включены в любую фазу эмульсии. Эмульгаторы можно в широком смысле классифицировать на четыре категории: синтетические поверхностно-активные вещества, природные эмульгаторы, абсорбирующие основы и мелкодисперсные твердые вещества (см., например, Ansel's *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

Синтетические сурфактанты, также известные как поверхностно-активные вещества, нашли широкое применение в формулировании эмульсий и обзорно описаны в литературе (см., например, Ansel's *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rieger, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285; Idson, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, volume 1, p. 199). Поверхностно-активные вещества, как правило, являются амфифильными и содержат гидрофильную и гидрофобную часть. Соотношение гидрофильного и гидрофобного характера поверхностно-активного вещества обозначено как гидрофильный/липофильный баланс (HLB) и является ценным инструментом категоризации и выбора поверхностно-активных веществ при получении составов. Поверхностно-активные вещества можно классифицировать на различные классы на основе характера их гидрофильной группы: неионные, анионные, катионные и амфотерные (см., например, Ansel's *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rieger, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285).

Широкое разнообразие неэмульгирующих материалов также включают в составы эмульсий, и они вносят вклад в свойства эмульсий. Они включают жиры, масла, воски, жирные кислоты, жирные спирты, сложные эфиры жирных кислот, увлажнители, гидрофильные коллоиды, консерванты и антиоксиданты (Block, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335; Idson, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

Обзор применения эмульсионных составов посредством дерматологических, пероральных и парентеральных способов, и способов их изготовления приведен в литературе (см., например, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

ii. Микроэмульсии

В одном варианте осуществления настоящего изобретения, композиции иРНК и нуклеиновых кислот формулируют в форме микроэмульсий. Микроэмульсию можно определять как систему воды, масла и амфифильного средства, которая представляет собой единый оптически изотропный и термодинамически стабильный жидкий раствор (см., например, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245). Как правило, микроэмульсии представляют собой системы, которые получают посредством сначала диспергирования масла в водном растворе поверхностно-активного вещества и затем добавления достаточного количества четвертого компонента, как правило, спирта с промежуточной длиной цепи, с формированием прозрачной системы. Таким образом, микроэмульсии также описывают как термодинамически стабильные, изотропно прозрачные дисперсии двух несмешиваемых жидкостей, которые стабилизированы межфазными пленками поверхностно-активных молекул (Leung and Shah, in: *Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems*, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, pages 185-215).

iii. Микрочастицы

иРНК по настоящему изобретению можно включать в частицу, например, микрочастицу. Микрочастицы можно получать посредством сушки распылением, но можно также получать посредством других способов, включая лиофилизацию, выпаривание, сушку в псевдооживленном слое, сушку в вакууме или комбинацию этих способов.

iv. Усилители проницаемости

В одном варианте осуществления, по настоящему изобретению используют различные усилители проницаемости для обеспечения эффективной доставки нуклеиновых кислот, в частности, иРНК, в кожу животных. Большинство лекарственных средств

присутствуют в растворе как в ионизированной, так и в неионизированной форме. Однако, обычно только растворимые в липидах или липофильные лекарственные средства легко пересекают клеточные мембраны. Обнаружено, что даже нелипофильные лекарственные средства могут пересекать клеточные мембраны, если мембрана, подлежащая пересечению, обработана усилителем проницаемости. В дополнение к поддержке диффузии нелипофильных лекарственных средств через клеточные мембраны, усилители проницаемости также усиливают проникновение липофильных лекарственных средств.

Усилители проницаемости можно классифицировать как принадлежащие к одной из пяти широких категорий, т.е. к поверхностно-активным веществам, жирным кислотам, солям желчных кислот, хелатирующим агентам и средствам, не являющимся ни хелатирующими, ни поверхностно-активными веществами (см., например, Malmsten, M. *Surfactants and polymers in drug delivery*, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee *et al.*, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, p.92). Каждый из вышеупомянутых классов усилителей проницаемости и их применение в изготовлении фармацевтических композиций и доставке лекарственных средств хорошо известны в данной области.

v. Наполнители

В отличие от соединения-носителя, «фармацевтический носитель» или «наполнитель» представляет собой фармацевтически приемлемый растворитель, суспендирующее средство или любой другой фармакологически инертный носитель для доставки одной или нескольких нуклеиновых кислот животному. Наполнитель может являться жидким или твердым, и его выбирают с учетом планируемого способа введения, так чтобы обеспечивать желательный объем, консистенцию и т.д., при объединении с нуклеиновой кислотой и другими компонентами данной фармацевтической композиции. Такие средства хорошо известны в данной области.

vi. Другие компоненты

Композиции по настоящему изобретению могут дополнительно содержать другие вспомогательные компоненты, обычно обнаруживаемые в фармацевтических композициях, на уровнях, установленных в данной области для их использования. Таким образом, например, композиции могут содержать дополнительные, совместимые, фармацевтически активные материалы, например, такие как, противозудные средства, вяжущие средства, местные анестетики или противовоспалительные средства, или могут содержать дополнительные материалы, которые можно использовать для физического формулирования различных лекарственных форм композиций по настоящему изобретению, такие как красители, вкусоароматические средства, консерванты, антиоксиданты, замутняющие средства, загустители и стабилизаторы. Однако, такие материалы при добавлении не должны оказывать чрезмерное влияние на биологическую активность компонентов композиций по настоящему изобретению. Составы можно стерилизовать и, если желательно, смешивать с вспомогательными средствами, например, смазывающими средствами, консервантами, стабилизаторами, увлажняющими средствами,

эмульгаторами, солями для влияния на осмотическое давление, буферами, окрашивающими средствами, вкусовыми или ароматическими веществами, и т.п., которые не вступают в неблагоприятное взаимодействие с нуклеиновой кислотой(ами) состава.

Водные суспензии могут содержать вещества, которые увеличивают вязкость суспензии включая, например, карбоксиметилцеллюлозу натрия, сорбит или декстран. Суспензия может также содержать стабилизаторы.

В некоторых вариантах осуществления, фармацевтической композиции, признаки которых раскрыты по настоящему изобретению, включают (a) одну или несколько иРНК и (b) одно или несколько средств, которые функционируют посредством механизма, не относящегося к иРНК, и которые можно использовать в лечении ассоциированного с фактором комплемента В нарушения.

Токсичность и профилактическую эффективность таких соединений можно определять посредством стандартных фармацевтических способов в культурах клеток или у экспериментальных животных, например, для определения LD50 (дозы, летальной для 50% популяции) и ED50 (дозы, профилактически эффективной в 50% популяции). Соотношение доз между токсическими и терапевтическими эффектами представляет собой терапевтический индекс, и может быть выражено как отношение LD50/ED50. Соединения, для которых показаны высокие терапевтические индексы, являются предпочтительными.

Данные, полученные в анализах культур клеток и в исследованиях на животных, можно использовать для формулирования диапазона доз для применения у человека. Доза композиций, признаки которых раскрыты в настоящем описании, по настоящему изобретению, как правило, лежит в пределах диапазона циркулирующих концентраций, который включает ED50, такой как, ED80 или ED90, с низкой или отсутствующей токсичностью. Дозу можно менять в рамках этого диапазона, в зависимости от используемой лекарственной формы и используемого способа введения. Для любого соединения, используемого в способах, признаки которых раскрыты по настоящему изобретению, профилактически эффективную дозу можно первоначально оценивать по анализам культур клеток. Дозу можно формулировать в моделях на животных для достижения диапазона циркулирующих концентраций в плазме соединения или, когда это применимо, полипептидного продукта последовательности-мишени (например, достижения уменьшенной концентрации полипептида), который включает IC50 (т.е. концентрацию тестируемого соединения, при которой достигают половины максимального ингибирования симптомов), или более высоких уровней ингибирования, как определено в культуре клеток. Такую информацию можно использовать для более точного определения применимых доз для человека. Уровни в плазме можно измерять, например, посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В дополнение к их введению, как обсуждают выше, иРНК, признаки которых раскрыты по настоящему изобретению, можно вводить в комбинации с другими известными средствами, используемыми для предотвращения или лечения ассоциированного с фактором комплемента В нарушения. В любом случае, терапевт,

осуществляющий введение, может корректировать количество и расписание введения иРНК на основании результатов, наблюдаемых при использовании стандартных измерений эффективности, известных в данной области или описанных в настоящем описании.

VI. Способы ингибирования экспрессии фактора комплемента В

Настоящее изобретение также относится к способам ингибирования экспрессии гена СFB в клетке. Способы включают приведение в контакт клетки с средством для РНКи, например, средством на основе двухцепочечной РНК, в количестве, эффективном для ингибирования экспрессии СFB в клетке, таким образом, ингибирование экспрессии СFB в клетке.

Приведение в контакт клетки с иРНК, например, средством на основе двухцепочечной РНК, можно осуществлять *in vitro* или *in vivo*. Приведение в контакт клетки *in vivo* с иРНК включает приведение в контакт клетки или группы клеток внутри организма субъекта, например, субъекта-человека, с иРНК. Комбинации способов приведения в контакт клетки *in vitro* и *in vivo* также являются возможными. Приведение в контакт клетки может являться прямым или опосредованным, как обсуждают выше. Кроме того, приведение в контакт клетки можно осуществлять посредством нацеливающего лиганда, включая любой лиганд, описанный в настоящем описании или известный в данной области. В конкретных вариантах осуществления, нацеливающий лиганд представляет собой углеводную группу, например, лиганд GalNAc, или любой другой лиганд, направляющий средство для РНКи к представляющему интерес участку.

Термин «ингибирование», в рамках изобретения, использован взаимозаменяемо с «уменьшением», «сайленсингом», «понижающей регуляцией», «супрессией» и другими сходными терминами, и включает любой уровень ингибирования.

Фраза «ингибирование экспрессии гена фактора комплемента В» предназначена для обозначения ингибирования экспрессии любого гена фактора комплемента В (например, такого как ген фактора комплемента В мыши, ген фактора комплемента В крысы, ген фактора комплемента В обезьяны или ген фактора комплемента В человека), так же как вариантов или мутантов гена фактора комплемента В. Таким образом, ген фактора комплемента В может представлять собой ген фактора комплемента В дикого типа, мутантный ген фактора комплемента В или трансгенный ген фактора комплемента В, в контексте подвергнутых генетической манипуляции клетки, группы клеток или организма.

«Ингибирование экспрессии гена фактора комплемента В» включает любой уровень ингибирования гена фактора комплемента В, например, по меньшей мере частичную супрессию экспрессии гена фактора комплемента В, такую как клинически значимый уровень супрессии. Экспрессию гена фактора комплемента В можно оценивать на основании уровня, или изменения уровня, любой переменной, ассоциированной с экспрессией гена фактора комплемента В, например, уровня мРНК фактора комплемента В или уровня белка фактора комплемента В, или, например, CH_{50} активности как общего гемолитического показателя комплемента, AH_{50} для измерения гемолитической активности альтернативного пути комплемента, или уровней лактатдегидрогеназы (LDH) как

показателя внутрисосудистого гемолиза, или уровней гемоглобина. Уровни C3, C9, C5, C5a, C5b и растворимого комплекса C5b-9 можно также измерять для оценки экспрессии CFB. Ингибирование можно оценивать по уменьшению абсолютного или относительного уровня одной или нескольких из этих переменных, по сравнению с контрольным уровнем. Этот уровень можно оценивать в индивидуальной клетке или в группе клеток, включая, например, образец, происходящий от субъекта. Понятно, что фактор комплемента В экспрессируется преимущественно в печени и представлен в кровотоке.

Ингибирование можно оценивать по уменьшению абсолютного или относительного уровня одной или нескольких переменных, ассоциированных с экспрессией фактора комплемента В, по сравнению с контрольным уровнем. Контрольный уровень может представлять собой любой тип контрольного уровня, который используют в данной области, например, исходный уровень до дозирования или уровень, определенный для сходных субъекта, клетки или образца, которые не были обработаны или были подвергнуты контрольной обработке (например, такой как контроль только с буфером или контроль с неактивным средством).

В некоторых вариантах осуществления способов по настоящему изобретению, экспрессия гена фактора комплемента В ингибирована на по меньшей мере 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%, или до значения ниже уровня детекции анализа. В конкретных вариантах осуществления, экспрессия гена фактора комплемента В ингибирована на по меньшей мере 70%. Кроме того, понятно, что может являться желательным ингибирование экспрессии фактора комплемента В в конкретных тканях, например, в желчном пузыре, без значительного ингибирования экспрессии в других тканях, например, головном мозге. В конкретных вариантах осуществления, уровень экспрессии определяют с использованием способа анализа, представленного в примере 2, с использованием концентрации миРНК 10 нМ, в подходящей линии клеток совпадающего вида.

В конкретных вариантах осуществления, ингибирование экспрессии *in vivo* определяют посредством нокдауна гена человека у грызуна, экспрессирующего человеческий ген, например, инфицированной AAV мыши, экспрессирующей ген-мишень человека (т.е., фактор комплемента В), например, при введении в форме однократной дозы, например, при 3 мг/кг, в низшей точке экспрессии РНК. Нокдаун экспрессии эндогенного гена в модельной системе на животном можно также определять, например, после введения однократной дозы, например, при 3 мг/кг, в низшей точке экспрессии РНК. Такие системы являются полезными, когда последовательность нуклеиновой кислоты гена человека и гена модельного животного являются достаточно близкими, так что иРНК человека обеспечивает эффективный нокдаун гена модельного животного. Экспрессию РНК в печени определяют с использованием способов ПЦР, представленных в примере 2.

Ингибирование экспрессии гена фактора комплемента В может проявляться уменьшением количества мРНК, экспрессированной первой клеткой или группой клеток (такие клетки могут присутствовать, например, в образце, происходящем от субъекта), в

которой транскрибируется ген фактора комплемента В, и которая была или были обработаны (например, посредством приведения в контакт клетки или клеток с иРНК по настоящему изобретению, или посредством введения иРНК по настоящему изобретению субъекту, в организме которого клетки присутствуют или присутствовали) таким образом, что экспрессия гена фактора комплемента В ингибирована, по сравнению с второй клеткой или группой клеток, которая по существу идентична первой клетке или группе клеток, но которая не была или не были обработаны таким образом (контрольная клетка(и), не обработанная с использованием иРНК или не обработанная с использованием иРНК, нацеленной на представляющий интерес ген). В конкретных вариантах осуществления, ингибирование оценивают посредством способа, представленного в примере 2, с использованием концентрации миРНК 10 нМ, в линии клеток совпадающего вида, и выражения уровня мРНК в обработанных клетках как процент от уровня мРНК в контрольных клетках, с использованием следующей формулы:

$$\frac{(\text{мРНК в контрольных клетках}) - (\text{мРНК в обработанных клетках})}{(\text{мРНК в контрольных клетках})} \cdot 100\%$$

В других вариантах осуществления, ингибирование экспрессии гена фактора комплемента В можно оценивать в отношении уменьшения параметра, который является функционально связанным с экспрессией гена фактора комплемента В, например, уровня белка фактора комплемента В в крови или сыворотке от субъекта. Сайленсинг гена фактора комплемента В можно определять в любой клетке, экспрессирующей фактор комплемента В, либо эндогенный, либо гетерологичный с экспрессирующей конструкции, и посредством любого анализа, известного в данной области.

Ингибирование экспрессии белка фактора комплемента В может проявляться уменьшением уровня белка фактора комплемента В, экспрессированного клеткой или группой клеток, или в образце от субъекта (например, уровня белка в образце крови, происходящем от субъекта). Как объяснено выше, для оценки супрессии мРНК, ингибирование уровней экспрессии белка в обработанной клетке или группе клеток можно сходным образом выражать как процент от уровня белка в контрольной клетке или группе клеток, или изменение уровня белка в образце от субъекта, например, происходящих от него крови или сыворотке.

Контрольные клетка, группа клеток или образец от субъекта, которые можно использовать для оценки ингибирования экспрессии гена фактора комплемента В, включают клетку, группу клеток или образец от субъекта, которые еще не были приведены в контакт со средством для РНКи по настоящему изобретению. Например, контрольные клетка, группа клеток, или образец от субъекта могут происходить от индивидуального субъекта (например, субъекта - человека или животного) до лечения субъекта средством для РНКи или из соответствующим образом совпадающего популяционного контроля.

Уровень мРНК фактора комплемента В, экспрессированной клеткой или группой клеток, можно определять с использованием любого способа, известного в данной области

для оценки экспрессии мРНК. В одном варианте осуществления, уровень экспрессии фактора комплемента В в образце определяют посредством детекции транскрибированного полинуклеотида или его части, например, мРНК гена фактора комплемента В. РНК можно выделять из клеток с использованием способов выделения РНК, включая, например, использование экстракции кислым фенолом/гуанидинизотиоцианатом (RNazol В; Biogenesis), наборов для получения РНК RNeasy™ (Qiagen®) или PAXgene™ (PreAnalytix™, Switzerland). Типичные форматы анализов с использованием гибридизации рибонуклеиновой кислоты включают анализы запуска транскрипции в ядре, RT-ПЦР, анализы защиты от РНКазы, Нозерн-блоттинг, гибридизацию *in situ* и анализ микромассивов.

В некоторых вариантах осуществления, уровень экспрессии фактора комплемента В определяют с использованием нуклеиновой кислоты - зонда. Термин «зонд», в рамках изобретения, относится к любой молекуле, способной к избирательному связыванию со специфическим фактором комплемента В. Зонды могут быть синтезированы специалистом в данной области или получены из подходящих биологических препаратов. Зонды можно специфически конструировать для мечения. Примеры молекул, которые можно использовать в качестве зондов, включают, но без ограничения, РНК, ДНК, белки, антитела и органические молекулы.

Выделенную мРНК можно использовать в анализах гибридизации или амплификации, включающих, но без ограничения, Саузерн- или Нозерн-анализы, анализы полимеразной цепной реакции (ПЦР) и массивы зондов. Один способ определения уровней мРНК включает приведение в контакт выделенной мРНК с молекулой нуклеиновой кислоты (зондом), которая может гибридизоваться с мРНК фактора комплемента В. В одном варианте осуществления, мРНК иммобилизуют на твердой поверхности и приводят в контакт с зондом, например, посредством разделения выделенной мРНК в агарозном геле и переноса мРНК из геля на мембрану, такую как нитроцеллюлоза. В альтернативном варианте осуществления, зонд(ы) иммобилизуют на твердой поверхности, и мРНК приводят в контакт с зондом(ами), например, в массиве генов на чипе Affymetrix®. Специалист в данной области может легко адаптировать известные способы детекции мРНК для использования в определении уровня мРНК фактора комплемента В.

Альтернативный способ определения уровня экспрессии фактора комплемента В в образце включает способ амплификации нуклеиновой кислоты или обратной транскрипции (для получения кДНК), например, мРНК в образце, например, посредством RT-ПЦР (экспериментальный вариант осуществления приведен в Mullis, 1987, Патент США No. 4683202), лигазной цепной реакции (Barany (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:189-193), самоподдерживающейся репликации последовательностей (Guatelli *et al.* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878), системы транскрипционной амплификации (Kwoh *et al.* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177), Q-бета-репликазы (Lizardi *et al.* (1988) *Bio/Technology* 6:1197), репликации по типу катящегося кольца (Lizardi *et al.*, Патент США No. 5854033) или любого другого способа амплификации нуклеиновой кислоты, с

последующей детекцией амплифицированных молекул с использованием способов, хорошо известных специалисту в данной области. Эти схемы детекции являются особенно полезными для детекции молекул нуклеиновых кислот, если такие молекулы присутствуют в очень низких количествах. В конкретных аспектах настоящего изобретения, уровень экспрессии CFB определяют посредством количественной флуорогенной RT-ПЦР (т.е., системы TaqMan™). В конкретных вариантах осуществления, уровень экспрессии определяют посредством способа, представленного в примере 2, с использованием, например, концентрации миРНК 10нМ, в линии клеток совпадающего вида.

Уровни экспрессии мРНК фактора комплемента В можно мониторировать с использованием мембранного блота (такого, как используют в анализах гибридизации, таких как Нозерн-, Саузерн-, дот- и т.п.) или микролунок, пробирок для образцов, гелей, бусин или волокон (или любой твердой подложки, содержащей связанные нуклеиновые кислоты). См. Патенты США No. 5770722, 5874219, 5744305, 5677195 и 5445934, содержание которых приведено в настоящем описании путем ссылки. Определение уровня экспрессии фактора комплемента В может также включать использование нуклеиновых кислот - зондов в растворе.

В конкретных вариантах осуществления, уровень экспрессии мРНК оценивают с использованием анализов разветвленной ДНК (bdNA) или ПЦР с детекцией в реальном времени (qПЦР). Использование этих способов описано и проиллюстрировано в примерах, представленных в настоящем описании. В конкретных вариантах осуществления, уровень экспрессии определяют посредством способа, представленного в примере 2, с использованием концентрации миРНК 10 нМ, в линии клеток совпадающего вида.

Уровень экспрессии белка CFB можно определять с использованием любого способа, известного в данной области для измерения уровней белка. Такие способы включают, например, электрофорез, капиллярный электрофорез, высокоэффективную жидкостную хроматографию (HPLC), тонкослойную хроматографию (TLC), гипердиффузионную хроматографию, реакции с преципитином в жидкости или геле, абсорбционную спектроскопию, колориметрические анализы, спектрофотометрические анализы, проточную цитометрию, иммунодиффузию (одинарную или двойную), иммуноэлектрофорез, Вестерн-блоттинг, радиоиммунный анализ (RIA), твердофазные иммуноферментные анализы (ELISA), иммунофлуоресцентные анализы, электрохемилюминесцентные анализы, и т.п.

В некоторых вариантах осуществления, эффективность способов по настоящему изобретению оценивают по уменьшению уровня мРНК или белка CFB (например, при биопсии печени).

В некоторых вариантах осуществления способов по настоящему изобретению, иРНК вводят субъекту таким образом, чтобы доставлять иРНК в специфический участок в организме субъекта. Ингибирование экспрессии фактора комплемента В можно оценивать с использованием измерений уровня или изменения уровня мРНК фактора комплемента В

или белка фактора комплемента В в образце, происходящем из жидкости или ткани из специфического участка в организме субъекта (например, печени или крови).

В рамках изобретения, термины детекция или определение уровня анализа понимают как обозначающие проведение стадий для определения того, присутствует ли материал, например, белок, РНК. В рамках изобретения, способы детекции или определения включают детекцию или определение того, что уровень анализа ниже уровня детекции для используемого способа.

VII. Способы профилактики и лечения по настоящему изобретению

Настоящее изобретение также относится к способам применения иРНК по настоящему изобретению или композиции, содержащей иРНК по настоящему изобретению, для ингибирования экспрессии фактора комплемента В, таким образом, предотвращения или лечения ассоциированного с фактором комплемента В нарушения, например, пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH), атипичного гемолитико-уремического синдрома (aHUS), астмы, ревматоидного артрита (RA); синдрома антифосфолипидных антител; волчаночного нефрита; ишемически-реперфузионного повреждения; типичного или инфекционного гемолитико-уремического синдрома (tHUS); болезни плотных депозитов (DDD); оптиконевромиелита (NMO); мультифокальной моторной невропатии (MMN); рассеянного склероза (MS); дегенерации желтого пятна (например, связанной с возрастом дегенерации желтого пятна (AMD)); синдрома гемолиза, увеличения активности печеночных ферментов и низкого количества тромбоцитов (HELLP); тромботической тромбоцитопенической пурпуры (TTP); спонтанной потери плода; слабоиммунного васкулита; буллезного эпидермолиза; рецидивирующей потери плода; преэклампсии, травматического повреждения головного мозга, миастении гравис, болезни холодových агглютининов, дерматомиозита, буллезного пемфигоида, связанного с токсином шига *E. coli* гемолитико-уремического синдрома, С3-невропатии, ассоциированного с антителами против цитоплазмы нейтрофилов васкулита (например, гранулематоза с полиангиитом (ранее известного как гранулематоз Вегенера), синдрома Черджа-Стросс и микроскопического полиангиита), гуморального и васкулярного отторжения трансплантата, дисфункции трансплантата, инфаркта миокарда (например, повреждения и ишемии ткани при инфаркте миокарда), аллогенного трансплантата, сепсиса (например, плохого исхода при сепсисе), болезни коронарных артерий, дерматомиозита, болезни Грэйвса, атеросклероза, болезни Альцгеймера, системного воспалительного ответа при сепсисе, септического шока, повреждения спинного мозга, гломерулонефрита, тиреоидита Хашимото, диабета I типа, псориаза, пемфигуса, аутоиммунной гемолитической анемии (АИНА), ИТР, синдрома Гудпасчера, болезни Дегоса, антифосфолипидного синдрома (APS), катастрофического APS (CAPS), сердечно-сосудистого нарушения, миокардита, цереброваскулярного нарушения, нарушения периферических (например, скелетно-мышечных) сосудов, реноваскулярного нарушения, мезентерального/энтерального сосудистого нарушения, васкулита, нефрита при пурпуре Геноха-Шенлейна, ассоциированного с системной красной волчанкой васкулита,

ассоциированного с ревматоидным артритом васкулита, васкулита иммунных комплексов, болезни Такаясу, дилатационной кардиомиопатии, диабетической ангиопатии, болезни (артериита) Кавасаки, венозной газовой эмболии (VGE) и рестеноза после стентирования, ротационной атерэктомии и чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики (PTCA) (см., например, Holers (2008) *Immunological Reviews* 223:300-316; Holers and Thurman (2004) *Molecular Immunology* 41:147-152; Публикация патента США No. 20070172483).

В одном варианте осуществления, ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии, поликистоза почек, мембранозной нефропатии, связанной с возрастом дегенерации желтого пятна, атипичного гемолитико-уремического синдрома, тромботической микроангиопатии, миастении гравис, ишемического и реперфузионного повреждения, пароксизмальной ночной гемоглобинурии и ревматоидного артрита

В другом варианте осуществления, ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии и поликистоза почек.

В способах по настоящему изобретению, клетку можно приводить в контакт с миРНК *in vitro* или *in vivo*, т.е., клетка может находиться внутри организма субъекта.

Клетка, подходящая для обработки с использованием способов по настоящему изобретению, может представлять собой любую клетку, экспрессирующую ген фактора комплемента В, например, клетку печени, клетку головного мозга, клетку желчного пузыря, клетку сердца или клетку почки. В одном варианте осуществления, клетка представляет собой клетку печени. Клетка, подходящая для использования в способах по настоящему изобретению, может представлять собой клетку млекопитающего, например, клетку примата (такую как клетка человека, включая клетку человека в химерном не относящемся к человеку животном, или клетку не относящегося к человеку примата, например, клетку обезьяны или клетку шимпанзе), или клетку не примата. В конкретных вариантах осуществления, клетка представляет собой клетку человека, например, клетку печени человека. В способах по настоящему изобретению, экспрессия фактора комплемента В ингибирована в клетке на по меньшей мере 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95, или до уровня ниже уровня детекции анализа.

Способы *in vivo* по настоящему изобретению могут включать введение субъекту композиции, содержащей иРНК, где иРНК включает нуклеотидную последовательность, которая является комплементарной по меньшей мере части транскрипта РНК гена фактора комплемента В млекопитающего, для введения которому предназначено средство для РНКи. Композицию можно вводить посредством любых способов, известных в данной области, включая, но без ограничения, пероральные, внутривентрикулярные или парентеральные способы, включая интракраниальное (например, интравентрикулярное,

интрапаренхимальное и интратекальное), внутривенное, внутримышечное, подкожное, чрескожное введение, введение в дыхательные пути (аэрозоль), назальное, ректальное и местное (включая буккальное и подъязычное) введение. В конкретных вариантах осуществления, композиции вводят посредством внутривенной инфузии или инъекции. В конкретных вариантах осуществления, композиции вводят посредством подкожной инъекции. В конкретных вариантах осуществления, композиции вводят посредством внутримышечной инъекции.

В некоторых вариантах осуществления, введение осуществляют посредством инъекции-депо. Инъекция-депо может высвобождать иРНК единообразным образом на протяжении длительного периода времени. Таким образом, инъекция-депо может уменьшать частоту дозирования, необходимую для получения желательного эффекта, например, желательного ингибирования CFB, или терапевтического или профилактического эффекта. Инъекция-депо может также обеспечивать более единообразные концентрации в сыворотке. Инъекции-депо могут включать подкожные инъекции или внутримышечные инъекции. В конкретных вариантах осуществления, инъекция-депо представляет собой подкожную инъекцию.

В некоторых вариантах осуществления, введение осуществляют посредством насоса. Насос может представлять собой внешний насос или хирургически имплантированный насос. В конкретных вариантах осуществления, насос представляет собой подкожно имплантированный осмотический насос. В других вариантах осуществления, насос представляет собой инфузионный насос. Инфузионный насос можно использовать для внутривенных, подкожных, артериальных или эпидуральных инфузий. В конкретных вариантах осуществления, инфузионный насос представляет собой насос для подкожной инфузии. В других вариантах осуществления, насос представляет собой хирургически имплантированный насос, который доставляет иРНК в печень.

Способ введения можно выбирать на основании того, местное или системное лечение является желательным и на основании области, подлежащей обработке. Способ и участок введения можно выбирать для улучшения нацеливания.

В одном аспекте настоящее изобретение также относится к способам ингибирования экспрессии гена фактора комплемента В у млекопитающего. Способы включают введение млекопитающему композиции, содержащей дцРНК, нацеленную на ген фактора комплемента В в клетке млекопитающего, и поддержание млекопитающего в течение времени, достаточного для получения деградации транскрипта мРНК гена фактора комплемента В, таким образом, ингибирования экспрессии гена фактора комплемента В в клетке. Уменьшение экспрессии гена можно оценивать посредством любых способов, известных в данной области и посредством способов, например, qRT-ПЦР, описанных в настоящем описании, например, в примере 2. Уменьшение продукции белка можно оценивать посредством любых способов, известных в данной области, например, ELISA. В конкретных вариантах осуществления, образец пункционного биоптата печени служит в качестве материала ткани для мониторинга уменьшения экспрессии гена или белка

фактора комплемента В. В других вариантах осуществления, образец крови служит в качестве образца от субъекта для мониторингования уменьшения экспрессии белка фактора комплемента В.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способам лечения нуждающегося в этом субъекта, например, субъекта с диагнозом ассоциированного с фактором комплемента В нарушения, такого как СЗ-гломерулопатия, системная красная волчанка (SLE), например, волчаночный нефрит, IgA-нефропатия, диабетическая нефропатия и поликистоз почек.

Кроме того, настоящее изобретение относится к способам профилактики у нуждающегося в этом субъекта. Способы лечения по настоящему изобретению включают введение иРНК по настоящему изобретению субъекту, например, субъекту, который может получать преимущество от уменьшения экспрессии фактора комплемента В, в профилактически эффективном количестве иРНК, нацеливающей на ген фактора комплемента В, или фармацевтической композиции содержащей иРНК, нацеливающую на ген фактора комплемента В.

В одном варианте осуществления, ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH), атипичного гемолитико-уремического синдрома (aHUS), астмы, ревматоидного артрита (RA); синдрома антифосфолипидных антител; волчаночного нефрита; ишемически-реперфузионного повреждения; типичного или инфекционного гемолитико-уремического синдрома (tHUS); болезни плотных депозитов (DDD); оптиконевромиелита (NMO); мультифокальной моторной невропатии (MMN); рассеянного склероза (MS); дегенерации желтого пятна (например, связанной с возрастом дегенерации желтого пятна (AMD)); синдрома гемолиза, увеличения активности печеночных ферментов и низкого количества тромбоцитов (HELLP); тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТР); спонтанной потери плода; слабоиммунного васкулита; буллезного эпидермолиза; рецидивирующей потери плода; преэклампсии, травматического повреждения головного мозга, миастении гравис, болезни холодовых агглютининов, дерматомиозита, буллезного пемфигоида, связанного с токсином шига *E. coli* гемолитико-уремического синдрома, СЗ-невропатии, ассоциированного с антителами против цитоплазмы нейтрофилов васкулита (например, гранулематоза с полиангиитом (ранее известного как гранулематоз Вегенера), синдрома Черджа-Стресс и микроскопического полиангиита), гуморального и васкулярного отторжения трансплантата, дисфункции трансплантата, инфаркта миокарда (например, повреждения и ишемии ткани при инфаркте миокарда), аллогенного трансплантата, сепсиса (например, плохого исхода при сепсисе), болезни коронарных артерий, дерматомиозита, болезни Грэйвса, атеросклероза, болезни Альцгеймера, системного воспалительного ответа при сепсисе, септического шока, повреждения спинного мозга, гломерулонефрита, тиреоидита Хашимото, диабета I типа, псориаза, пемфигуса, аутоиммунной гемолитической анемии (АИНА), ИТР, синдрома Гудпасчера, болезни Дегоса, антифосфолипидного синдрома (APS), катастрофического APS (CAPS), сердечно-сосудистого нарушения, миокардита, цереброваскулярного нарушения,

нарушения периферических (например, скелетно-мышечных) сосудов, реноваскулярного нарушения, мезентерального/энтерального сосудистого нарушения, васкулита, нефрита при пурпуре Геноха-Шенлейна, ассоциированного с системной красной волчанкой васкулита, ассоциированного с ревматоидным артритом васкулита, васкулита иммунных комплексов, болезни Такаясу, дилатационной кардиомиопатии, диабетической ангиопатии, болезни (артериита) Кавасаки, венозной газовой эмболии (VGE), и рестеноза после стентирования, ротационной атерэктомии и чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики (PTCA) (см., например, Holers (2008) *Immunological Reviews* 223:300-316; Holers and Thurman (2004) *Molecular Immunology* 41:147-152; US20070172483).

В одном варианте осуществления, ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии, поликистоза почек, мембранозной нефропатии, связанной с возрастом дегенерации желтого пятна, атипичного гемолитико-уремического синдрома, тромботической микроангиопатии, миастении гравис, ишемического и реперфузионного повреждения, пароксизмальной ночной гемоглобинурии и ревматоидного артрита

В другом варианте осуществления, ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии и поликистоза почек.

иРНК по настоящему изобретению можно вводить в форме «свободной иРНК». Свободную иРНК вводят в отсутствие фармацевтической композиции. Голая иРНК может находиться в подходящем буферном растворе. Буферный раствор может содержать ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат, или любую их комбинацию. В одном варианте осуществления, буферный раствор представляет собой фосфатно-солевой буфер (PBS). pH и осмолярность буферного раствора, содержащего иРНК, можно корректировать таким образом, чтобы он являлся подходящим для введения субъекту.

Альтернативно, иРНК по настоящему изобретению можно вводить в форме фармацевтической композиции, такой как липосомный состав дцРНК.

Субъекты, которые могут получать преимущество от ингибирования экспрессии гена фактора комплемента В, представляют собой субъектов, которые являются чувствительными к ассоциированному с СFB нарушению, или у которых диагностировано ассоциированное с СFB нарушение, например, С3-гломерулопатия, системная красная волчанка (SLE), например, волчаночный нефрит, IgA-нефропатия, диабетическая нефропатия и поликистоз почек.

В одном варианте осуществления, способ включает введение композиции, признаки которой раскрыты в настоящем описании, так что экспрессия гена-мишени компонента комплемента В уменьшается, например, в течение приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 1-6, 1-3, или 3-6 месяцев на дозу. В конкретных вариантах осуществления, композицию вводят один раз в каждые 3-6 месяцев.

В одном варианте осуществления, иРНК, которые можно использовать для способов и композиций, признаки которых раскрыты в настоящем описании, специфически нацеливают на РНК (первичные или процессированные) гена-мишени фактора комплемента В. Композиции и способы для ингибирования экспрессии этих генов с использованием иРНК можно получать и осуществлять, как описано в настоящем описании.

Введение иРНК, в соответствии со способами по настоящему изобретению может приводить к предотвращению или лечению ассоциированного с фактором комплемента В нарушения, например, С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии, и поликистоза почек.

Субъектам можно вводить терапевтическое количество иРНК, такое как от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг. Субъектам можно вводить терапевтическое количество иРНК, такое как от приблизительно 5 мг до приблизительно 1000 мг, в форме фиксированной дозы, независимо от массы тела.

В некоторых вариантах осуществления, иРНК вводят подкожно, т.е., посредством подкожной инъекции. Одну или несколько инъекций можно использовать для доставки желательной дозы иРНК субъекту. Инъекции можно повторять на протяжении некоторого периода времени.

Введение можно повторять на регулярной основе. В конкретных вариантах осуществления, после начального режима лечения, сеансы лечения можно проводить на менее частой основе. Режим повторяющихся доз может включать введение терапевтического количества иРНК на регулярной основе, например, от одного раза в месяц до одного раза в год. В конкретных вариантах осуществления, иРНК вводят от приблизительно одного раза в месяц до приблизительно одного раза в каждые три месяца, или от приблизительно одного раза в каждые три месяца до приблизительно одного раза в каждые шесть месяцев.

Изобретение, кроме того, относится к способам и применениям средства на основе иРНК или его фармацевтической композиции для лечения субъекта, который может получать преимущество от уменьшения или ингибирования экспрессии гена СFB, например, субъекта, имеющего ассоциированное с СFB заболевание, в комбинации с другими фармацевтическими средствами или другими терапевтическими способами, например, с известными фармацевтическими средствами или известными терапевтическими способами, например, такими, какие в настоящее время используют для лечения этих нарушений.

Соответственно, в некоторых аспектах по настоящему изобретению, способы, включающие любое одиночное средство на основе иРНК по настоящему изобретению, дополнительно включают введение субъекту одного или нескольких дополнительных терапевтических средств. Средство на основе иРНК и дополнительное терапевтическое средство или вид лечения можно использовать в одно и то же время или в одной и той же комбинации, например, парентерально, или дополнительное терапевтическое средство

можно вводить в качестве части отдельной композиции или в отдельные периоды времени, или посредством другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем описании.

В одном варианте осуществления, средство на основе иРНК по настоящему изобретению вводят в комбинации с антителом против компонента комплемента C5 или его антигенсвязывающим фрагментом (например, экулизумабом или равулизумабом-cwvz), средством на основе иРНК, нацеливающим на компонент комплемента C5, средством на основе иРНК, нацеливающим на компонент комплемента C3, или пептидным ингибитором C3 (например, компстатином). В одном варианте осуществления, средство на основе иРНК по настоящему изобретению вводят пациенту, и затем дополнительное терапевтическое средство вводят пациенту (или наоборот). В другом варианте осуществления, средство на основе иРНК по настоящему изобретению и дополнительное терапевтическое средство вводят в одно и то же время.

Средство на основе иРНК по настоящему изобретению и дополнительное терапевтическое средство или вид лечения можно использовать в одно и то же время или в одной и той же комбинации, например, парентерально, или дополнительное терапевтическое средство можно вводить в качестве части отдельной композиции или в отдельные периоды времени, или посредством другого способа, известного в данной области или описанного в настоящем описании.

VIII. Наборы

В конкретных аспектах, настоящее изобретение относится к наборам, включающим подходящий контейнер, содержащий фармацевтический состав соединения миРНК, например, соединения двухцепочечной миРНК или соединения кмиРНК, (например, предшественника, например, соединения более крупной миРНК, которое может быть процессировано в соединение кмиРНК, или ДНК, кодирующей соединение миРНК, например, соединение двухцепочечной миРНК или соединение кмиРНК, или его предшественник).

Такие наборы включают одно или несколько средств(о) на основе дцРНК и инструкции для применения, например, инструкции для введения профилактически или терапевтически эффективного количества средств(а) на основе дцРНК. Средство на основе дцРНК может находиться в флаконе или предварительно заполненном шприце. Наборы могут, необязательно, дополнительно содержать средства для введения средства на основе дцРНК (например, устройство для инъекций, такое как предварительно заполненный шприц) или средства для измерения ингибирования СФВ (например, средства для измерения ингибирования мРНК СФВ, белка СФВ или активности СФВ). Такие средства для измерения ингибирования СФВ могут содержать средства для получения образца от субъекта, например, такого как образец плазмы. Наборы по настоящему изобретению могут, необязательно, дополнительно содержать средства для определения терапевтически эффективного или профилактически эффективного количества.

В конкретных вариантах осуществления, индивидуальные компоненты фармацевтического состава могут быть предоставлены в одном контейнере, например, флаконе или предварительно заполненном шприце. Альтернативно, может являться желательным предоставлять компоненты фармацевтического состава отдельно в двух или более контейнерах, например, одном контейнере для препарата соединения миРНК, и по меньшей мере другом для соединения носителя. Набор может быть упакован в ряде различных конфигураций, таких как один или несколько контейнеров в одной коробке. Различные компоненты можно комбинировать, например, в соответствии с инструкциями, предоставленными с набором. Компоненты можно комбинировать, в соответствии со способом, описанным в настоящем описании, например, для получения и введения фармацевтической композиции. Набор может также включать устройство для доставки.

Настоящее изобретение далее проиллюстрировано посредством следующих примеров, которые не следует рассматривать как ограничивающие. Полное содержание всех публикаций, патентов и опубликованных патентных заявок, процитированных на протяжении этой заявки, так же как списка последовательностей в произвольной форме и фигур, таким образом, приведено в настоящем описании путем ссылки.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Синтез иРНК

Источник реагентов

Когда источник реагента конкретно не приведен в настоящем описании, такой реагент может быть получен от любого поставщика реагентов для молекулярной биологии на уровне стандарта качества/чистоты для применения в молекулярной биологии.

Дизайн миРНК

миРНК, нацеливающие на ген фактора комплемента В (CFB) человека (человек: NCBI refseqID NM_001710.6; NCBI GeneID: 629), конструировали с использованием разработанных на заказ сценариев R и Python. мРНК человека REFSEQ NM_001710, вариант 6, имеет длину 2476 оснований. Подробные списки немодифицированных нуклеотидных последовательностей смысловых и антисмысловых цепей CFB показаны в таблице 2. Подробные списки модифицированных нуклеотидных последовательностей смысловых и антисмысловых цепей CFB показаны в таблице 3.

Следует понимать, что, на протяжении заявки, наименование дуплекса без числа после десятичной точки является эквивалентным наименованию дуплекса с числом после десятичной точки, которое просто обозначает номер партии дуплекса. Например, AD-959917 является эквивалентным AD-959917.1.

Синтез миРНК

миРНК синтезировали и гибридизовали с использованием общепринятых способов, известных в данной области.

Кратко, последовательности миРНК синтезировали в масштабе 1 мкмоль с использованием синтезатора Mermade 192 (BioAutomation) с использованием фосфорамидитных химических реакций на твердых подложках. Твердая подложка

представляла собой стекло с контролируемым размером пор (500-1000 Å), нагруженное изготовленным на заказ лигандом GalNAc (3'-конъюгаты GalNAc), универсальную твердую подложку (AM Chemicals) или первый представляющий интерес нуклеотид. Вспомогательные реагенты для синтеза и стандартные 2-цианоэтилфосфорамидитные мономеры (2'-дезоксид-2'-фтор, 2'-О-метил, РНК, ДНК) получали из Thermo-Fisher (Milwaukee, WI), HONGENE (China) или Chemgenes (Wilmington, MA, USA). Дополнительные фосфорамидитные мономеры получали от коммерческих поставщиков, получали в собственной лаборатории или получали с использованием синтеза на заказ от различных СМО. Фосфорамидиты подготавливали в концентрации 100 мМ либо в ацетонитриле, либо в 9:1 ацетонитриле:DMF и сочетали с использованием 5-этилтио-1Н-тетразола (ETT, 0,25 М в ацетонитриле) при времени реакции 400 с. Фосфоротиоатные связи получали с использованием 100 мМ раствора 3-((диметиламино-метилен)амино)-3Н-1,2,4-дитиазол-3-тиона (DDTT, полученного из Chemgenes (Wilmington, MA, USA)) в безводном ацетонитриле/пиридине (9:1 об./об.). Время окисления составляло 5 минут. Все последовательности синтезировали с конечным удалением группы DMT («DMT-Off»).

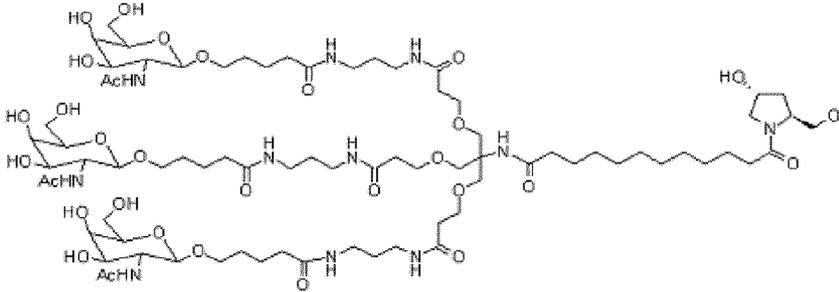
После завершения твердофазного синтеза, олигорибонуклеотиды на твердой подложке обрабатывали с использованием 300 мкл метиламина (40% водного) при комнатной температуре в 96-луночных планшетах в течение приблизительно 2 часов для обеспечения отщепления от твердой подложки и последующего удаления всех дополнительных чувствительных к основанию защитных групп. Для последовательностей, содержащих любые природные рибонуклеотидные связи (2'-ОН), защищенные третбутилдиметилсилильной (TBDMS) группой, проводили вторую стадию снятия защиты с использованием TEA.3HF (тригидрофторида триэтиламина). К раствору каждого олигонуклеотида в водном метиламине добавляли 200 мкл диметилсульфоксида (DMSO) и 300 мкл TEA.3HF, и раствор инкубировали в течение приблизительно 30 мин при 60°C. После инкубации, планшету позволяли достигать комнатной температуры, и неочищенные олигонуклеотиды преципитировали посредством добавления 1 мл 9:1 ацетонитрила:этанола или 1:1 этанола:изопропанола. Затем планшеты центрифугировали при 4°C в течение 45 мин, и супернатант осторожно декантировали с помощью многоканальной пипетки. Осадок олигонуклеотида ресуспендировали в 20 мМ NaOAc и затем обессоливали с использованием колонки для эксклюзионной хроматографии HiTrap (5 мл, GE Healthcare) в системе Agilent LC, оборудованной автодозатором, УФ-детектором, кондуктометром и коллектором фракций. Обессоленные образцы собирали в 96-луночные планшеты и затем анализировали посредством LC-MS и УФ-спектрометрии для подтверждения идентичности и количественной оценки количества материала, соответственно.

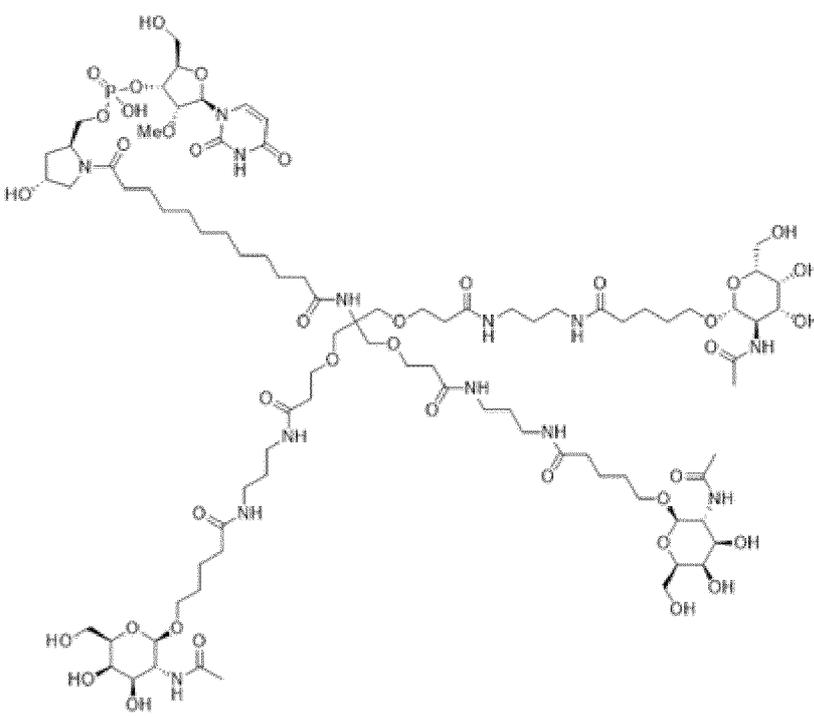
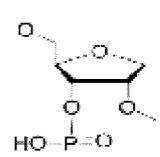
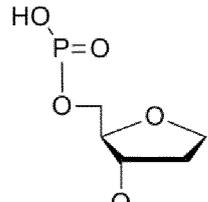
Получение дуплексов отдельных цепей проводили в роботизированной системе обработки жидкостей Tecan. Отдельные смысловые и бессмысловые цепи комбинировали в эквимольном соотношении до конечной концентрации 10 мкМ в 1х PBS в 96-луночных планшетах, планшет герметично закрывали, инкубировали при 100°C в течение 10 минут,

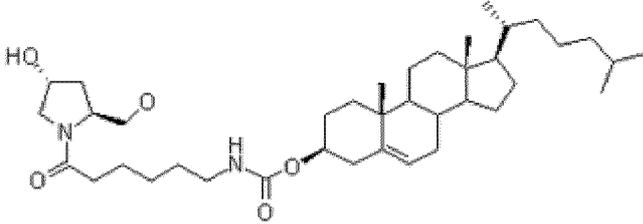
и затем позволяли медленно возвращаться к комнатной температуре на протяжении периода 2-3 часов. Концентрацию и идентичность каждого дуплекса подтверждали и затем впоследствии использовали для анализов скрининга *in vitro*.

Таблица 1. Сокращенные наименования мономеров нуклеотидов, используемых в представлении последовательности нуклеиновой кислоты. Понятно, что эти мономеры, когда присутствуют в олигонуклеотиде, взаимно связаны посредством 5'-3'-фосфодиэфирных связей; и понятно, что когда нуклеотид содержит 2'-фтор-модификацию, тогда фтор заменяет гидроксильную группу в этом положении в исходном нуклеотиде (т.е., он представляет собой 2'-дезоксид-2'-фторнуклеотид). Кроме того, понятно, что в сокращенных наименованиях нуклеотидов в таблице опущен 3'-фосфат (т.е., они являются 3'-ОН), когда он помещен в 3'-концевое положение олигонуклеотида.

Сокращенное наименование	Нуклеотид(ы)
A	Аденозин-3'-фосфат
Ab	бета-L-аденозин-3'-фосфат
Abs	бета-L-аденозин-3'-фосфоротиоат
Af	2'-фтораденозин-3'-фосфат
Afs	2'-фтораденозин-3'-фосфоротиоат
As	аденозин-3'-фосфоротиоат
C	цитидин-3'-фосфат
Cb	бета-L-цитидин-3'-фосфат
Cbs	бета-L-цитидин-3'-фосфоротиоат
Cf	2'-фторцитидин-3'-фосфат
Cfs	2'-фторцитидин-3'-фосфоротиоат
Cs	цитидин-3'-фосфоротиоат
G	гуанозин-3'-фосфат
Gb	бета-L-гуанозин-3'-фосфат
Gbs	бета-L-гуанозин-3'-фосфоротиоат
Gf	2'-фторгуанозин-3'-фосфат
Gfs	2'-фторгуанозин-3'-фосфоротиоат
Gs	гуанозин-3'-фосфоротиоат
T	5'-метилуридин-3'-фосфат
Tf	2'-фтор-5-метилуридин-3'-фосфат
Tfs	2'-фтор-5-метилуридин-3'-фосфоротиоат
Ts	5-метилуридин-3'-фосфоротиоат
U	Уридин-3'-фосфат

Сокращенное наименование	Нуклеотид(ы)
Uf	2'-фторуридин-3'-фосфат
Ufs	2'-фторуридин -3'-фосфоротиоат
Us	уридин-3'-фосфоротиоат
N	любой нуклеотид, модифицированный или немодифицированный
a	2'-О-метиладенозин-3'-фосфат
as	2'-О-метиладенозин-3'- фосфоротиоат
c	2'-О-метилцитидин-3'-фосфат
cs	2'-О-метилцитидин-3'- фосфоротиоат
g	2'-О-метилгуанозин-3'-фосфат
gs	2'-О-метилгуанозин-3'- фосфоротиоат
t	2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфат
ts	2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфоротиоат
u	2'-О-метилуридин-3'-фосфат
us	2'-О-метилуридин-3'-фосфоротиоат
s	фосфоротиоатная связь
L96	<p>N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодеканоил]-4-гидроксипролинол (Нур-(GalNAc-алкил)3)</p> <p>(2S,4R)-1-[29-[[2-(ацетиламино)-2-дезоксид-β-D-галактопиранозил]окси]-14,14-бис[[3-[[3-[[5-[[2-(ацетиламино)-2-дезоксид-β-D-галактопиранозил]окси]-1-оксопентил]амино]пропил]амино]-3-оксопропокси]метил]-1,12,19,25-тетраоксо-16-окса-13,20,24-триазанонакоз-1-ил]-4-гидрокси-2-гидроксиметилпирролидин</p> 

Сокращенное наименование	Нуклеотид(ы)
uL96	<p>2'-О-метилуридин-3'-фосфат((2S,4R)-1-[29-[[2-(ацетиламино)-2-дезоксид-β-D-галактопиранозил]окси]-14,14-бис[[3-[[3-[[5-[[2-(ацетиламино)-2-дезоксид-β-D-галактопиранозил]окси]-1-оксопентил]амино]пропил]амино]-3-оксопропокси]метил]-1,12,19,25-тетраоксо-16-окса-13,20,24-триазанонакоз-1-ил]-4-гидрокси-2-пирролидинил)метилловый сложный эфир</p> 
Y34	<p>2-гидроксиметил-тетрагидрофуран-4-метокси-3-фосфат (лишенная азотистого основания 2'-ОМе-фураноза)</p> 
Y44	<p>инвертированная лишенная азотистого основания ДНК (2-гидроксиметил-тетрагидрофуран-5-фосфат)</p> 

Сокращенное наименование	Нуклеотид(ы)
L10	N-(холестерилкарбоксамидокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-Chol) 
(Agn)	Аденозин-гликолевая нуклеиновая кислота (GNA), S-изомер
(Cgn)	Цитидин-гликолевая нуклеиновая кислота (GNA), S-изомер
(Ggn)	Гуанозин-гликолевая нуклеиновая кислота (GNA) S-изомер
(Tgn)	Тимидин-гликолевая нуклеиновая кислота (GNA), S-изомер
P	Фосфат
VP	Винилфосфонат
dA	2`-дезоксаденозин-3`-фосфат
dAs	2`-дезоксаденозин-3`-фосфоротиоат
dC	2`-дезоксцитидин-3`-фосфат
dCs	2`-дезоксцитидин-3`-фосфоротиоат
dG	2`-дезоксигуанозин-3`-фосфат
dGs	2`-дезоксигуанозин-3`-фосфоротиоат
dT	2`-дезокситимидин-3`-фосфат
dTс	2`-дезокситимидин-3`-фосфоротиоат
dU	2`-деоксиуридин
dUs	2`-деоксиуридин-3`-фосфоротиоат
(C2p)	цитидин-2`-фосфат
(G2p)	гуанозин-2`-фосфат
(U2p)	уридин-2`-фосфат
(A2p)	аденозин-2`-фосфат
(Ahd)	2'-О-гексадецил-аденозин-3'-фосфат
(Ahds)	2'-О-гексадецил-аденозин-3'-фосфоротиоат
(Chd)	2'-О-гексадецил-цитидин-3'-фосфат
(Chds)	2'-О-гексадецил-цитидин-3'-фосфоротиоат
(Ghd)	2'-О-гексадецил-гуанозин-3'-фосфат

Сокращенное наименование	Нуклеотид(ы)
(Ghds)	2'-О-гексадецил-гуанозин-3'-фосфоротиоат
(Uhd)	2'-О-гексадецил-уридин-3'-фосфат
(Uhds)	2'-О-гексадецил-уридин-3'-фосфоротиоат

Таблица 2. Немодифицированные последовательности смысловых и антисмысловых цепей средств на основе дцРНК фактора комплемента В

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1724362	AAGGGAAUGUGACCAGGUCUU	4-24		AAGACCTGGUCACAUUCCCUUCC	2-24	
AD-1724363	AGGGAAUGUGACCAGGUCUAU	5-25		ATAGACCUGGGUCACAUUCCCUUC	3-25	
AD-1724364	GGGAAUGUGACCAGGUCUAGU	6-26		ACUAGACCUGGTCACAUUCCCUU	4-26	
AD-1724365	GGAAUGUGACCAGGUCUAGGU	7-27		ACCUAGACCUGGGUCACAUUCCCU	5-27	
AD-1724369	UGUGACCAGGUCUAGGUCUGU	11-31		ACAGACCUAGACCUGGGUCACAUU	9-31	
AD-1724370	GUGACCAGGUCUAGGUCUGGU	12-32		ACCAGACCUAGACCUGGGUCACAU	10-32	
AD-1724376	AGGUCUAGGUCUGGAGUUUCU	18-38		AGAAACTCCAGACCUAGACCUGG	16-38	
AD-1724384	GUCUGGAGUUUCAGCUUGGAU	26-46		ATCCAAGCUGAAACUCCAGACCU	24-46	
AD-1724385	UCUGGAGUUUCAGCUUGGACU	27-47		AGUCCAAGCUGAAACUCCAGACC	25-47	
AD-1724386	CUGGAGUUUCAGCUUGGACAU	28-48		ATGUCCAAGCUGAAACUCCAGAC	26-48	
AD-1724530	UCCUUCCGACUUCUCCAAGAU	269-289		ATCUTGGAGAAGUCGGAAGGAGC	267-289	
AD-1724572	UGUCCUUCUGGCUUCUACCCU	311-331		AGGGTAGAAGCCAGAAGGACACA	309-331	
AD-1724574	UCCUUCUGGCUUCUACCCGUU	313-333		AACGGGTAGAAGCCAGAAGGACA	311-333	
AD-1724575	CCUUCUGGCUUCUACCCGUAU	314-334		ATACGGGUAGAAGCCAGAAGGAC	312-334	
AD-1724576	CUUCUGGCUUCUACCCGUACU	315-335		AGUACGGGUAGAAGCCAGAAGGA	313-335	
AD-1724579	CUGGCUUCUACCCGUACCCU	318-338		AAGGGUACGGGTAGAAGCCAGAA	316-338	
AD-1724586	CUACCCGUACCCUGUGCAGAU	325-345		ATCUGCACAGGGUACGGGUAGAA	323-345	
AD-1724600	UGCAGACACGUACCUGCAGAU	339-359		ATCUGCAGGUACGUGUCUGCACA	337-359	
AD-1724651	AAGGCAGAGUGCAGAGCAAUU	410-430		AAUUGCTCUGCACUCUGCCUUC	408-430	
AD-1724653	GGCAGAGUGCAGAGCAAUCCU	412-432		AGGATUGCUCUGCACUCUGCCU	410-432	
AD-1724685	CGGUCUCCCUACUACAAUGUU	476-496		AACATUGUAGUAGGGAGACCGGG	474-496	
AD-1724691	CCCUACUACAAUGUGAGUGAU	482-502		ATCACUCACAUTGUAGUAGGGAG	480-502	
AD-1724692	CCUACUACAAUGUGAGUGAUU	483-503		AAUACTCACATUGUAGUAGGGA	481-503	
AD-1724693	CUACUACAAUGUGAGUGAUGU	484-504		ACAUCACUCACAUUGUAGUAGGG	482-504	
AD-1724695	ACUACAAUGUGAGUGAUGAGU	486-506		ACUCAUCACUCACAUUGUAGUAG	484-506	
AD-1724698	ACAAUGUGAGUGAUGAGAUCU	489-509		AGAUCUCAUCACUCACAUUGUAG	487-509	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1724699	CAAUGUGAGUGAUGAGAUCUU	490-510		AAGATCTCAUCACUCACAUUGUA	488-510	
AD-1724700	AAUGUGAGUGAUGAGAUCUCU	491-511		AGAGAUCUCAUCACUCACAUUGU	489-511	
AD-1724701	AUGUGAGUGAUGAGAUCUCUU	492-512		AAGAGATCUCATCACUCACAUUG	490-512	
AD-1724702	UGUGAGUGAUGAGAUCUCUUU	493-513		AAAGAGAUCUCAUCACUCACAUU	491-513	
AD-1724703	GUGAGUGAUGAGAUCUCUUUU	494-514		AAAAGAGAUCUCAUCACUCACAU	492-514	
AD-1724704	UGAGUGAUGAGAUCUCUUUCU	495-515		AGAAAGAGAUUCTAUCACUCACA	493-515	
AD-1724705	GAGUGAUGAGAUCUCUUUCCU	496-516		AGGAAAGAGAUCUCAUCACUCAC	494-516	
AD-1724706	AGUGAUGAGAUCUCUUUCCAU	497-517		ATGGAAAGAGATCUCAUCACUCA	495-517	
AD-1724707	GUGAUGAGAUCUCUUUCCACU	498-518		AGUGGAAAGAGAUCUCAUCACUC	496-518	
AD-1724708	UGAUGAGAUCUCUUUCCACUU	499-519		AAGUGGAAAGAGAUCUCAUCACU	497-519	
AD-1724714	GAUCUCUUUCCACUGCUAUGU	505-525		ACAUAGCAGUGGAAAGAGAUCUC	503-525	
AD-1724715	AUCUCUUUCCACUGCUAUGAU	506-526		ATCATAGCAGUGGAAAGAGAUCU	504-526	
AD-1724716	UCUCUUUCCACUGCUAUGACU	507-527		AGUCAUAGCAGTGGAAAGAGAUC	505-527	
AD-1724717	CUCUUUCCACUGCUAUGACGU	508-528		ACGUCATAGCAGUGGAAAGAGAU	506-528	
AD-1724718	UCUUUCCACUGCUAUGACGGU	509-529		ACCGTCAUAGCAGUGGAAAGAGA	507-529	
AD-1724725	ACUGCUAUGACGGUUACACUU	516-536		AAGUGUAACCGTCAUAGCAGUGG	514-536	
AD-1724726	CUGCUAUGACGGUUACACUCU	517-537		AGAGTGTAACCGUCAUAGCAGUG	515-537	
AD-1724730	UAUGACGGUUACACUCUCCGU	521-541		ACGGAGAGUGUAACCGUCAUAGC	519-541	
AD-1724731	AUGACGGUUACACUCUCCGGU	522-542		ACCGGAGAGUGTAACCGUCAUAG	520-542	
AD-1724741	AUCGCACCUGCCAAGUGAAUU	552-572		AAUUCACUUGGCAGGUGCGAUUG	550-572	
AD-1724742	UCGCACCUGCCAAGUGAAUGU	553-573		ACAUTCACUUGGCAGGUGCGAUU	551-573	
AD-1724743	CGCACCUGCCAAGUGAAUGGU	554-574		ACCATUCACUUGGCAGGUGCGAU	552-574	
AD-1724776	CAGACAGCGAUCUGUGACAAU	587-607		ATUGTCACAGATCGCUGUCUGCC	585-607	
AD-1724777	AGACAGCGAUCUGUGACAACU	588-608		AGUUGUCACAGAUCGCUGUCUGC	586-608	
AD-1724778	GACAGCGAUCUGUGACAACGU	589-609		ACGUTGTACAGAUCGCUGUCUG	587-609	
AD-1724779	ACAGCGAUCUGUGACAACGGU	590-610		ACCGTUGUCACAGAUCGCUGUCU	588-610	
AD-1724780	CAGCGAUCUGUGACAACGGAU	591-611		ATCCGUTGUCACAGAUCGCUGUC	589-611	
AD-1724781	AGCGAUCUGUGACAACGGAGU	592-612		ACUCCGTUGUCACAGAUCGCUGU	590-612	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1724792	UGGCACAAGGAAGGUGGGCAU	643-663		ATGCCCACCUUCCUUGUGCCAAU	641-663	
AD-1724819	CCGCCUUGAAGACAGCGUCAU	670-690		ATGACGCUGUCTUCAAGGCGGUA	668-690	
AD-1724823	CUUGAAGACAGCGUCACCUAU	674-694		ATAGGUGACGCTGUCUUCAAGGC	672-694	
AD-1724824	UUGAAGACAGCGUCACCUACU	675-695		AGUAGGTGACGCUGUCUUCAAGG	673-695	
AD-1724825	UGAAGACAGCGUCACCUACCU	676-696		AGGUAGGUGACGCUGUCUUCAAG	674-696	
AD-1724860	GUGUCAGGAAGGUGGCUCUUU	739-759		AAAGAGCCACCTUCCUGACACGU	737-759	
AD-1724894	CCUUCUGCCAAGACUCCUUU	773-793		AAAGGAGUCUUGGCAGGAAGGCU	771-793	
AD-1724897	UCCUGCCAAGACUCCUUCAU	776-796		AAUGAAGGAGUCUUGGCAGGAAG	774-796	
AD-1724899	CUGCCAAGACUCCUUCAUGUU	778-798		AACATGAAGGAGUCUUGGCAGGA	776-798	
AD-1724900	UGCCAAGACUCCUUCAUGUAU	779-799		ATACAUGAAGGAGUCUUGGCAGG	777-799	
AD-1724903	CAAGACUCCUUCAUGUACGAU	782-802		ATCGTACAUGAAGGAGUCUUGGC	780-802	
AD-1724904	AAGACUCCUUCAUGUACGACU	783-803		AGUCGUACAUGAAGGAGUCUUGG	781-803	
AD-1724905	AGACUCCUUCAUGUACGACAU	784-804		ATGUCGTACAUGAAGGAGUCUUG	782-804	
AD-1724906	GACUCCUUCAUGUACGACACU	785-805		AGUGTCGUACATGAAGGAGUCUU	783-805	
AD-1724910	CAAGAGGUGGCCGAAGCUUUU	809-829		AAAAGCTUCGGCCACCUCUUGAG	807-829	
AD-1724919	GCCGAAGCUUUCUGUCUUCU	818-838		AGAAGACAGGAAAGCUUCGGCCA	816-838	
AD-1724945	AGAGACCAUAGAAGGAGUCGU	844-864		ACGACUCCUUCTAUGGUCUCUGU	842-864	
AD-1724946	GAGACCAUAGAAGGAGUCGAU	845-865		ATCGACTCCUUCUAUGGUCUCUG	843-865	
AD-1724947	AGACCAUAGAAGGAGUCGAUU	846-866		AAUCGACUCCUTCUAUGGUCUCU	844-866	
AD-1724948	GACCAUAGAAGGAGUCGAUGU	847-867		ACAUCGACUCCTUCUAUGGUCUC	845-867	
AD-1724949	ACCAUAGAAGGAGUCGAUGCU	848-868		AGCATCGACUCCUUCUAUGGUCU	846-868	
AD-1725000	CCUUCAGGCUCCAUGAACAUU	920-940		AAUGTUCAUGGAGCCUGAAGGGU	918-940	
AD-1725003	UCAGGCUCCAUGAACAUUCU	923-943		ATAGAUGUUCATGGAGCCUGAAG	921-943	
AD-1725004	CAGGCUCCAUGAACAUUCUACU	924-944		AGUAGATGUUCAUGGAGCCUGAA	922-944	
AD-1725013	UGAACAUUCUACCUGGUGCUAU	933-953		ATAGCACCAGGTAGAUGUUCAUG	931-953	
AD-1725015	AACAUCUACCUGGUGCUAGAU	935-955		ATCUAGCACCAGGUAGAUGUUCA	933-955	
AD-1725017	CAUCUACCUGGUGCUAGAUGU	937-957		ACAUCUAGCACCAGGUAGAUGUU	935-957	
AD-1725018	AUCUACCUGGUGCUAGAUGGU	938-958		ACCATCTAGCACCAGGUAGAUGU	936-958	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1725019	UCUACCUUGGUGCUAGAUGGAU	939-959		ATCCAUCUAGCACCAGGUAGAUG	937-959	
AD-1725020	CUACCUUGGUGCUAGAUGGAUU	940-960		AAUCCATCUAGCACCAGGUAGAU	938-960	
AD-1725021	UACCUUGGUGCUAGAUGGAUCU	941-961		AGAUGCAUCUAGCACCAGGUAGA	939-961	
AD-1725022	ACCUUGGUGCUAGAUGGAUCAU	942-962		ATGATCCAUCUAGCACCAGGUAG	940-962	
AD-1725023	CCUUGGUGCUAGAUGGAUCAGU	943-963		ACUGAUCCAUCTAGCACCAGGUA	941-963	
AD-1725025	UGGUGCUAGAUGGAUCAGACU	945-965		AGUCTGAUCCATCUAGCACCAGG	943-965	
AD-1725027	GUGCUGAUGGAUCAGACAGU	947-967		ACUGTCTGAUCCAUCUAGCACCA	945-967	
AD-1725028	UGCUGAUGGAUCAGACAGCU	948-968		AGCUGUCUGAUCCAUCUAGCACC	946-968	
AD-1725033	GAUGGAUCAGACAGCAUUGGU	953-973		ACCAAUGCUGUCUGAUCCAUCUA	951-973	
AD-1725039	CAACUUCACAGGAGCCAAAAU	979-999		ATUUTGGCUCCTGUGAAGUUGCU	977-999	
AD-1725040	AACUUCACAGGAGCCAAAAU	980-1000		ATUUTUGGCUCUCCUGUGAAGUUGC	978-1000	
AD-1725041	ACUUCACAGGAGCCAAAAGU	981-1001		ACUUTUTGGCUCUCCUGUGAAGUUG	979-1001	
AD-1725042	CUUCACAGGAGCCAAAAGUU	982-1002		AACUTUTUGGCTCCUGUGAAGUU	980-1002	
AD-1725043	UUCACAGGAGCCAAAAGUGU	983-1003		ACACTUTUUGGCUCUCCUGUGAAGU	981-1003	
AD-1725044	UCACAGGAGCCAAAAGUGUU	984-1004		AACACUTUUUGGCUCUCCUGUGAAG	982-1004	
AD-1725045	CACAGGAGCCAAAAGUGUCU	985-1005		AGACACTUUUUGGCUCUCCUGUGAA	983-1005	
AD-1725046	ACAGGAGCCAAAAGUGUCUU	986-1006		AAGACACUUUUTGGCUCUCCUGUGA	984-1006	
AD-1725047	CAGGAGCCAAAAGUGUCUAU	987-1007		ATAGACACUUUTUGGCUCUCCUGUG	985-1007	
AD-1725048	AGGAGCCAAAAGUGUCUAGU	988-1008		ACUAGACACUUTUUGGCUCUCCUGU	986-1008	
AD-1725049	GGAGCCAAAAGUGUCUAGUU	989-1009		AACUAGACACUTUUUGGCUCUCCUG	987-1009	
AD-1725050	GAGCCAAAAGUGUCUAGUCU	990-1010		AGACTAGACACTUUUUGGCUCUCCU	988-1010	
AD-1725051	AGCCAAAAGUGUCUAGUCAU	991-1011		ATGACUAGACACUUUUUGGCUCUCC	989-1011	
AD-1725052	GCCAAAAGUGUCUAGUCAAU	992-1012		ATUGACTAGACACUUUUUGGCUC	990-1012	
AD-1725053	CCAAAAGUGUCUAGUCAACU	993-1013		AGUUGACUAGACACUUUUUGGCUCU	991-1013	
AD-1725054	CAAAAAGUGUCUAGUCAACUU	994-1014		AAGUTGACUAGACACUUUUUGGC	992-1014	
AD-1725055	AAAAGUGUCUAGUCAACUUU	995-1015		AAAGTUGACUAGACACUUUUUGG	993-1015	
AD-1725056	AAAAGUGUCUAGUCAACUUAU	996-1016		ATAAGUTGACUAGACACUUUUUG	994-1016	
AD-1725057	AAAGUGUCUAGUCAACUUAU	997-1017		ATUAAGTUGACTAGACACUUUUU	995-1017	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1725058	AAGUGUCUAGUCAACUAAAUU	998-1018		AAUUAAGUUGACUAGACACUUU	996-1018	
AD-1725059	AGUGUCUAGUCAACUAAAUUU	999-1019		AAAUTAAGUUGACUAGACACUUU	997-1019	
AD-1725060	GUGUCUAGUCAACUAAAUUGU	1000-1020		ACAATUAAGUUGACUAGACACUU	998-1020	
AD-1725061	UGUCUAGUCAACUAAAUUGAU	1001-1021		ATCAAUTAAGUTGACUAGACACU	999-1021	
AD-1725062	GUCUAGUCAACUAAAUUGAGU	1002-1022		ACUCAATUAAGTUGACUAGACAC	1000-1022	
AD-1725066	AGUCAACUAAAUUGAGAAGGU	1006-1026		ACCUTCTCAAUTAAGUUGACUAG	1004-1026	
AD-1725074	UAAUUGAGAAGGUGGCAAGUU	1014-1034		AACUTGCCACCTUCUCAAUUAAG	1012-1034	
AD-1725075	AAUUGAGAAGGUGGCAAGUUU	1015-1035		AAACTUGCCACCUUCUCAAUUAA	1013-1035	
AD-1725079	GAGAAGGUGGCAAGUUAUGGU	1019-1039		ACCATAACUUGCCACCUUCUCA	1017-1039	
AD-1725080	AGAAGGUGGCAAGUUAUGGUU	1020-1040		AACCAUAACUUGCCACCUUCUCA	1018-1040	
AD-1725082	AAGGUGGCAAGUUAUGGUGUU	1022-1042		AACACCAUAACTUGCCACCUUCU	1020-1042	
AD-1725083	AGGUGGCAAGUUAUGGUGUGU	1023-1043		ACACACCAUAACUUGCCACCUUC	1021-1043	
AD-1725088	GCAAGUUAUGGUGUGAAGCCU	1028-1048		AGGCTUCACACCAUAACUUGCCA	1026-1048	
AD-1725092	GUUAUGGUGUGAAGCCAAGAU	1032-1052		ATCUTGGCUUCACACCAUAACUU	1030-1052	
AD-1725095	AUGGUGUGAAGCCAAGAUAUU	1035-1055		AAUATCTUGGCTUCACACCAUAA	1033-1055	
AD-1725096	UGGUGUGAAGCCAAGAUUGU	1036-1056		ACAUAUCUUGGCUUCACACCAUA	1034-1056	
AD-1725122	AAAUUUGGGUCAAGUGUCU	1082-1102		AGACACTUUGACCCAAAUUUUGG	1080-1102	
AD-1725123	AAAUUUGGGUCAAGUGUCUU	1083-1103		AAGACACUUUGACCCAAAUUUUG	1081-1103	
AD-1725125	AUUUGGGUCAAGUGUCUGAU	1085-1105		ATCAGACACUUTGACCCAAAUUU	1083-1105	
AD-1725156	GUA AUGCAGACUGGGUCACGU	1116-1136		ACGUGACCCAGTCUGCAUUACUG	1114-1136	
AD-1725157	UAAUGCAGACUGGGUCACGAU	1117-1137		ATCGTGACCCAGUCUGCAUUACU	1115-1137	
AD-1725158	AAUGCAGACUGGGUCACGAU	1118-1138		ATUCGUGACCCAGUCUGCAUUAC	1116-1138	
AD-1725159	AUGCAGACUGGGUCACGAAGU	1119-1139		ACUUCGTGACCCAGUCUGCAUUA	1117-1139	
AD-1725184	AAUGAAAUCAAUUAUGAAGAU	1145-1165		ATCUTCAUAAUTGAUUUCAUUGA	1143-1165	
AD-1725186	UGAAAUCAAUUAUGAAGACCU	1147-1167		AGGUCUTCAUAAUUGAUUUCAUU	1145-1167	
AD-1725189	AAUCAAUUAUGAAGACCACAU	1150-1170		ATGUGGTCUUCAUAAUUGAUUUC	1148-1170	
AD-1725190	AUCAAUUAUGAAGACCACAAU	1151-1171		ATUGTGGUCUUCAUAAUUGAUUU	1149-1171	
AD-1725191	UCAAUUAUGAAGACCACAAGU	1152-1172		ACUUGUGGUCUTCAUAAUUGAUU	1150-1172	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1725192	CAAUUAUGAAGACCACAAGUU	1153-1173		AACUTGTGGUCTUCAUAAUUGAU	1151-1173	
AD-1725193	AAUUAUGAAGACCACAAGUUU	1154-1174		AAACTUGUGGUCUUCAUAAUUGA	1152-1174	
AD-1725194	AUUAUGAAGACCACAAGUUGU	1155-1175		ACAACUTGUGGTTCUUCAUAAUUG	1153-1175	
AD-1725195	UUAUGAAGACCACAAGUUGAU	1156-1176		ATCAACTUGUGGUCUUCAUAAU	1154-1176	
AD-1725196	UAUGAAGACCACAAGUUGAAU	1157-1177		ATUCAACUUGUGGUCUUCAUAAU	1155-1177	
AD-1725197	AUGAAGACCACAAGUUGAAGU	1158-1178		ACUUCAACUUGTGGUCUUCAUAA	1156-1178	
AD-1725198	UGAAGACCACAAGUUGAAGUU	1159-1179		AACUTCAACUUGUGGUCUUCAUA	1157-1179	
AD-1725199	GAAGACCACAAGUUGAAGUCU	1160-1180		AGACTUCAACUTGUGGUCUUCAU	1158-1180	
AD-1725200	AAGACCACAAGUUGAAGUCAU	1161-1181		ATGACUTCAACTUGUGGUCUUCA	1159-1181	
AD-1725201	AGACCACAAGUUGAAGUCAGU	1162-1182		ACUGACTUCAACUUGUGGUCUUC	1160-1182	
AD-1725203	ACCACAAGUUGAAGUCAGGGU	1164-1184		ACCCTGACUUCAACUUGUGGUCU	1162-1184	
AD-1725204	CCACAAGUUGAAGUCAGGGAU	1165-1185		ATCCUGACUUCAACUUGUGGUC	1163-1185	
AD-1725205	CACAAGUUGAAGUCAGGGACU	1166-1186		AGUCCCTGACUTCAACUUGUGGU	1164-1186	
AD-1725206	ACAAGUUGAAGUCAGGGACUU	1167-1187		AAGUCCUGACTUCAACUUGUGG	1165-1187	
AD-1725208	AAGUUGAAGUCAGGGACUAAU	1169-1189		ATUAGUCCUGACUUCAACUUGU	1167-1189	
AD-1725211	UUGAAGUCAGGGACUAACACU	1172-1192		AGUGTUAGUCCUGACUUCAACU	1170-1192	
AD-1725212	UGAAGUCAGGGACUAACACCU	1173-1193		AGGUGUTAGUCCUGACUUCAAC	1171-1193	
AD-1725215	AGUCAGGGACUAACACCAAGU	1176-1196		ACUUGGTGUUAGUCCUGACUUC	1174-1196	
AD-1725216	GUCAGGGACUAACACCAAGAU	1177-1197		ATCUTGGUGUUAGUCCUGACUU	1175-1197	
AD-1725243	CCAGGCAGUGUACAGCAUGAU	1204-1224		ATCATGCUGUACACUGCCUGGAG	1202-1224	
AD-1725244	CAGGCAGUGUACAGCAUGAUU	1205-1225		AAUCAUGCUGUACACUGCCUGGA	1203-1225	
AD-1725245	AGGCAGUGUACAGCAUGAUGU	1206-1226		ACAUCATGCUGTACACUGCCUGG	1204-1226	
AD-1725247	GCAGUGUACAGCAUGAUGAGU	1208-1228		ACUCAUCAUGCTGUACACUGCCU	1206-1228	
AD-1725327	CUGAUGGAUUGCACAACAUGU	1290-1310		ACAUGUTGUGCAAUCCAUCAGUC	1288-1310	
AD-1725328	UGAUGGAUUGCACAACAUGGU	1291-1311		ACCATGTUGUGCAAUCCAUCAGU	1289-1311	
AD-1725329	GAUGGAUUGCACAACAUGGGU	1292-1312		ACCAUGUUGUGCAAUCCAUCAG	1290-1312	
AD-1725330	AUGGAUUGCACAACAUGGGCU	1293-1313		AGCCCATGUUGTGCAAUCCAUCA	1291-1313	
AD-1725331	UGGAUUGCACAACAUGGGCGU	1294-1314		ACGCCAUGUUGUGCAAUCCAUC	1292-1314	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1725332	GGAUUGCACAACAUGGGCGGU	1295-1315		ACCGCCCAUGUTGUGCAAUCCA	1293-1315	
AD-1725333	GACCCAAUUACUGUCAUUGAU	1316-1336		ATCAAUGACAGTAAUUGGGUCCC	1314-1336	
AD-1725334	ACCCAAUUACUGUCAUUGAUU	1317-1337		AAUCAATGACAGUAAUUGGGUCC	1315-1337	
AD-1725336	CCAAUUACUGUCAUUGAUGAU	1319-1339		ATCATCAAUGACAGUAAUUGGGU	1317-1339	
AD-1725344	UGUCAUUGAUGAGAUCGGGU	1327-1347		ACCCGGAUCUCAUCAUGACAGU	1325-1347	
AD-1725345	GUCAUUGAUGAGAUCGGGAU	1328-1348		ATCCCGGAUCUCAUCAUGACAG	1326-1348	
AD-1725347	CAUUGAUGAGAUCGGGACUU	1330-1350		AAGUCCCGGAUCUCAUCAUGAC	1328-1350	
AD-1725348	AUUGAUGAGAUCGGGACUUU	1331-1351		AAAGTCCCGGATCUCAUCAUGA	1329-1351	
AD-1725376	UUGGCAAGGAUCGCAAAAACU	1359-1379		AGUUTUTGCGATCCUUGCCAAUG	1357-1379	
AD-1725377	UGGCAAGGAUCGCAAAAACCU	1360-1380		AGGUTUTUGCGAUCCUUGCCAAU	1358-1380	
AD-1725378	GGCAAGGAUCGCAAAAACCCU	1361-1381		AGGGTUTUUGCGAUCCUUGCCAA	1359-1381	
AD-1725397	CAAGGGAGGAUUAUCUGGAUU	1380-1400		AAUCCAGUAATCCUCCUUGGG	1378-1400	
AD-1725402	GAGGAUUAUCUGGAUGUCUAU	1385-1405		ATAGACAUCCAGAUAAUCCUCCC	1383-1405	
AD-1725403	AGGAUUAUCUGGAUGUCUAUU	1386-1406		AAUAGACAUCCAGAUAAUCCUCC	1384-1406	
AD-1725404	GGAUUAUCUGGAUGUCUAUGU	1387-1407		ACAUAGACAUCCAGAUAAUCCUC	1385-1407	
AD-1725405	GAUUAUCUGGAUGUCUAUGUU	1388-1408		AACATAGACAUCCAGAUAAUCCU	1386-1408	
AD-1725406	AUUAUCUGGAUGUCUAUGUGU	1389-1409		ACACAUAGACATCCAGAUAAUCC	1387-1409	
AD-1725407	UUAUCUGGAUGUCUAUGUGUU	1390-1410		AACACATAGACAUCCAGAUAAUC	1388-1410	
AD-1725408	UAUCUGGAUGUCUAUGUGUUU	1391-1411		AAACACAUAGACAUCCAGAUAAU	1389-1411	
AD-1725409	AUCUGGAUGUCUAUGUGUUUU	1392-1412		AAAACACAUAGACAUCCAGAUAA	1390-1412	
AD-1725410	UCUGGAUGUCUAUGUGUUUGU	1393-1413		ACAAACACAUAGACAUCCAGAU	1391-1413	
AD-1725411	CUGGAUGUCUAUGUGUUUGGU	1394-1414		ACCAAACACAUAGACAUCCAGAU	1392-1414	
AD-1725427	AACCAAGUGAACAUCAAUGCU	1430-1450		AGCATUGAUGUTCACUUGGUUCA	1428-1450	
AD-1725428	ACCAAGUGAACAUCAAUGCUU	1431-1451		AAGCAUTGAUGTUCACUUGGUUC	1429-1451	
AD-1725429	CCAAGUGAACAUCAAUGCUUU	1432-1452		AAAGCATUGAUGUUCACUUGGUU	1430-1452	
AD-1725430	CAAGUGAACAUCAAUGCUUUU	1433-1453		AAAAGCAUUGATGUUCACUUGGU	1431-1453	
AD-1725439	AUCAUGCUUUGGCUUCCA	1442-1462		ATUGGAAGCCAAGCAUUGAUGU	1440-1462	
AD-1725440	UCAUGCUUUGGCUUCCAAGU	1443-1463		ACUUGGAAGCCAAGCAUUGAUG	1441-1463	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1725441	CAAUGCUUUGGCUUCCAAGAU	1444-1464		ATCUTGGAAGCCAAAGCAUUGAU	1442-1464	
AD-1725449	UGGCUUCCAAGAAAGACAAUU	1452-1472		AAUUGUCUUUCTUGGAAGCCAAA	1450-1472	
AD-1725453	UCCAAGAAAGACAAUGAGCU	1456-1476		AGCUCATUGUCTUUCUUGGAAGC	1454-1476	
AD-1725454	UCCAAGAAAGACAAUGAGCAU	1457-1477		ATGCTCAUUGUCUUUCUUGGAAG	1455-1477	
AD-1725456	CAAGAAAGACAAUGAGCAACU	1459-1479		AGUUGCTCAUUGUCUUUCUUGGA	1457-1479	
AD-1725457	AAGAAAGACAAUGAGCAACAU	1460-1480		ATGUTGCUCAUTGUCUUUCUUGG	1458-1480	
AD-1725460	AAAGACAAUGAGCAACAUGUU	1463-1483		AACATGTUGCUCAUUGUCUUUCU	1461-1483	
AD-1725462	AGACAAUGAGCAACAUGUGUU	1465-1485		AACACATGUUGCUCAUUGUCUUU	1463-1485	
AD-1725463	GACAAUGAGCAACAUGUGUUU	1466-1486		AAACACAUGUUGCUCAUUGUCUU	1464-1486	
AD-1725464	ACAAUGAGCAACAUGUGUUCU	1467-1487		AGAACACAUGUTGCUCAUUGUCU	1465-1487	
AD-1725465	CAAUGAGCAACAUGUGUUCAU	1468-1488		ATGAACACAUGTUGCUCAUUGUC	1466-1488	
AD-1725467	AUGAGCAACAUGUGUUCAAAU	1470-1490		ATUUGAACACATGUUGCUCAUUG	1468-1490	
AD-1725469	GAGCAACAUGUGUUCAAAGUU	1472-1492		AACUTUGAACACAUGUUGCUCAU	1470-1492	
AD-1725470	AGCAACAUGUGUUCAAAGUCU	1473-1493		AGACTUTGAACACAUGUUGCUCU	1471-1493	
AD-1725472	CAACAUGUGUUCAAAGUCAAU	1475-1495		ATUGACTUUGAACACAUGUUGCUCU	1473-1495	
AD-1725473	AACAUGUGUUCAAAGUCAAGU	1476-1496		ACUUGACUUUGAACACAUGUUGC	1474-1496	
AD-1725474	ACAUGUGUUCAAAGUCAAGGU	1477-1497		ACCUUGACUUUGAACACAUGUUG	1475-1497	
AD-1725476	AUGUGUUCAAAGUCAAGGAUU	1479-1499		AAUCCUTGACUTUGAACACAUGU	1477-1499	
AD-1725477	UGUGUUCAAAGUCAAGGAUUAU	1480-1500		ATAUCCTUGACTUUGAACACAUG	1478-1500	
AD-1725478	GUGUUCAAAGUCAAGGAUUAU	1481-1501		AAUATCCUUGACUUUGAACACAU	1479-1501	
AD-1725481	UUCAAGUCAAGGAUAUGGAU	1484-1504		ATCCAUAUCCUTGACUUUGAACA	1482-1504	
AD-1725482	UCAAGUCAAGGAUAUGGAAU	1485-1505		ATUCCATAUCCTUGACUUUGAAC	1483-1505	
AD-1725483	CAAAGUCAAGGAUAUGGAAU	1486-1506		ATUCCAUAUCCUUGACUUUGAA	1484-1506	
AD-1725534	UGAAAGCCAGUCUCUGAGUCU	1537-1557		AGACTCAGAGACUGGCUUUCAUC	1535-1557	
AD-1725535	GAAAGCCAGUCUCUGAGUCUU	1538-1558		AAGACUCAGAGACUGGCUUUCAU	1536-1558	
AD-1725548	UGAGUCUCUGUGGCAUGGUUU	1551-1571		AAACCATGCCACAGAGACUCAGA	1549-1571	
AD-1725552	UCUCUGUGGCAUGGUUUGGGU	1555-1575		ACCAAACCAUGCCACAGAGACU	1553-1575	
AD-1725556	UGUGGCAUGGUUUGGGAACAU	1559-1579		ATGUTCCCAAACCAUGCCACAGA	1557-1579	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1725558	UGGCAUGGUUUGGGAACACAU	1561-1581		ATGUGUTCCCAAACCAUGCCACA	1559-1581	
AD-1725580	AAGGGUACCGAUUACCACAAU	1583-1603		ATUGTGGUAAUCGGUACCCUUC	1581-1603	
AD-1725582	GGGUACCGAUUACCACAAGCU	1585-1605		AGCUTGTGGUAAUCGGUACCCU	1583-1605	
AD-1725585	UACCGAUUACCACAAGCAACU	1588-1608		AGUUGCTUGUGGUAUCGGUACC	1586-1608	
AD-1725587	CCGAUUACCACAAGCAACCAU	1590-1610		ATGGTUGCUUGTGGUAAUCGGUA	1588-1610	
AD-1725588	CGAUUACCACAAGCAACCAU	1591-1611		AAUGGUTGCUUGUGGUAUCGGU	1589-1611	
AD-1725590	AUUACCACAAGCAACCAUGGU	1593-1613		ACCATGGUUGCTUGUGGUAUCG	1591-1613	
AD-1725591	UUACCACAAGCAACCAUGGCU	1594-1614		AGCCAUGGUUGCUUGUGGUAUC	1592-1614	
AD-1725592	UACCACAAGCAACCAUGGCAU	1595-1615		ATGCCATGGUUGCUUGUGGUAU	1593-1615	
AD-1725593	ACCACAAGCAACCAUGGCAGU	1596-1616		ACUGCCAUGGUTGCUUGUGGUA	1594-1616	
AD-1725598	AAGCAACCAUGGCAGGCCAAU	1601-1621		ATUGGCCUGCCAUGGUUGCUUGU	1599-1621	
AD-1725603	ACCAUGGCAGGCCAAGAUCUU	1606-1626		AAGATCTUGGCCUGCCAUGGUUG	1604-1626	
AD-1725604	CCAUGGCAGGCCAAGAUCUCU	1607-1627		AGAGAUCUUGGCCUGCCAUGGUU	1605-1627	
AD-1725605	CAUGGCAGGCCAAGAUCUCAU	1608-1628		ATGAGATCUUGGCCUGCCAUGGU	1606-1628	
AD-1725643	GCUGUGGUGUCUGAGUACUUU	1667-1687		AAAGTACUCAGACACCACAGCCC	1665-1687	
AD-1725644	CUGUGGUGUCUGAGUACUUUU	1668-1688		AAAAGUACUCAGACACCACAGCC	1666-1688	
AD-1725645	UGUGGUGUCUGAGUACUUUGU	1669-1689		ACAAAGTACUCAGACACCACAGC	1667-1689	
AD-1725646	GUGGUGUCUGAGUACUUUGUU	1670-1690		AACAAAGUACUCAGACACCACAG	1668-1690	
AD-1725647	UGGUGUCUGAGUACUUUGUGU	1671-1691		ACACAAAGUACTCAGACACCACA	1669-1691	
AD-1725667	CUGACAGCAGCACAUUGUUUU	1691-1711		AAAACAAUGUGCUGCUGUCAGCA	1689-1711	
AD-1725716	AAGCGGGACCUGGAGAUAGAU	1760-1780		ATCUAUCUCCAGGUCCCGCUUCU	1758-1780	
AD-1725717	AGCGGGACCUGGAGAUAGAAU	1761-1781		ATUCTATCUCCAGGUCCCGCUUC	1759-1781	
AD-1725756	GAAGCAGGAAUUCUGAAUUU	1823-1843		AAAUTCAGGAATUCCUGCUUCU	1821-1843	
AD-1725757	AAGCAGGAAUUCUGAAUUUU	1824-1844		AAAATUCAGGAAUUCUGCUUCU	1822-1844	
AD-1725759	GCAGGAAUUCUGAAUUUUUAU	1826-1846		ATAAAATUCAGGAAUUCUGCUU	1824-1846	
AD-1725760	CAGGAAUUCUGAAUUUUUAU	1827-1847		AAUAAAAUUCAGGAAUUCUGCU	1825-1847	
AD-1725761	AGGAAUUCUGAAUUUUUAUGU	1828-1848		ACAUAAAAUUCAGGAAUUCUGC	1826-1848	
AD-1725762	GGAAUUCUGAAUUUUUAUGAU	1829-1849		ATCATAAAAAUUCAGGAAUUCUG	1827-1849	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1725763	GAAUCCUGAAUUUAUGACU	1830-1850		AGUCAUAAAUTCAGGAAUCCU	1828-1850	
AD-1725764	AAUCCUGAAUUUAUGACUU	1831-1851		AAGUCATAAAATUCAGGAAUCC	1829-1851	
AD-1725765	AUCCUGAAUUUAUGACUAU	1832-1852		ATAGTCAUAAA AUUCAGGAAUUC	1830-1852	
AD-1725766	UCCUGAAUUUAUGACUAU	1833-1853		AAUAGUCAUAAA AUUCAGGAAU	1831-1853	
AD-1725767	UCCUGAAUUUAUGACUAUGU	1834-1854		ACAUAGTCAUAAA AUUCAGGAAU	1832-1854	
AD-1725768	CCUGAAUUUAUGACUAUGAU	1835-1855		ATCATAGUCAUAAA AUUCAGGAA	1833-1855	
AD-1725769	CUGAAUUUAUGACUAUGACU	1836-1856		AGUCAUAGUCATAAAA AUUCAGGA	1834-1856	
AD-1725771	GAAUUUAUGACUAUGACGUU	1838-1858		AACGTCAUAGUCAUAAA AUUCAG	1836-1858	
AD-1725772	AAUUUAUGACUAUGACGUUU	1839-1859		AAACGUCAUAGTCAUAAA AUUCA	1837-1859	
AD-1725773	AUUUAUGACUAUGACGUUGU	1840-1860		ACAACGTCAUAGUCAUAAA AUUC	1838-1860	
AD-1725775	UUUAUGACUAUGACGUUGCCU	1842-1862		AGGCAACGUCATAGUCAUAAA AU	1840-1862	
AD-1725776	UUAUGACUAUGACGUUGCCCU	1843-1863		AGGGCAACGUCAUAGUCAUAAA AU	1841-1863	
AD-1725777	UAUGACUAUGACGUUGCCCUU	1844-1864		AAGGGCAACGUCAUAGUCAUAAA AU	1842-1864	
AD-1725778	AUGACUAUGACGUUGCCUGU	1845-1865		ACAGGGCAACGTCAUAGUCAUAAA AU	1843-1865	
AD-1725779	UGACUAUGACGUUGCCUGAU	1846-1866		ATCAGGGCAACGUCAUAGUCAUAAA AU	1844-1866	
AD-1725780	GACUAUGACGUUGCCUGAUU	1847-1867		AAUCAGGGCAACGUCAUAGUCAUAAA AU	1845-1867	
AD-1725784	AUGACGUUGCCUGAUCAAGU	1851-1871		ACUUGATCAGGGCAACGUCAUAGUCAU	1849-1871	
AD-1725785	UGACGUUGCCUGAUCAAGCU	1852-1872		AGCUTGAUCAGGGCAACGUCAUAGUCAU	1850-1872	
AD-1725786	GACGUUGCCUGAUCAAGCUU	1853-1873		AAGCTUGAUCAGGGCAACGUCAUAGUCAU	1851-1873	
AD-1725787	ACGUUGCCUGAUCAAGCUCU	1854-1874		AGAGCUTGAUCAGGGCAACGUCAUAGUCAU	1852-1874	
AD-1725789	GUUGCCUGAUCAAGCUCAAU	1856-1876		ATUGAGCUUGATCAGGGCAACGUCUAGUCAU	1854-1876	
AD-1725790	UUGCCUGAUCAAGCUCAAGU	1857-1877		ACUUGAGCUUGAUCAGGGCAACGUCUAGUCAU	1855-1877	
AD-1725828	CAGACUAUCAGGCCCAUUUGU	1895-1915		ACAAAUGGGCCTGAUAGUCUGGC	1893-1915	
AD-1725829	AGACUAUCAGGCCCAUUUGUU	1896-1916		AACAAATGGGCCUGAUAGUCUGG	1894-1916	
AD-1725830	GACUAUCAGGCCCAUUUGUCU	1897-1917		AGACAAAUGGGCCUGAUAGUCUG	1895-1917	
AD-1725831	ACUAUCAGGCCCAUUUGUCUU	1898-1918		AAGACAAAUGGGCCUGAUAGUCU	1896-1918	
AD-1725832	CUAUCAGGCCCAUUUGUCUCU	1899-1919		AGAGACAAAUGGGCCUGAUAGUC	1897-1919	
AD-1725840	CGAGGGAACAACUCGAGCUUU	1927-1947		AAAGCUCGAGUTGUUCCUCGGU	1925-1947	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1725841	GAGGGAACAACUCGAGCUUUU	1928-1948		AAAAGCTCGAGTUGUUCCCUCGG	1926-1948	
AD-1725842	AGGGAACAACUCGAGCUUUGU	1929-1949		ACAAAGCUCGAGUUGUCCCUCG	1927-1949	
AD-1725845	GAACAACUCGAGCUUUGAGGU	1932-1952		ACCUCAAAGCUCGAGUUGUCCC	1930-1952	
AD-1725846	AACAACUCGAGCUUUGAGGCU	1933-1953		AGCCTCAAAGCTCGAGUUGUCC	1931-1953	
AD-1725848	CAACUCGAGCUUUGAGGCUUU	1935-1955		AAAGCCTCAAAGCUCGAGUUGU	1933-1955	
AD-1725849	AACUCGAGCUUUGAGGCUUCU	1936-1956		AGAAGCCUCAAGCUCGAGUUGU	1934-1956	
AD-1725850	ACUCGAGCUUUGAGGCUUCCU	1937-1957		AGGAAGCCUCAAGCUCGAGUUG	1935-1957	
AD-1725854	GAGCUUUGAGGCUUCCUCAU	1941-1961		ATGGAGGAAGCCUCAAGCUCGA	1939-1961	
AD-1725855	AGCUUUGAGGCUUCCUCAAU	1942-1962		ATUGGAGGAAGCCUCAAGCUCG	1940-1962	
AD-1725856	GCUUUGAGGCUUCCUCAACU	1943-1963		AGUUGGAGGAAGCCUCAAGCUC	1941-1963	
AD-1725857	CUUUGAGGCUUCCUCAACUU	1944-1964		AAGUTGGAGGAAGCCUCAAGCU	1942-1964	
AD-1725858	UUUGAGGCUUCCUCAACU	1945-1965		ATAGTUGGAGGAAGCCUCAAGC	1943-1965	
AD-1725861	GAGGCUUCCUCAACUACCAU	1948-1968		ATGGTAGUUGGAGGAAGCCUCA	1946-1968	
AD-1725862	AGGCUUCCUCAACUACCACU	1949-1969		AGUGGUAGUUGGAGGAAGCCUCA	1947-1969	
AD-1725864	GCUUCCUCAACUACCACUUU	1951-1971		AAAGTGGUAGUTGGAGGAAGCCU	1949-1971	
AD-1725866	UCCUCAACUACCACUUGCU	1953-1973		AGCAAGTGGUAGUUGGAGGAAGC	1951-1973	
AD-1725867	UCCUCAACUACCACUUGCCU	1954-1974		AGGCAAGUGGUAGUUGGAGGAAG	1952-1974	
AD-1725872	CAACUACCACUUGCCAGCAAU	1959-1979		ATUGCUGGCAAGUGGUAGUUGGA	1957-1979	
AD-1725874	ACUACCACUUGCCAGCAAU	1961-1981		ATGUTGCUGGCAAGUGGUAGUUG	1959-1981	
AD-1725907	CUCCUGCACAGGAUAUCAAU	1994-2014		ATUGAUAUCCUGUGCAGGGAGCA	1992-2014	
AD-1725908	UCCUGCACAGGAUAUCAAAU	1995-2015		ATUUGATAUCCTGUGCAGGGAGC	1993-2015	
AD-1725909	CCCUGCACAGGAUAUCAAGU	1996-2016		ACUUTGAUAUCCUGUGCAGGGAG	1994-2016	
AD-1725911	CUGCACAGGAUAUCAAGCUU	1998-2018		AAGCTUTGAUATCCUGUGCAGGG	1996-2018	
AD-1725916	CAGGAUAUCAAGCUCUGUUU	2003-2023		AAACAGAGCUUTGAUAUCCUGUG	2001-2023	
AD-1725919	GAUAUCAAGCUCUGUUUGU	2006-2026		AACAAACAGAGCUUUGAUAUCCU	2004-2026	
AD-1725925	AAAGCUCUGUUUGUGUCUGAU	2012-2032		ATCAGACACAAACAGAGCUUUGA	2010-2032	
AD-1725957	GCUGACUCGGAAGGAGGUCU	2044-2064		AAGACCTCCUUCGAGUCAGCUU	2042-2064	
AD-1725958	CUGACUCGGAAGGAGGUCU	2045-2065		ATAGACCUCCTCCGAGUCAGCU	2043-2065	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1725961	ACUCGGAAGGAGGUCUACAUAU	2048-2068		AAUGTAGACCUCCUUCGAGUCA	2046-2068	
AD-1725963	UCGGAAGGAGGUCUACAUCAU	2050-2070		ATGATGTAGACCUCCUUCGAGU	2048-2070	
AD-1725964	CGGAAGGAGGUCUACAUCAAU	2051-2071		ATUGAUGUAGACCUCCUUCGAG	2049-2071	
AD-1725967	AAGGAGGUCUACAUCAAGAAU	2054-2074		ATUCTUGAUGUAGACCUCCUUC	2052-2074	
AD-1725968	AGGAGGUCUACAUCAAGAAU	2055-2075		AAUUCUTGAUGTAGACCUCCUUC	2053-2075	
AD-1725974	AAGAAAGGCAGCUGUGAGAGU	2081-2101		ACUCTCACAGCTGCCUUUCUUAU	2079-2101	
AD-1725977	AAAGGCAGCUGUGAGAGAGAU	2084-2104		ATCUCUCUCACAGCUGCCUUUCU	2082-2104	
AD-1725983	AGCUGUGAGAGAGAUGCUCAU	2090-2110		ATGAGCAUCUCTCUCACAGCUGC	2088-2110	
AD-1725985	CUGUGAGAGAGAUGCUCAAU	2092-2112		AAUUGAGCAUCTCUCUCACAGCU	2090-2112	
AD-1725986	UGUGAGAGAGAUGCUCAAUAU	2093-2113		ATAUTGAGCAUCUCUCUCACAGC	2091-2113	
AD-1725987	GUGAGAGAGAUGCUCAAUAU	2094-2114		AAUATUGAGCATCUCUCUCACAG	2092-2114	
AD-1725988	UGAGAGAGAUGCUCAAUAUGU	2095-2115		ACAUAUTGAGCAUCUCUCUCACA	2093-2115	
AD-1725989	GAGAGAGAUGCUCAAUAUGCU	2096-2116		AGCATATUGAGCAUCUCUCUCAC	2094-2116	
AD-1725991	CAGGCUAUGACAAAGUCAAGU	2118-2138		ACUUGACUUUGTCAUAGCCUGGG	2116-2138	
AD-1725992	AGGCUAUGACAAAGUCAAGGU	2119-2139		ACCUTGACUUUGUCAUAGCCUGG	2117-2139	
AD-1725993	GGCUAUGACAAAGUCAAGGAU	2120-2140		ATCCTUGACUUTGUCAUAGCCUG	2118-2140	
AD-1725999	GACAAAGUCAAGGACAUCUCU	2126-2146		AGAGAUGUCCUTGACUUUGUCAU	2124-2146	
AD-1726014	UCGGUCCUUUGUACUGGAGU	2161-2181		ACUCCAGUACAAAGGAACCGAGG	2159-2181	
AD-1726015	CGGUUCCUUUGUACUGGAGGU	2162-2182		ACCUCCAGUACAAAGGAACCGAG	2160-2182	
AD-1726016	GGUUCCUUUGUACUGGAGGAU	2163-2183		ATCCTCCAGUACAAAGGAACCGA	2161-2183	
AD-1726018	UUCUUUGUACUGGAGGAGUU	2165-2185		AACUCCTCCAGTACAAAGGAACC	2163-2185	
AD-1726020	CCUUUGUACUGGAGGAGUGAU	2167-2187		ATCACUCCUCCAGUACAAAGGAA	2165-2187	
AD-1726023	UUGUACUGGAGGAGUGAGUCU	2170-2190		AGACTCACUCCTCCAGUACAAAG	2168-2190	
AD-1726024	UGUACUGGAGGAGUGAGUCCU	2171-2191		AGGACUCACUCCUCCAGUACAAA	2169-2191	
AD-1726025	GUACUGGAGGAGUGAGUCCCU	2172-2192		AGGGACTCACUCCUCCAGUACAA	2170-2192	
AD-1726027	ACUGGAGGAGUGAGUCCCUAU	2174-2194		ATAGGGACUCACUCCUCCAGUAC	2172-2194	
AD-1726029	UGGAGGAGUGAGUCCCUAUGU	2176-2196		ACAUAGGGACUCACUCCUCCAGU	2174-2196	
AD-1726031	GAGGAGUGAGUCCCUAUGCUU	2178-2198		AAGCAUAGGGACUCACUCCUCCA	2176-2198	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1726033	GGAGUGAGUCCCUAUGCUGAU	2180-2200		ATCAGCAUAGGGACUCACUCCUC	2178-2200	
AD-1726034	GAGUGAGUCCCUAUGCUGACU	2181-2201		AGUCAGCAUAGGGACUCACUCCU	2179-2201	
AD-1726036	CAAUACUUGCAGAGGUGAUUU	2203-2223		AAAUCACCUCUGCAAGUAUUGGG	2201-2223	
AD-1726037	AAUACUUGCAGAGGUGAUUCU	2204-2224		AGAATCACCUCTGCAAGUAUUGG	2202-2224	
AD-1726039	UACUUGCAGAGGUGAUUCUGU	2206-2226		ACAGAATCACCTCUGCAAGUAUU	2204-2226	
AD-1726041	CUUGCAGAGGUGAUUCUGGCU	2208-2228		AGCCAGAAUCACCUCUGCAAGUA	2206-2228	
AD-1726042	UUGCAGAGGUGAUUCUGGCGU	2209-2229		ACGCCAGAAUCACCUCUGCAAGU	2207-2229	
AD-1726048	UGAUAGUUCACAAGAGAAGUU	2235-2255		AACUTCTCUUGTGAACUAUCAAG	2233-2255	
AD-1726049	GAUAGUUCACAAGAGAAGUCU	2236-2256		AGACTUCUCUUGUGAACUAUCA	2234-2256	
AD-1726050	AUAGUUCACAAGAGAAGUCGU	2237-2257		ACGACUTCUCUTGUGAACUAUCA	2235-2257	
AD-1726051	UAGUUCACAAGAGAAGUCGUU	2238-2258		AACGACTUCUCTUGUGAACUAUC	2236-2258	
AD-1726052	AGUUCACAAGAGAAGUCGUUU	2239-2259		AAACGACUUCUCUUGUGAACUAU	2237-2259	
AD-1726053	GUUCACAAGAGAAGUCGUUUU	2240-2260		AAAACGACUUCTCUUGUGAACUA	2238-2260	
AD-1726054	UUCACAAGAGAAGUCGUUUCU	2241-2261		AGAAACGACUUCUCUUGUGAACU	2239-2261	
AD-1726055	UCACAAGAGAAGUCGUUUCAU	2242-2262		ATGAAACGACUTCUCUUGUGAAC	2240-2262	
AD-1726056	CACAAGAGAAGUCGUUUCAU	2243-2263		AAUGAAACGACTUCUCUUGUGAA	2241-2263	
AD-1726057	ACAAGAGAAGUCGUUUCAUUU	2244-2264		AAAUGAAACGACUUCUCUUGUGA	2242-2264	
AD-1726058	CAAGAGAAGUCGUUUCAUUCU	2245-2265		AGAATGAAACGACUUCUCUUGUG	2243-2265	
AD-1726059	AAGAGAAGUCGUUUCAUUCAU	2246-2266		ATGAAUGAAACGACUUCUCUUGU	2244-2266	
AD-1726060	AGAGAAGUCGUUUCAUUCAAU	2247-2267		ATUGAATGAAACGACUUCUCUUG	2245-2267	
AD-1726061	GAGAAGUCGUUUCAUUCAAGU	2248-2268		ACUUGAAUGAAACGACUUCUCUU	2246-2268	
AD-1726062	AGAAGUCGUUUCAUUCAAGUU	2249-2269		AACUTGAAUGAAACGACUUCUCU	2247-2269	
AD-1726063	GAAGUCGUUUCAUUCAAGUUU	2250-2270		AAACTUGAAUGAAACGACUUCUC	2248-2270	
AD-1726064	AAGUCGUUUCAUUCAAGUUGU	2251-2271		ACAACUTGAAUGAAACGACUUCU	2249-2271	
AD-1726065	AGUCGUUUCAUUCAAGUUGGU	2252-2272		ACCAACTUGAATGAAACGACUUC	2250-2272	
AD-1726079	GAGUAGUGGAUGUCUGCAAAU	2286-2306		ATUUGCAGACATCCACUACUCCC	2284-2306	
AD-1726080	AGUAGUGGAUGUCUGCAAAAU	2287-2307		ATUUTGCAGACAUCCACUACUCC	2285-2307	
AD-1726081	GUAGUGGAUGUCUGCAAAAAU	2288-2308		ATUUTUGCAGACAUCCACUACUC	2286-2308	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1726082	UAGUGGAUGUCUGCAAAAACU	2289-2309		AGUUTUTGCAGACAUCCACUACU	2287-2309	
AD-1726083	AGUGGAUGUCUGCAAAAACCU	2290-2310		AGGUTUTUGCAGACAUCCACUAC	2288-2310	
AD-1726084	GUGGAUGUCUGCAAAAACCAU	2291-2311		ATGGTUTUUGCAGACAUCCACUA	2289-2311	
AD-1726085	UGGAUGUCUGCAAAAACCAGU	2292-2312		ACUGGUTUUUGCAGACAUCCACU	2290-2312	
AD-1726086	GGAUGUCUGCAAAAACCAGAU	2293-2313		ATCUGGTUUUUGCAGACAUCCAC	2291-2313	
AD-1726087	GAUGUCUGCAAAAACCAGAAU	2294-2314		ATUCTGGUUUUTGCAGACAUCCA	2292-2314	
AD-1726090	GUCUGCAAAAACCAGAAGCGU	2297-2317		ACGCTUCUGGUTUUUGCAGACAU	2295-2317	
AD-1726091	UCUGCAAAAACCAGAAGCGGU	2298-2318		ACCGCUTCUGGTUUUUGCAGACA	2296-2318	
AD-1726092	CUGCAAAAACCAGAAGCGGCU	2299-2319		AGCCGCTUCUGGUUUUUGCAGAC	2297-2319	
AD-1726095	CAAAAACCAGAAGCGGCAAAU	2302-2322		ATUUGCCGCUUCUGGUUUUUGCA	2300-2322	
AD-1726096	AAAACCAGAAGCGGCAAAU	2303-2323		ATUUTGCCGCUTCUGGUUUUUGC	2301-2323	
AD-1726097	AAAACCAGAAGCGGCAAAAGU	2304-2324		ACUUTUGCCGCTUCUGGUUUUUG	2302-2324	
AD-1726098	AAACCAGAAGCGGCAAAAGCU	2305-2325		AGCUTUTGCCGCUUCUGGUUUUU	2303-2325	
AD-1726099	AACCAGAAGCGGCAAAAGCAU	2306-2326		ATGCTUTUGCCGCUUCUGGUUUU	2304-2326	
AD-1726103	AGAAGCGGCAAAAGCAGGUAU	2310-2330		ATACCUGCUUUTGCCGCUUCUGG	2308-2330	
AD-1726113	AAAGCAGGUACCUGCUCACGU	2320-2340		ACGUGAGCAGGTACCUGCUUUUG	2318-2340	
AD-1726159	CAAGUGCUGCCUGGCUGAAU	2366-2386		ATUCAGCCAGGGCAGCACUUGAA	2364-2386	
AD-1726171	UGGCUGAAGGAGAAACUCCA	2378-2398		ATGGAGTUUCUCCUUCAGCCAGG	2376-2398	
AD-1726184	AACUCCAAGAUGAGGAUUUGU	2391-2411		ACAAAUCCUCATCUUGGAGUUUC	2389-2411	
AD-1726187	UCCAAGAUGAGGAUUUGGGUU	2394-2414		AACCCAAAUCCTCAUCUUGGAGU	2392-2414	
AD-1726189	CAAGAUGAGGAUUUGGGUUUU	2396-2416		AAAACCCAAAUCCUCAUCUUGGA	2394-2416	
AD-1726191	AGAUGAGGAUUUGGGUUUUCU	2398-2418		AGAAAACCCAAAUCCUCAUCUUG	2396-2418	
AD-1726201	GUGGGAUUGAAUUAAAACAGU	2446-2466		ACUGTUTUAAUTCAAUCCCACGC	2444-2466	
AD-1726202	UGGGAUUGAAUUAAAACAGCU	2447-2467		AGCUGUTUUAATUCAUCCCACG	2445-2467	
AD-1726203	GGGAUUGAAUUAAAACAGCUU	2448-2468		AAGCTGTUUUAAUUCAAUCCCAC	2446-2468	
AD-1726206	AUUGAAUUAAAACAGCUGCGU	2451-2471		ACGCAGCUGUUTUAAUUCAAUCC	2449-2471	
AD-1726207	UUGAAUUAAAACAGCUGCGAU	2452-2472		ATCGCAGCUGUTUAAUUCAAUC	2450-2472	
AD-1726208	UGAAUUAAAACAGCUGCGACU	2453-2473		AGUCGCAGCUGTUUAAUUCAAU	2451-2473	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1726209	GAAUUAACAGCUGCGACAU	2454-2474		ATGUCGCAGCUGUUUAAUUCAA	2452-2474	
AD-1726815	CUGGCUUCUACCCGUACCCUU	469-489		AAGGGUACGGGUAGAAGCCAGAA	467-489	
AD-1726927	CCCUACUACAAUGUGAGUGAU	633-653		AUCACUCACAUUGUAGUAGGGAG	631-653	
AD-1726928	CCUACUACAAUGUGAGUGAUU	634-654		AAUCACUCACAUUGUAGUAGGGA	632-654	
AD-1726931	ACUACAAUGUGAGUGAUGAGU	637-657		ACUCAUCACUCACAUUGUAGUAG	635-657	
AD-1726934	ACAAUGUGAGUGAUGAGAUCU	640-660		AGAUCUCAUCACUCACAUUGUAG	638-660	
AD-1726935	CAAUGUGAGUGAUGAGAUCUU	641-661		AAGAUCUCAUCACUCACAUUGUA	639-661	
AD-1726936	AAUGUGAGUGAUGAGAUCUCU	642-662		AGAGAUCUCAUCACUCACAUUGU	640-662	
AD-1726937	AUGUGAGUGAUGAGAUCUCUU	643-663		AAGAGAUCUCAUCACUCACAUUG	641-663	
AD-1726938	UGUGAGUGAUGAGAUCUCUUU	644-664		AAAGAGAUCUCAUCACUCACAUU	642-664	
AD-1726939	GUGAGUGAUGAGAUCUCUUUU	645-665		AAAAGAGAUCUCAUCACUCACAU	643-665	
AD-1726940	UGAGUGAUGAGAUCUCUUUCU	646-666		AGAAAGAGAUCUCAUCACUCACA	644-666	
AD-1726941	GAGUGAUGAGAUCUCUUUCCU	647-667		AGGAAAGAGAUCUCAUCACUCAC	645-667	
AD-1726942	AGUGAUGAGAUCUCUUUCCAU	648-668		AUGGAAAGAGAUCUCAUCACUCA	646-668	
AD-1726944	UGAUGAGAUCUCUUUCCACUU	650-670		AAGUGGAAAGAGAUCUCAUCACU	648-670	
AD-1726952	UCUCUUUCCACUGCUAUGACU	658-678		AGUCAUAGCAGUGGAAAGAGAUC	656-678	
AD-1726961	ACUGCUAUGACGGUUACACUU	667-687		AAGUGUAACCGUCAUAGCAGUGG	665-687	
AD-1727012	CAGACAGCGAUCUGUGACAAU	738-758		AUUGUCACAGAUCGCUGUCUGCC	736-758	
AD-1727059	CUUGAAGACAGCGUCACCUAU	825-845		AUAGGUGACGCUGUCUUAAGGC	823-845	
AD-1727140	AAGACUCCUUCAUGUACGACU	934-954		AGUCGUACAUGAAGGAGUCUUGG	932-954	
AD-1727142	GACUCCUUCAUGUACGACACU	936-956		AGUGUCGUACAUGAAGGAGUCUU	934-956	
AD-1727181	AGAGACCAUAGAAGGAGUCGU	995-1015		ACGACUCCUUCUAUGGUCUCUGU	993-1015	
AD-1727183	AGACCAUAGAAGGAGUCGAUU	997-1017		AAUCGACUCCUUCUAUGGUCUCU	995-1017	
AD-1727184	GACCAUAGAAGGAGUCGAUGU	998-1018		ACAUCGACUCCUUCUAUGGUCUC	996-1018	
AD-1727249	UGAACAUUCUACCGUGCUAU	1084-1104		AUAGCACCAGGUAGAUGUUCAUG	1082-1104	
AD-1727261	UGGUGCUAGAUGGAUCAGACU	1096-1116		AGUCUGAUCCAUCUAGCACCAGG	1094-1116	
AD-1727263	GUGCUAGAUGGAUCAGACAGU	1098-1118		ACUGUCUGAUCCAUCUAGCACCA	1096-1118	
AD-1727275	CAACUUCACAGGAGCCAAAUAU	1130-1150		AUUUUGGCUCUGUGAAGUUGCU	1128-1150	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1727276	AACUUCACAGGAGCCAAAAAU	1131-1151		AUUUUUGGCUCCUGUGAAGUUGC	1129-1151	
AD-1727278	CUUCACAGGAGCCAAAAGUU	1133-1153		AACUUUUUGGCUCCUGUGAAGUU	1131-1153	
AD-1727285	GGAGCCAAAAGUGUCUAGUU	1140-1160		AACUAGACACUUUUUGGCUCCUG	1138-1160	
AD-1727286	GAGCCAAAAGUGUCUAGUCU	1141-1161		AGACUAGACACUUUUUGGCUCCU	1139-1161	
AD-1727288	GCCAAAAGUGUCUAGUCAAU	1143-1163		AUUGACUAGACACUUUUUGGCUC	1141-1163	
AD-1727289	CCAAAAGUGUCUAGUCAACU	1144-1164		AGUUGACUAGACACUUUUUGGCU	1142-1164	
AD-1727290	CAAAAAGUGUCUAGUCAACUU	1145-1165		AAGUUGACUAGACACUUUUUGGC	1143-1165	
AD-1727291	AAAAGUGUCUAGUCAACUUU	1146-1166		AAAGUUGACUAGACACUUUUUGG	1144-1166	
AD-1727292	AAAAGUGUCUAGUCAACUUAU	1147-1167		AUAAGUUGACUAGACACUUUUUG	1145-1167	
AD-1727293	AAAGUGUCUAGUCAACUUAU	1148-1168		AUUAAGUUGACUAGACACUUUUU	1146-1168	
AD-1727298	GUCUAGUCAACUUAUUGAGU	1153-1173		ACUCAAUUAAGUUGACUAGACAC	1151-1173	
AD-1727310	UAAUUGAGAAGGUGGCAAGUU	1165-1185		AACUUGCCACCUUCUCAAUUAAG	1163-1185	
AD-1727318	AAGGUGGCAAGUUAUGGUGUU	1173-1193		AACACCAUAACUUGCCACCUUCU	1171-1193	
AD-1727324	GCAAGUUAUGGUGUGAAGCCU	1179-1199		AGGCUUCACACCAUAACUUGCCA	1177-1199	
AD-1727331	AUGGUGUGAAGCCAAGAUUAU	1186-1206		AAUAUCUUGGCUUCACACCAUAA	1184-1206	
AD-1727358	AAAUUUGGGUCAAGUGUCU	1233-1253		AGACACUUUGACCCAAAUUUUGG	1231-1253	
AD-1727359	AAAUUUGGGUCAAGUGUCUU	1234-1254		AAGACACUUUGACCCAAAUUUUG	1232-1254	
AD-1727361	AUUUGGGUCAAGUGUCUGAU	1236-1256		AUCAGACACUUUGACCCAAAUUU	1234-1256	
AD-1727392	GUA AUGCAGACUGGGUCACGU	1267-1287		ACGUGACCCAGUCUGCAUUACUG	1265-1287	
AD-1727420	AAUGAAAUCAAUUAUGAAGAU	1296-1316		AUCUUCAUAAUUGAUUUCAUUGA	1294-1316	
AD-1727427	UCAAUUAUGAAGACCACAAGU	1303-1323		ACUUGUGGUCUUCAUAAUUGAUU	1301-1323	
AD-1727428	CAAUUAUGAAGACCACAAGUU	1304-1324		AACUUGUGGUCUUCAUAAUUGAU	1302-1324	
AD-1727430	AUUAUGAAGACCACAAGUUGU	1306-1326		ACAACUUGUGGUCUUCAUAAUUG	1304-1326	
AD-1727431	UUAUGAAGACCACAAGUUGAU	1307-1327		AUCAACUUGUGGUCUUCAUAAU	1305-1327	
AD-1727432	UAUGAAGACCACAAGUUGAAU	1308-1328		AUUCAACUUGUGGUCUUCAUAAU	1306-1328	
AD-1727433	AUGAAGACCACAAGUUGAAGU	1309-1329		ACUUCAACUUGUGGUCUUCAUAA	1307-1329	
AD-1727434	UGAAGACCACAAGUUGAAGUU	1310-1330		AACUUCAACUUGUGGUCUUCAUA	1308-1330	
AD-1727435	GAAGACCACAAGUUGAAGUCU	1311-1331		AGACUUCAACUUGUGGUCUUCAU	1309-1331	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1727436	AAGACCACAAGUUGAAGUCAU	1312-1332		AUGACUUCAACUUGUGGUCUUCA	1310-1332	
AD-1727441	CACAAGUUGAAGUCAGGGACU	1317-1337		AGUCCCUGACUUCAACUUGUGGU	1315-1337	
AD-1727442	ACAAGUUGAAGUCAGGGACUU	1318-1338		AAGUCCCUGACUUCAACUUGUGG	1316-1338	
AD-1727481	AGGCAGUGUACAGCAUGAUGU	1357-1377		ACAUCAUGCUGUACACUGCCUGG	1355-1377	
AD-1727483	GCAGUGUACAGCAUGAUGAGU	1359-1379		ACUCAUCAUGCUGUACACUGCCU	1357-1379	
AD-1727565	GAUGGAUUGCACAACAUGGGU	1443-1463		ACCAUGUUGUGCAAUCCAUCAG	1441-1463	
AD-1727566	AUGGAUUGCACAACAUGGGCU	1444-1464		AGCCAUGUUGUGCAAUCCAUCA	1442-1464	
AD-1727568	GGAUUGCACAACAUGGGCGGU	1446-1466		ACCGCCAUGUUGUGCAAUCCAUC	1444-1466	
AD-1727569	GACCAAUUACUGUCAUUGAU	1467-1487		AUCA AUGACAGUAAUUGGGUCCC	1465-1487	
AD-1727570	ACCAAUUACUGUCAUUGAUU	1468-1488		AAUCA AUGACAGUAAUUGGGUCC	1466-1488	
AD-1727572	CCAAUACUGUCAUUGAUGAU	1470-1490		AUCAUCA AUGACAGUAAUUGGGU	1468-1490	
AD-1727584	AUUGAUGAGAUCCGGGACUUU	1482-1502		AAAGUCCC GGAUCUCAUCA AUGA	1480-1502	
AD-1727612	UUGGCAAGGAUCGCAAAAACU	1510-1530		AGUUUUUGCGAUCCUUGCCA AUG	1508-1530	
AD-1727633	CAAGGGAGGAUUAUCUGGAUU	1531-1551		AAUCCAGAUAAUCCUCCCUUGGG	1529-1551	
AD-1727638	GAGGAUUAUCUGGAUGUCUAU	1536-1556		AUAGACAUCCAGAUAAUCCUCCC	1534-1556	
AD-1727639	AGGAUUAUCUGGAUGUCUAUU	1537-1557		AAUAGACAUCCAGAUAAUCCUCC	1535-1557	
AD-1727640	GGAUUAUCUGGAUGUCUAUGU	1538-1558		ACAUAGACAUCCAGAUAAUCCUC	1536-1558	
AD-1727641	GAUUAUCUGGAUGUCUAUGUU	1539-1559		AACAUAGACAUCCAGAUAAUCCU	1537-1559	
AD-1727642	AUUAUCUGGAUGUCUAUGUGU	1540-1560		ACACAUAGACAUCCAGAUAAUCC	1538-1560	
AD-1727643	UUAUCUGGAUGUCUAUGUGUU	1541-1561		AACACAUAGACAUCCAGAUAAUC	1539-1561	
AD-1727644	UAUCUGGAUGUCUAUGUGUUU	1542-1562		AAACACAUAGACAUCCAGAUAAU	1540-1562	
AD-1727645	AUCUGGAUGUCUAUGUGUUUU	1543-1563		AAAACACAUAGACAUCCAGAUAA	1541-1563	
AD-1727646	UCUGGAUGUCUAUGUGUUUGU	1544-1564		ACAAACACAUAGACAUCCAGAUAA	1542-1564	
AD-1727663	AACCAAGUGAACAUCAAUGCU	1581-1601		AGCAUUGAUGUUCACUUGGUUCA	1579-1601	
AD-1727664	ACCAAGUGAACAUCAAUGCUU	1582-1602		AAGCAUUGAUGUUCACUUGGUUC	1580-1602	
AD-1727665	CCAAGUGAACAUCAAUGCUUU	1583-1603		AAAGCAUUGAUGUUCACUUGGUU	1581-1603	
AD-1727666	CAAGUGAACAUCAAUGCUUUU	1584-1604		AAAAGCAUUGAUGUUCACUUGGU	1582-1604	
AD-1727675	AUCA AUGCUUUGGCUUCCA AU	1593-1613		AUUGGAAGCCAAAGCAUUGAUGU	1591-1613	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1727677	CAAUGCUUUGGCUUCCAAGAU	1595-1615		AUCUUGGAAGCCAAAGCAUUGAU	1593-1615	
AD-1727685	UGGCUUCCAAGAAAGACAAUU	1603-1623		AAUUGUCUUUCUUGGAAGCCAAA	1601-1623	
AD-1727689	UCCAAGAAAGACAAUGAGCU	1607-1627		AGCUCAUUGUCUUUCUUGGAAGC	1605-1627	
AD-1727690	UCCAAGAAAGACAAUGAGCAU	1608-1628		AUGCUCAUUGUCUUUCUUGGAAG	1606-1628	
AD-1727693	AAGAAAGACAAUGAGCAACAU	1611-1631		AUGUUGCUCAUUGUCUUUCUUGG	1609-1631	
AD-1727696	AAAGACAAUGAGCAACAUGUU	1614-1634		AACAUGUUGCUCAUUGUCUUUCU	1612-1634	
AD-1727698	AGACAAUGAGCAACAUGUGUU	1616-1636		AACACAUGUUGCUCAUUGUCUUU	1614-1636	
AD-1727699	GACAAUGAGCAACAUGUGUUU	1617-1637		AAACACAUGUUGCUCAUUGUCUU	1615-1637	
AD-1727700	ACAAUGAGCAACAUGUGUUCU	1618-1638		AGAACACAUGUUGCUCAUUGUCU	1616-1638	
AD-1727701	CAAUGAGCAACAUGUGUUCAU	1619-1639		AUGAACACAUGUUGCUCAUUGUC	1617-1639	
AD-1727703	AUGAGCAACAUGUGUUCAAU	1621-1641		AUUUGAACACAUGUUGCUCAUUG	1619-1641	
AD-1727705	GAGCAACAUGUGUUCAAAGUU	1623-1643		AACUUUGAACACAUGUUGCUCAU	1621-1643	
AD-1727708	CAACAUGUGUUCAAAGUCAAU	1626-1646		AUUGACUUUGAACACAUGUUGC	1624-1646	
AD-1727709	AACAUGUGUUCAAAGUCAAGU	1627-1647		ACUUGACUUUGAACACAUGUUGC	1625-1647	
AD-1727710	ACAUGUGUUCAAAGUCAAGGU	1628-1648		ACCUUGACUUUGAACACAUGUUG	1626-1648	
AD-1727712	AUGUGUUCAAAGUCAAGGAUU	1630-1650		AAUCCUUGACUUUGAACACAUGU	1628-1650	
AD-1727713	UGUGUUCAAAGUCAAGGAUUAU	1631-1651		AUAUCCUUGACUUUGAACACAUG	1629-1651	
AD-1727714	GUGUUCAAAGUCAAGGAUUAU	1632-1652		AAUAUCCUUGACUUUGAACACA	1630-1652	
AD-1727717	UUCAAGUCAAGGAUAUGGAU	1635-1655		AUCCAUAUCCUUGACUUUGAAC	1633-1655	
AD-1727718	UCAAGUCAAGGAUAUGGAAU	1636-1656		AUCCAUAUCCUUGACUUUGAAC	1634-1656	
AD-1727821	UACCGAUUACCACAAGCAACU	1739-1759		AGUUGCUUGUGGUAUUCGGUACC	1737-1759	
AD-1727823	CCGAUUACCACAAGCAACCAU	1741-1761		AUGGUUGCUUGUGGUAUUCGGUA	1739-1761	
AD-1727826	AUUACCACAAGCAACCAUGGU	1744-1764		ACCAUGGUUGCUUGUGGUAUUCG	1742-1764	
AD-1727829	ACCACAAGCAACCAUGGCAGU	1747-1767		ACUGCCAUGGUUGCUUGUGGUA	1745-1767	
AD-1727883	UGGUGUCUGAGUACUUUGUGU	1822-1842		ACACAAAGUACUCAGACACCACA	1820-1842	
AD-1727977	GAAGCAGGAAUUCCUGAAUUU	1974-1994		AAAUUCAGGAAUUCCUGCUUCU	1972-1994	
AD-1727978	AAGCAGGAAUUCCUGAAUUUU	1975-1995		AAAUUCAGGAAUUCCUGCUUCU	1973-1995	
AD-1727980	GCAGGAAUUCCUGAAUUUUUAU	1977-1997		AUAAAUUCAGGAAUUCCUGCUU	1975-1997	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1727981	CAGGAAUUCUGAAUUUUAAU	1978-1998		AAUAAAAUUCAGGAAUUCUGCU	1976-1998	
AD-1727984	GAAUUCUGAAUUUUUAUGACU	1981-2001		AGUCAUAAAAUUCAGGAAUUCU	1979-2001	
AD-1727985	AAUUCUGAAUUUUUAUGACUU	1982-2002		AAGUCAUAAAAUUCAGGAAUUC	1980-2002	
AD-1727986	AUUCUGAAUUUUUAUGACUAAU	1983-2003		AUAGUCAUAAAAUUCAGGAAUUC	1981-2003	
AD-1727987	UUCUGAAUUUUUAUGACUAAU	1984-2004		AAUAGUCAUAAAAUUCAGGAAU	1982-2004	
AD-1727989	CCUGAAUUUUUAUGACUAAUGAU	1986-2006		AUCAUAGUCAUAAAAUUCAGGAA	1984-2006	
AD-1727990	CUGAAUUUUUAUGACUAAUGACU	1987-2007		AGUCAUAGUCAUAAAAUUCAGGA	1985-2007	
AD-1727992	GAAUUUUUAUGACUAAUGACGUU	1989-2009		AACGUCAUAGUCAUAAAAUUCAG	1987-2009	
AD-1727993	AAUUUUUAUGACUAAUGACGUUU	1990-2010		AAACGUCAUAGUCAUAAAAUUCA	1988-2010	
AD-1727994	AUUUUUAUGACUAAUGACGUUGU	1991-2011		ACAACGUCAUAGUCAUAAAAUUC	1989-2011	
AD-1727996	UUUAUGACUAAUGACGUUGCCU	1993-2013		AGGCAACGUCAUAGUCAUAAAAU	1991-2013	
AD-1727999	AUGACUAAUGACGUUGCCUGU	1996-2016		ACAGGGCAACGUCAUAGUCAUAA	1994-2016	
AD-1728049	CAGACUAAUCAGGCCCAUUUGU	2046-2066		ACAAAUGGGCCUGAUAGUCUGGC	2044-2066	
AD-1728050	AGACUAAUCAGGCCCAUUUGUU	2047-2067		AACAAAUGGGCCUGAUAGUCUGG	2045-2067	
AD-1728061	CGAGGGAACAACUCGAGCUUU	2078-2098		AAAGCUCGAGUUGUUCUCCUCGGU	2076-2098	
AD-1728062	GAGGGAACAACUCGAGCUUUU	2079-2099		AAAAGCUCGAGUUGUUCUCCUCGG	2077-2099	
AD-1728067	AACAACUCGAGCUUUGAGGCU	2084-2104		AGCCUCAAGCUCGAGUUGUUC	2082-2104	
AD-1728085	GCUUCCUCCAACUACCACUUU	2102-2122		AAAGUGGUAGUUGGAGGAAGCCU	2100-2122	
AD-1728132	CUGCACAGGAUAUCAAGCUU	2149-2169		AAGCUUUGAUUCCUGUGCAGGG	2147-2169	
AD-1728137	CAGGAUAUCAAGCUCUGUUU	2154-2174		AAACAGAGCUUUGAUUCCUGUG	2152-2174	
AD-1728140	GAUAUCAAGCUCUGUUUGUU	2157-2177		AACAAACAGAGCUUUGAUUCCU	2155-2177	
AD-1728146	AAAGCUCUGUUUGUGUCUGAU	2163-2183		AUCAGACACAAACAGAGCUUUGA	2161-2183	
AD-1728195	AAGAAAGGCAGCUGUGAGAGU	2232-2252		ACUCUCACAGCUGCCUUUCUUAU	2230-2252	
AD-1728204	AGCUGUGAGAGAGAUGCUCU	2241-2261		AUGAGCAUCUCUCUCACAGCUC	2239-2261	
AD-1728206	CUGUGAGAGAGAUGCUCUAAU	2243-2263		AAUUGAGCAUCUCUCUCACAGCU	2241-2263	
AD-1728207	UGUGAGAGAGAUGCUCUAAU	2244-2264		AUAUUGAGCAUCUCUCUCACAGC	2242-2264	
AD-1728208	GUGAGAGAGAUGCUCUAAU	2245-2265		AAUAUUGAGCAUCUCUCUCACAG	2243-2265	
AD-1728209	UGAGAGAGAUGCUCUAAU	2246-2266		ACAUAUUGAGCAUCUCUCUCACA	2244-2266	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1728210	GAGAGAGAUGCUCAAUAUGCU	2247-2267		AGCAUAUUGAGCAUCUCUCUCAC	2245-2267	
AD-1728212	CAGGCUAUGACAAAGUCAAGU	2269-2289		ACUUGACUUUGUCAUAGCCUGGG	2267-2289	
AD-1728214	GGCUAUGACAAAGUCAAGGAU	2271-2291		AUCCUUGACUUUGUCAUAGCCUG	2269-2291	
AD-1728220	GACAAAGUCAAGGACAUCUCU	2277-2297		AGAGAUGUCCUUGACUUUGUCAU	2275-2297	
AD-1728244	UUGUACUGGAGGAGUGAGUCU	2321-2341		AGACUCACUCCUCCAGUACAAAG	2319-2341	
AD-1728258	AAUACUUGCAGAGGUGAUUCU	2355-2375		AGAAUCACCUCUGCAAGUAUUGG	2353-2375	
AD-1728260	UACUUGCAGAGGUGAUUCUGU	2357-2377		ACAGAAUCACCUCUGCAAGUAUU	2355-2377	
AD-1728269	UGAUAGUUCACAAGAGAAGUU	2386-2406		AACUUCUCUUGUGAACUAUCAAG	2384-2406	
AD-1728270	GAUAGUUCACAAGAGAAGUCU	2387-2407		AGACUUCUCUUGUGAACUAUCAA	2385-2407	
AD-1728271	AUAGUUCACAAGAGAAGUCGU	2388-2408		ACGACUUCUCUUGUGAACUAUCA	2386-2408	
AD-1728272	UAGUUCACAAGAGAAGUCGUU	2389-2409		AACGACUUCUCUUGUGAACUAUC	2387-2409	
AD-1728273	AGUUCACAAGAGAAGUCGUUU	2390-2410		AAACGACUUCUCUUGUGAACUAU	2388-2410	
AD-1728274	GUUCACAAGAGAAGUCGUUUU	2391-2411		AAAACGACUUCUCUUGUGAACUA	2389-2411	
AD-1728275	UUCACAAGAGAAGUCGUUUCU	2392-2412		AGAAACGACUUCUCUUGUGAACU	2390-2412	
AD-1728276	UCACAAGAGAAGUCGUUUCAU	2393-2413		AUGAAACGACUUCUCUUGUGAAC	2391-2413	
AD-1728277	CACAAGAGAAGUCGUUUCAUU	2394-2414		AAUGAAACGACUUCUCUUGUGAA	2392-2414	
AD-1728278	ACAAGAGAAGUCGUUUCAUUU	2395-2415		AAAUGAAACGACUUCUCUUGUGA	2393-2415	
AD-1728279	CAAGAGAAGUCGUUUCAUUCU	2396-2416		AGAAUGAAACGACUUCUCUUGUG	2394-2416	
AD-1728280	AAGAGAAGUCGUUUCAUUCAU	2397-2417		AUGAAUGAAACGACUUCUCUUGU	2395-2417	
AD-1728282	GAGAAGUCGUUUCAUUCAAGU	2399-2419		ACUUGAAUGAAACGACUUCUCUU	2397-2419	
AD-1728283	AGAAGUCGUUUCAUUCAAGUU	2400-2420		AACUUGAAUGAAACGACUUCUCU	2398-2420	
AD-1728284	GAAGUCGUUUCAUUCAAGUUU	2401-2421		AAACUUGAAUGAAACGACUUCUC	2399-2421	
AD-1728285	AAGUCGUUUCAUUCAAGUUGU	2402-2422		ACAACUUGAAUGAAACGACUUCU	2400-2422	
AD-1728286	AGUCGUUUCAUUCAAGUUGGU	2403-2423		ACCAACUUGAAUGAAACGACUUC	2401-2423	
AD-1728300	GAGUAGUGGAUGUCUGCAAAU	2437-2457		AUUUGCAGACAUCCACUACUCC	2435-2457	
AD-1728301	AGUAGUGGAUGUCUGCAAAAU	2438-2458		AUUUUGCAGACAUCCACUACUCC	2436-2458	
AD-1728302	GUAGUGGAUGUCUGCAAAAU	2439-2459		AUUUUUGCAGACAUCCACUACUC	2437-2459	
AD-1728303	UAGUGGAUGUCUGCAAAAACU	2440-2460		AGUUUUUGCAGACAUCCACUACU	2438-2460	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1728307	GGAUGUCUGCAAAAACCAGAU	2444-2464		AUCUGGUUUUUGCAGACAUCCAC	2442-2464	
AD-1728308	GAUGUCUGCAAAAACCAGAAU	2445-2465		AUUCUGGUUUUUGCAGACAUCCA	2443-2465	
AD-1728311	GUCUGCAAAAACCAGAAGCGU	2448-2468		ACGCUUCUGGUUUUUGCAGACAU	2446-2468	
AD-1728312	UCUGCAAAAACCAGAAGCGGU	2449-2469		ACCGCUUCUGGUUUUUGCAGACA	2447-2469	
AD-1728317	AAAAACCAGAAGCGGCAAAAU	2454-2474		AUUUUGCCGCUUCUGGUUUUUGC	2452-2474	
AD-1728318	AAAACCAGAAGCGGCAAAAGU	2455-2475		ACUUUUGCCGCUUCUGGUUUUUG	2453-2475	
AD-1728320	AACCAGAAGCGGCAAAAGCAU	2457-2477		AUGCUUUUGCCGCUUCUGGUUUU	2455-2477	
AD-1728324	AGAAGCGGCAAAAGCAGGUAU	2461-2481		AUACCUGCUUUUGCCGCUUCUGG	2459-2481	
AD-1728405	AACUCCAAGAUGAGGAUUUGU	2542-2562		ACAAAUCCUCAUCUUGGAGUUUC	2540-2562	
AD-1728408	UCCAAGAUGAGGAUUUGGGUU	2545-2565		AACCCAAAUCCUCAUCUUGGAGU	2543-2565	
AD-1728410	CAAGAUGAGGAUUUGGGUUUU	2547-2567		AAAACCCAAAUCCUCAUCUUGGA	2545-2567	
AD-1728412	AGAUGAGGAUUUGGGUUUUCU	2549-2569		AGAAAACCCAAAUCCUCAUCUUG	2547-2569	
AD-1728422	GUGGGAUUGAAUUAACAGU	2597-2617		ACUGUUUUAUUCAAUCCACGC	2595-2617	
AD-1728423	UGGGAUUGAAUUAACAGCU	2598-2618		AGCUGUUUUAUUCAAUCCACG	2596-2618	
AD-1728424	GGGAUUGAAUUAACAGCUU	2599-2619		AAGCUGUUUUAUUCAAUCCAC	2597-2619	
AD-1728427	AUUGAAUUAACAGCUGCGU	2602-2622		ACGCAGCUGUUUUAUUCAAUCC	2600-2622	
AD-1728447	AAGGGAAUGUGACCAGGUCUU	155-175		AAGACCTGGUCACAUUCCCUUCC	153-175	
AD-1728461	AGGUCUAGGUCUGGAGUUUCU	169-189		AGAACTCCAGACCUAGACCUGG	167-189	
AD-1728470	UCUGGAGUUUCAGCUUGGACU	178-198		AGUCCAAGCUGAAACUCCAGACC	176-198	
AD-1728471	CUGGAGUUUCAGCUUGGACAU	179-199		AUGUCCAAGCUGAAACUCCAGAC	177-199	
AD-1728659	UCCUUCUGGCUUCUACCCGUU	464-484		AACGGGTAGAAGCCAGAAGGACA	462-484	
AD-1728664	CUGGCUUCUACCCGUACCCUU	469-489		AAGGGUACGGGUAGAAGCCAGAA	467-489	
AD-1728671	CUACCCGUACCCUGUGCAGAU	476-496		AUCUGCACAGGGUACGGGUAGAA	474-496	
AD-1728685	UGCAGACACGUACCUGCAGAU	490-510		AUCUGCAGGUACGUGUCUGCACA	488-510	
AD-1728736	AAGGCAGAGUGCAGAGCAAUU	561-581		AAUUGCTCUGCACUCUGCCUUC	559-581	
AD-1728777	CCUACUACA AUGUGAGUGAUU	634-654		AAUACTCACA UUGUAGUAGGGA	632-654	
AD-1728784	CAAUGUGAGUGAUGAGAUCUU	641-661		AAGATCTCAUCACUCACAUUGUA	639-661	
AD-1728786	AUGUGAGUGAUGAGAUCUCUU	643-663		AAGAGATCUCAUCACUCACAUUG	641-663	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1728787	UGUGAGUGAUGAGAUCUCUUU	644-664		AAAGAGAUCUCAUCACUCACAUU	642-664	
AD-1728789	UGAGUGAUGAGAUCUCUUUCU	646-666		AGAAAGAGAUCUCAUCACUCACA	644-666	
AD-1728793	UGAUGAGAUCUCUUUCCACUU	650-670		AAGUGGAAAGAGAUCUCAUCACU	648-670	
AD-1728801	UCUCUUUCCACUGCUAUGACU	658-678		AGUCAUAGCAGUGGAAAGAGAUC	656-678	
AD-1728802	CUCUUUCCACUGCUAUGACGU	659-679		ACGUCATAGCAGUGGAAAGAGAU	657-679	
AD-1728810	ACUGCUAUGACGGUUACACUU	667-687		AAGUGUAACCGUCAUAGCAGUGG	665-687	
AD-1728811	CUGCUAUGACGGUUACACUCU	668-688		AGAGTGTAACCGUCAUAGCAGUG	666-688	
AD-1728827	UCGCACCUGCCAAGUGAAUGU	704-724		ACAUTCACUUGGCAGGUGCGAUU	702-724	
AD-1728861	CAGACAGCGAUCUGUGACAAU	738-758		AUUGTCACAGAUCGCUGUCUGCC	736-758	
AD-1728863	GACAGCGAUCUGUGACAACGU	740-760		ACGUTGTCACAGAUCGCUGUCUG	738-760	
AD-1728877	UGGCACAAGGAAGGUGGGCAU	794-814		AUGCCCACCUUCCUUGUGCCAAU	792-814	
AD-1728909	UUGAAGACAGCGUACCUACU	826-846		AGUAGGTGACGCUGUCUUCAAGG	824-846	
AD-1728990	AGACUCCUUCAUGUACGACAU	935-955		AUGUCGTACAUGAAGGAGUCUUG	933-955	
AD-1728995	CAAGAGGUGGCCGAAGCUUUU	960-980		AAAAGCTUCGGCCACCUCUUGAG	958-980	
AD-1729031	GAGACCAUAGAAGGAGUCGAU	996-1016		AUCGACTCCUUCUAUGGUCUCUG	994-1016	
AD-1729089	CAGGCUCCAUGAACAUUCUACU	1075-1095		AGUAGATGUUCAUGGAGCCUGAA	1073-1095	
AD-1729103	AUCUACCUGGUGCUAGAUGGU	1089-1109		ACCATCTAGCACCAGGUAGAUGU	1087-1109	
AD-1729105	CUACCUGGUGCUAGAUGGAUU	1091-1111		AAUCCATCUAGCACCAGGUAGAU	1089-1111	
AD-1729106	UACCUGGUGCUAGAUGGAUCU	1092-1112		AGAUCCAUCUAGCACCAGGUAGA	1090-1112	
AD-1729110	UGGUGCUAGAUGGAUCAGACU	1096-1116		AGUCTGAUCCAUCUAGCACCAGG	1094-1116	
AD-1729112	GUGCUAGAUGGAUCAGACAGU	1098-1118		ACUGTCTGAUCCAUCUAGCACCA	1096-1118	
AD-1729130	CACAGGAGCCAAAAGUGUCU	1136-1156		AGACACTUUUUGGCUCUUGUGAA	1134-1156	
AD-1729132	CAGGAGCCAAAAGUGUCUAU	1138-1158		AUAGACACUUUUGGCUCUUGUG	1136-1158	
AD-1729134	GGAGCCAAAAGUGUCUAGUU	1140-1160		AACUAGACACUUUUGGCUCUUG	1138-1160	
AD-1729136	AGCCAAAAGUGUCUAGUCAU	1142-1162		AUGACUAGACACUUUUGGCUCU	1140-1162	
AD-1729137	GCCAAAAGUGUCUAGUCAAU	1143-1163		AUUGACTAGACACUUUUGGCUC	1141-1163	
AD-1729139	CAAAAAGUGUCUAGUCAACUU	1145-1165		AAGUTGACUAGACACUUUUGGC	1143-1165	
AD-1729141	AAAAGUGUCUAGUCAACUUAU	1147-1167		AUAAGUTGACUAGACACUUUUG	1145-1167	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1729142	AAAGUGUCUAGUCAACUUAU	1148-1168		AUUAAGTUGACUAGACACUUUUU	1146-1168	
AD-1729151	AGUCAACUUAUUUGAGAAGGU	1157-1177		ACCUTCTCAAUUAAGUUGACUAG	1155-1177	
AD-1729180	AUGGUGUGAAGCCAAGAUUAU	1186-1206		AAUATCTUGGCUUCACACCAUAA	1184-1206	
AD-1729207	AAA AUUUGGGUCAAGUGUCU	1233-1253		AGACACTUUGACCCAAAUUUUGG	1231-1253	
AD-1729242	UAAUGCAGACUGGGUCACGAU	1268-1288		AUCGTGACCCAGUCUGCAUUACU	1266-1288	
AD-1729269	AAUGAAAUCAAUUAUGAAGAU	1296-1316		AUCUTCAUAAUUGAUUUCAUUGA	1294-1316	
AD-1729271	UGAAAUCAAUUAUGAAGACCU	1298-1318		AGGUCUTCAUAAUUGAUUUCAUU	1296-1318	
AD-1729274	AAUCAAUUAUGAAGACCACAU	1301-1321		AUGUGGTCUUCAUAAUUGAUUUC	1299-1321	
AD-1729277	CAAUUAUGAAGACCACAAGUU	1304-1324		AACUTGTGGUCUUCAUAAUUGAU	1302-1324	
AD-1729280	UUAUGAAGACCACAAGUUGAU	1307-1327		AUCAACTUGUGGUCUUCAUAAUU	1305-1327	
AD-1729285	AAGACCACAAGUUGAAGUCAU	1312-1332		AUGACUTCAACUUGUGGUCUUCA	1310-1332	
AD-1729288	ACCACAAGUUGAAGUCAGGGU	1315-1335		ACCCTGACUUCAACUUGUGGUCU	1313-1335	
AD-1729290	CACAAGUUGAAGUCAGGGACU	1317-1337		AGUCCCTGACUUCAACUUGUGGU	1315-1337	
AD-1729296	UUGAAGUCAGGGACUAACACU	1323-1343		AGUGTUAGUCCUGACUUCAACU	1321-1343	
AD-1729297	UGAAGUCAGGGACUAACACCU	1324-1344		AGGUGUTAGUCCUGACUUCAAC	1322-1344	
AD-1729300	AGUCAGGGACUAACACCAAGU	1327-1347		ACUUGGTGUUAGUCCUGACUUC	1325-1347	
AD-1729413	UGAUGGAUUGCACAACAUGGU	1442-1462		ACCATGTUGUGCAAUCCAUCAGU	1440-1462	
AD-1729461	UUGGCAAGGAUCGCAAAAACU	1510-1530		AGUUTUTGCGAUCCUUGCCAAUG	1508-1530	
AD-1729462	UGGCAAGGAUCGCAAAAACCU	1511-1531		AGGUTUTUGCGAUCCUUGCCAAU	1509-1531	
AD-1729463	GGCAAGGAUCGCAAAAACCCU	1512-1532		AGGGTUTUUGCGAUCCUUGCCAA	1510-1532	
AD-1729487	GAGGAUUAUCUGGAUGUCUAU	1536-1556		AUAGACAUCCAGAUAAUCCUCCC	1534-1556	
AD-1729514	CCAAGUGAACAUCAAUGCUUU	1583-1603		AAAGCATUGAUGUUCACUUGGUU	1581-1603	
AD-1729515	CAAGUGAACAUCAAUGCUUUU	1584-1604		AAAAGCAUUGAUGUUCACUUGGU	1582-1604	
AD-1729524	AUCAAUGCUUUGGCUUCCA AU	1593-1613		AUUGGAAGCCAAAGCAUUGAUGU	1591-1613	
AD-1729525	UCAAUGCUUUGGCUUCCAAGU	1594-1614		ACUUGGAAGCCAAAGCAUUGAUG	1592-1614	
AD-1729538	UCCAAGAAAGACAAUGAGCU	1607-1627		AGCUCATUGUCUUUCUUGGAAGC	1605-1627	
AD-1729539	UCCAAGAAAGACAAUGAGCAU	1608-1628		AUGCTCAUUGUCUUUCUUGGAAG	1606-1628	
AD-1729541	CAAGAAAGACAAUGAGCAACU	1610-1630		AGUUGCTCAUUGUCUUUCUUGGA	1608-1630	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1729545	AAAGACAAUGAGCAACAUGUU	1614-1634		AACATGTUGCUCAUUGUCUUUCU	1612-1634	
AD-1729548	GACAAUGAGCAACAUGUGUUU	1617-1637		AAACACAUGUUGCUCUUGUCUU	1615-1637	
AD-1729550	CAAUGAGCAACAUGUGUUCU	1619-1639		AUGAACACAUGUUGCUCUUGUC	1617-1639	
AD-1729552	AUGAGCAACAUGUGUUCAAA	1621-1641		AUUUGAACACAUGUUGCUCUUG	1619-1641	
AD-1729555	AGCAACAUGUGUUCAAAGUCU	1624-1644		AGACTUTGAACACAUGUUGCUC	1622-1644	
AD-1729557	CAACAUGUGUUCAAAGUCAAU	1626-1646		AUUGACTUUGAACACAUGUUGCU	1624-1646	
AD-1729559	ACAUGUGUUCAAAGUCAAGGU	1628-1648		ACCUUGACTUUGAACACAUGUUG	1626-1648	
AD-1729561	AUGUGUUCAAAGUCAAGGAU	1630-1650		AAUCCUTGACUUUGAACACAUGU	1628-1650	
AD-1729562	UGUGUUCAAAGUCAAGGAU	1631-1651		AUAUCCTUGACUUUGAACACAUG	1629-1651	
AD-1729567	UCAAGUCAAGGAUAUGGAAU	1636-1656		AUUCATAUCCUUGACUUUGAAC	1634-1656	
AD-1729568	CAAAGUCAAGGAUAUGGAAU	1637-1657		AUUUCCAUAUCCUUGACUUUGAA	1635-1657	
AD-1729619	UGAAAGCCAGUCUCUGAGUCU	1688-1708		AGACTCAGAGACUGGCUUUCAUC	1686-1708	
AD-1729643	UGGCAUGGUUUGGGAACACAU	1712-1732		AUGUGUTCCCAAACCAUGCCACA	1710-1732	
AD-1729667	GGGUACCGAUUACCACAAGCU	1736-1756		AGCUTGTGGUAAUCGGUACCCU	1734-1756	
AD-1729670	UACCGAUUACCACAAGCAACU	1739-1759		AGUUGCTUGUGGUAAUCGGUACC	1737-1759	
AD-1729673	CGAUUACCACAAGCAACCAU	1742-1762		AAUGGUTGCUUGUGGUAAUCGGU	1740-1762	
AD-1729677	UACCACAAGCAACCAUGGCAU	1746-1766		AUGCCATGGUUGCUUGUGGUAAU	1744-1766	
AD-1729688	ACCAUGGCAGGCCAAGAUCU	1757-1777		AAGATCTUGGCCUGCCAUGGUUG	1755-1777	
AD-1729690	CAUGGCAGGCCAAGAUCUCAU	1759-1779		AUGAGATCUUGGCCUGCCAUGGU	1757-1779	
AD-1729729	CUGUGGUGUCUGAGUACUUU	1819-1839		AAAAGUACUCAGACACCACAGCC	1817-1839	
AD-1729802	AGCGGGACCUGGAGAUAGAAU	1912-1932		AUUCTATCUCCAGGUCCCGCUUC	1910-1932	
AD-1729841	GAAGCAGGAAUUCUGAAUUU	1974-1994		AAAUTCAGGAAUUCUGCUUCU	1972-1994	
AD-1729849	AAUUCUGAAUUUUUAUGACU	1982-2002		AAGUCATAAAAUUCAGGAAUUC	1980-2002	
AD-1729850	AUUCUGAAUUUUUAUGACU	1983-2003		AUAGTCAUAAAUUCAGGAAUUC	1981-2003	
AD-1729852	UCCUGAAUUUUUAUGACUAUGU	1985-2005		ACAUAGTCAUAAAUUCAGGAAU	1983-2005	
AD-1729854	CUGAAUUUUUAUGACUAUGACU	1987-2007		AGUCAUAGUCAUAAAUUCAGGA	1985-2007	
AD-1729856	GAAUUUUUAUGACUAUGACGU	1989-2009		AACGTCAUAGUCAUAAAUUCAG	1987-2009	
AD-1729861	UUAUGACUAUGACGUUGCCCU	1994-2014		AGGGCAACGUCAUAGUCAUAAA	1992-2014	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1729862	UAUGACUAUGACGUUGCCCUU	1995-2015		AAGGGCAACGUCAUAGUCAUAAA	1993-2015	
AD-1729869	AUGACGUUGCCCUGAUC AAGU	2002-2022		ACUUGATCAGGGCAACGUCAUAG	2000-2022	
AD-1729870	UGACGUUGCCCUGAUC AAGCU	2003-2023		AGCUTGAUCAGGGCAACGUCAUA	2001-2023	
AD-1729872	ACGUUGCCCUGAUC AAGCUCU	2005-2025		AGAGCUTGAUCAGGGCAACGUCA	2003-2025	
AD-1729926	GAGGGAACAACUCGAGCUUUU	2079-2099		AAAAGCTCGAGUUGUUGCCUCGG	2077-2099	
AD-1729933	CAACUCGAGCUUUGAGGCUUU	2086-2106		AAAGCCTCAAAGCUCGAGUUGUU	2084-2106	
AD-1729941	GCUUUGAGGCUUCCUCCAACU	2094-2114		AGUUGGAGGAAGCCUCA AAGCUC	2092-2114	
AD-1729947	AGGCUUCCUCCAACUACCACU	2100-2120		AGUGGUAGUUGGAGGAAGCCUCA	2098-2120	
AD-1729951	UUCCUCCAACUACCACUUGCU	2104-2124		AGCAAGTGGUAGUUGGAGGAAGC	2102-2124	
AD-1729992	CUCCUGCACAGGAUAUCAAU	2145-2165		AUUGAUAUCCUGUGCAGGGAGCA	2143-2165	
AD-1729993	UCCUGCACAGGAUAUCAAAU	2146-2166		AUUUGATAUCCUGUGCAGGGAGC	2144-2166	
AD-1729994	CCCUGCACAGGAUAUCA AAGU	2147-2167		ACUUTGAUAUCCUGUGCAGGGAG	2145-2167	
AD-1729996	CUGCACAGGAUAUCA AAGCUU	2149-2169		AAGCTUTGAUAUCCUGUGCAGGG	2147-2169	
AD-1730001	CAGGAUAUCA AAGCUCUGUUU	2154-2174		AAACAGAGCUUUGAUAUCCUGUG	2152-2174	
AD-1730042	GCUGACUCGGAAGGAGGUCUU	2195-2215		AAGACCTCCUUCGAGUCAGCUU	2193-2215	
AD-1730048	UCGGAAGGAGGUCUACAUCAU	2201-2221		AUGATGTAGACCUCUUCGAGU	2199-2221	
AD-1730053	AGGAGGUCUACAUCAAGAAU	2206-2226		AAUUCUTGAUGUAGACCUCCUUC	2204-2226	
AD-1730059	AAGAAAGGCAGCUGUGAGAGU	2232-2252		ACUCTCACAGCUGCCUUCUUAU	2230-2252	
AD-1730068	AGCUGUGAGAGAGAUGCUCAU	2241-2261		AUGAGCAUCUCUCUCACAGCUGC	2239-2261	
AD-1730071	UGUGAGAGAGAUGCUC AUAU	2244-2264		AUAUTGAGCAUCUCUCUCACAGC	2242-2264	
AD-1730077	AGGCUAUGACA AAGUCAAGGU	2270-2290		ACCUTGACUUUGUCAUAGCCUGG	2268-2290	
AD-1730103	UUCCUUUGUACUGGAGGAGUU	2316-2336		AACUCCTCCAGUACAAAGGAACC	2314-2336	
AD-1730108	UUGUACUGGAGGAGUGAGUCU	2321-2341		AGACTCACUCCUCCAGUACAAAG	2319-2341	
AD-1730110	GUACUGGAGGAGUGAGUCCCU	2323-2343		AGGGACTCACUCCUCCAGUACAA	2321-2343	
AD-1730112	ACUGGAGGAGUGAGUCCCUAU	2325-2345		AUAGGGACUCACUCCUCCAGUAC	2323-2345	
AD-1730118	GGAGUGAGUCCCUAUGCUGAU	2331-2351		AUCAGCAUAGGGACUCACUCCUC	2329-2351	
AD-1730122	AAUACUUGCAGAGGUGAUUCU	2355-2375		AGAATCACCUCUGCAAGUAUUGG	2353-2375	
AD-1730133	UGAUAGUUCACAAGAGAAGUU	2386-2406		AACUTCTCUUGUGAACUAUCAAG	2384-2406	

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	Диапазон в NM_001710.6	SEQ ID NO:
AD-1730143	CAAGAGAAGUCGUUUCAUUCU	2396-2416		AGAATGAAACGACUUCUCUUGUG	2394-2416	
AD-1730164	GAGUAGUGGAUGUCUGCAAAU	2437-2457		AUUUGCAGACAUCCACUACUCCC	2435-2457	
AD-1730167	UAGUGGAUGUCUGCAAAAACU	2440-2460		AGUUTUTGCAGACAUCCACUACU	2438-2460	
AD-1730168	AGUGGAUGUCUGCAAAAACCU	2441-2461		AGGUTUTUGCAGACAUCCACUAC	2439-2461	
AD-1730169	GUGGAUGUCUGCAAAAACCAU	2442-2462		AUGGTUTUUGCAGACAUCCACUA	2440-2462	
AD-1730171	GGAUGUCUGCAAAAACCAGAU	2444-2464		AUCUGGTUUUUGCAGACAUCCAC	2442-2464	
AD-1730183	AAACCAGAAGCGGCAAAAGCU	2456-2476		AGCUTUTGCCGCUUCUGGUUUUU	2454-2476	
AD-1730184	AACCAGAAGCGGCAAAAGCAU	2457-2477		AUGCTUTUGCCGCUUCUGGUUUU	2455-2477	
AD-1730256	UGGCUGAAGGAGAAACUCCA	2529-2549		AUGGAGTUUCUCCUUCAGCCAGG	2527-2549	
AD-1730287	UGGGAUUGAAUUAAAACAGCU	2598-2618		AGCUGUTUUAUUCAAUCCACG	2596-2618	
AD-1730288	GGGAUUGAAUUAAAACAGCUU	2599-2619		AAGCTGTUUUAUUCAAUCCAC	2597-2619	
AD-1730293	UGAAUUAAAACAGCUGCGACU	2604-2624		AGUCGCAGCUGUUUUAUUCAAU	2602-2624	
AD-1730476	AAUUAAAACAGCUGCGACAAU	2455-2475		AUUGUCGCAGCUGUUUUAUUCA	2453-2475	
AD-1730477	AAUUAAAACAGCUGCGACAAU	2455-2475		ATUGTCGCAGCTGUUUUAUUCA	2453-2475	
AD-1730478	AUUAAAACAGCUGCGACAACU	2456-2476		AGUUGUCGCAGCUGUUUUAUUUC	2454-2476	

Таблица 3. Модифицированные последовательности смысловых и антисмысловых цепей средств на основе дцРНК фактора комплемента В

Наименование дуплекса	Последовательность смысловой цепи 5' - 3'	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи 5' - 3'	SEQ ID NO:	Последовательность-мишень мРНК	SEQ ID NO:
AD-1724362	asasgggaauGfUfGfaccaggucuuL96		asdAsgadCcdTggucdAcAfuucccuuscsc		GGAAGGGAAUGUGACCAGGUCUA	
AD-1724363	asgsggaaugUfGfAfccaggucuaL96		asdTsagdAcdCuggudCaCfauucccususc		GAAGGGAAUGUGACCAGGUCUAG	
AD-1724364	gsgsgaauguGfAfCfcaggucuaguL96		asdCsuadGadCcuggdTcAfcauucccsusu		AAGGGAAUGUGACCAGGUCUAGG	

AD-1724365	gsgsaaugugAfCfCfaggucuaagguL96	asdCscudAgdAccugdGuCfacauuccscsu	AGGGAAUGUGACCAGGUCUAG GU
AD-1724369	usgsugaccaGfGfUfcuaggucuguL96	asdCsagdAcdCuagadCcUfggucacasusu	AAUGUGACCAGGUCUAGGUCU GG
AD-1724370	gsusgaccagGfUfCfuaggucugguL96	asdCscadGadCcuagdAcCfuggucacsasu	AUGUGACCAGGUCUAGGUCUG GA
AD-1724376	asgsgucuagGfUfCfuggaguuuuL96	asdGsaadAcdTccagdAcCfuagaccusgsg	CCAGGUCUAGGUCUGGAGUUU CA
AD-1724384	gsuscuggagUfUfUfcagcuuggauL96	asdTscddAadGcugadAaCfuccagacscsu	AGGUCUGGAGUUUCAGCUUGG AC
AD-1724385	uscsuggaguUfUfCfagcuuggacuL96	asdGsudCadAgcugdAaAfcuccagascsc	GGUCUGGAGUUUCAGCUUGGA CA
AD-1724386	csusggaguuUfCfAfgcuuggacauL96	asdTsgudCcdAagcudGaAfacuccagsasc	GUCUGGAGUUUCAGCUUGGAC AC
AD-1724530	usescuuccgAfCfUfucuccaagauL96	asdTscudTgdGagaadGuCfpgaaggasgsc	GCUCCUCCGACUUCUCCAAGA G
AD-1724572	usgsuccuucUfGfGfcuucuaccuL96	asdGsggdTadGaagcdCaGfaaggacascsa	UGUGUCCUUCUGGCUUCUACCC G
AD-1724574	usescuucugGfCfUfucuaaccguuL96	asdAscgdGgdTagaadGcCfagaaggascsa	UGUCCUUCUGGCUUCUACCCGU A
AD-1724575	cscsuucuggCfUfUfcuaccguauL96	asdTsacdGgdGuagadAgCfcagaaggsasc	GUCCUUCUGGCUUCUACCCGUA C
AD-1724576	csusucuggcUfUfCfuaccguacuL96	asdGsuadCgdGguagdAaGfccagaagsgsa	UCCUUCUGGCUUCUACCCGUAC C
AD-1724579	csusggcuucUfAfCfccguaccuuL96	asdAsggdGudAcgggdTaGfaagccagsasa	UUCUGGCUUCUACCCGUACCCU G
AD-1724586	csusaccguAfCfCfcugugcagauL96	asdTscudGcdAcaggdGuAfcggguagsasa	UUCUACCCGUACCCUGUGCAGA C
AD-1724600	usgscagacaCfGfUfaccugcagauL96	asdTscudGcdAgguadCgUfgucugcascsa	UGUGCAGACACGUACCUGCAG AU
AD-1724651	asasggcagaGfUfGfcagagcauuL96	asdAsuudGcdTcugcdAcUfcugccuuscs	GGAAGGCAGAGUGCAGAGCAA UC
AD-1724653	gsgscagaguGfCfAfgagcaauccuL96	asdGsgadTudGcucudGcAfcucugccsusu	AAGGCAGAGUGCAGAGCAAUC CA

AD-1724685	csgsgucuccCfUfAfcuacaauuuL96	asdAscadTudGuagudAgGfgagaccgsgsg	CCCGGUCUCCCUACUACAAUGUG
AD-1724691	cscscuacuaCfAfAfugugagugauL96	asdTscadCudCacaudTgUfaguaggsasg	CUCCCUACUACAAUGUGAGUGAU
AD-1724692	cscsuacuacAfAfUfgugagugauuL96	asdAsucdAcdTcadTuGfuaguaggsasa	UCCCUACUACAAUGUGAGUGAUG
AD-1724693	csusacuacaAfUfGfugagugauguL96	asdCsaudCadCucacdAuUfguaguagsgsg	CCCUACUACAAUGUGAGUGAUGA
AD-1724695	ascsuacaauGfUfGfagugaugaguL96	asdCsucdAudCacucdAcAfuuguagusasg	CUACUACAAUGUGAGUGAUGAUGA
AD-1724698	ascsaauugugAfGfUfgaugagauL96	asdGsaudCudCaucadCuCfacauugusasg	CUACAAUGUGAGUGAUGAGAU
AD-1724699	csasaugugaGfUfGfaugagauuuL96	asdAsgadTcdTcaudAcUfcacauugsusa	UACAAUGUGAGUGAUGAGAU
AD-1724700	asasugugagUfGfAfugagauucuuL96	asdGsagdAudCucaudCaCfucacauusgsu	ACAAUGUGAGUGAUGAGAU
AD-1724701	asusugugaguGfAfUfgagauucuuL96	asdAsgadGadTcucadTcAfcucacaususg	CAAUGUGAGUGAUGAGAU
AD-1724702	usgsugugagAfUfGfagauucuuuL96	asdAsagdAgdAucudAuCfacucacasusu	AAUGUGAGUGAUGAGAU
AD-1724703	gsusgagugaUfGfAfgauucuuuuL96	asdAsaadGadGaucudCaUfcacucacsasu	AUGUGAGUGAUGAGAU
AD-1724704	usgsagugauGfAfGfaucuuuuL96	asdGsaadAgdAgaudTcAfcucacacsasa	UGUGAGUGAUGAGAU
AD-1724705	gsasgugaugAfGfAfcucuuuccuL96	asdGsgadAadGagaudCuCfaucacucsasc	GUGAGUGAUGAGAU
AD-1724706	asgsugaugaGfAfUfcuuuccauL96	asdTsggdAadAgagadTcUfcacacuscasa	UGAGUGAUGAGAU
AD-1724707	gsusgaugagAfUfCfucuuuccacuL96	asdGsugdGadAagagdAuCfucacacsusc	GAGUGAUGAGAU
AD-1724708	usgsaugagaUfCfUfcuuuccacuL96	asdAsgudGgdAagadGaUfcucacacsusu	AGUGAUGAGAU
AD-1724714	gsasucucuUfCfCfacugcuauguL96	asdCsaudAgdCagudGaAfagagauusc	GAGAU

AD-1724715	asuscucuuu CfCfAfcugcuaugauL96	asdTscadTadGcagudGgAfaagagauscsu	AGAUCUCUUUCCACUGCUAUG AC
AD-1724716	uscsucuuuc CfAfCfugcuaugacuL96	asdGsucdAudAgcagdTgGfaaagagasusc	GAUCUCUUUCCACUGCUAUGA CG
AD-1724717	csuscuuucc AfCfUfgcuaugacguL96	asdCsgudCadTagcadGuGfgaaagagsasu	AUCUCUUUCCACUGCUAUGAC GG
AD-1724718	uscsuuucca CfUfGfcuaugacgguL96	asdCscgdTcdAuagcdAgUfggaaagasgsa	UCUCUUUCCACUGCUAUGACG GU
AD-1724725	asc sugcuau GfAfCf gguuacacuuL96	asdAsgudGudAaccgdTcAfuagcagusgsg	CCACUGCUAUGACGGUUACAC UC
AD-1724726	csusgcuaug AfCfGfguuacacucuL96	asdGsagdTgdTaaccdGuCfauagcagsusg	CACUGCUAUGACGGUUACACU CU
AD-1724730	usasugacgg UfUfAfcacucuccguL96	asdCsggdAgdAgugudAaCfcgucauasgsc	GCUAUGACGGUUACACUCUCC GG
AD-1724731	asusgacggu UfAfCfacucuccgguL96	asdCscgdGadGagugdTaAfccgucausasg	CUAUGACGGUUACACUCUCCG GG
AD-1724741	asuscgcacc UfGfCfcaagugaauuL96	asdAsuudCadCuuggdCaGfgugcgaususg	CAAUCGCACCUGCCAAGUGAA UG
AD-1724742	uscsgcaccu GfCfCfaagugaauL96	asdCsaudTcdAcuugdGcAfggugcgasusu	AAUCGCACCUGCCAAGUGAAU GG
AD-1724743	csgscaccug CfCfAfagugaauL96	asdCscadTudCacuudGgCfaggugcgsasu	AUCGCACCUGCCAAGUGAAUG GC
AD-1724776	csasgacagc GfAfUfcugugacaauL96	asdTsugdTcdAcagadTcGfcugucugscsc	GGCAGACAGCGAUCUGUGACA AC
AD-1724777	asgsacagcg AfUfCfugugacaacuL96	asdGsuudGudCacagdAuCfcgucugucsgsc	GCAGACAGCGAUCUGUGACAA CG
AD-1724778	gsascagcga UfCfUfgugacaacguL96	asdCsgudTgdTcacadGaUfcgucugucsusg	CAGACAGCGAUCUGUGACAAC GG
AD-1724779	asc sagcgau CfUfGfugacaacgguL96	asdCscgdTudGucacdAgAfcugcuguscsu	AGACAGCGAUCUGUGACAACG GA
AD-1724780	csasgcgauc UfGfUfgacaacggauL96	asdTscddGudTgucadCaGfaucgucgususc	GACAGCGAUCUGUGACAACGG AG
AD-1724781	asgscgaucu GfUfGfacaacggaguL96	asdCsucdCgdTugucdAcAfgaucgucgusu	ACAGCGAUCUGUGACAACGGA GC

AD-1724792	usgsgcaciaGfGfAfggugggcauL96	asdTsgcdCcdAccuudCcUfugugccasasu	AUUGGCACAAGGAAGGUGGGC AG
AD-1724819	cscsgccuugAfAfGfacagcgucacuL96	asdTsgadCgdCuguedTuCfaaggcggsusa	UACCGCCUUGAAGACAGCGUC AC
AD-1724823	csusugaagaCfAfGfcgucaccuauL96	asdTsagdGudGacgdcTgUfcuuaagsgsc	GCCUUGAAGACAGCGUCACCU AC
AD-1724824	ususgaagacAfGfCfugucaccuacuL96	asdGsuadGgdTgacgdCuGfucuucaasgsg	CCUUGAAGACAGCGUCACCUAC C
AD-1724825	usgsaagacaGfCfGfucaccuaccuL96	asdGsgudAgdGugacdGcUfgucuuucasag	CUUGAAGACAGCGUCACCUACC A
AD-1724860	gsusgucaggAfAfGfguggcucuuuL96	asdAsagdAgdCcaccdTuCfcugacacsgsu	ACGUGUCAGGAAGGUGGCUCU UG
AD-1724894	cscsuuccugCfCfAfagacuccuuuL96	asdAsagdGadGucuudGgCfaggaaggscsu	AGCCUUCCUGCCAAGACUCCUU C
AD-1724897	uscscugccaAfGfAfcuccuucuuL96	asdAsugdAadGgagudCuUfggcaggasag	CUUCCUGCCAAGACUCCUUCAU G
AD-1724899	csusgccaagAfCfUfcuuauguuL96	asdAscadTgdAaggadGuCfuuggcagsgsa	UCCUGCCAAGACUCCUUCAUGU A
AD-1724900	usgsccaagaCfUfCfcuuauguauL96	asdTsacdAudGaaggdAgUfcuuggcasgsg	CCUGCCAAGACUCCUUCAUGUA C
AD-1724903	csasagacucCfUfUfcauguacgauL96	asdTscgdTadCaugadAgGfagucuuugsgsc	GCCAAGACUCCUUCAUGUACG AC
AD-1724904	asasgacuccUfUfCfauguacgacuL96	asdGsudGudAcaugdAaGfgagucuuusgsg	CCAAGACUCCUUCAUGUACGAC A
AD-1724905	asgsacuccuUfCfAfuguacgacauL96	asdTsgudCgdTacaudGaAfggagucususg	CAAGACUCCUUCAUGUACGAC AC
AD-1724906	gsascuccuuCfAfUfuguacgacacuL96	asdGsugdTcdGuacadTgAfggagucususu	AAGACUCCUUCAUGUACGACA CC
AD-1724910	csasagagguGfGfCfcaagcuuuuL96	asdAsaadGcdTucggdCcAfccucuuugsasg	CUCAAGAGGUGGCCGAAGCUU UC
AD-1724919	gscscgaagcUfUfUfccugucuuuL96	asdGsaadGadCaggadAaGfcuucggcscsa	UGGCCGAAGCUUCCUGUCUU CC
AD-1724945	asgsagaccaUfAfGfaaggagucguL96	asdCsgadCudCcuudTaUfggucucusgsu	ACAGAGACCAUAGAAGGAGUC GA

AD-1724946	gsasgaccuAfGfAfggagucgauL96	asdTscgdAcdTccuudCuAfuggucucusug	CAGAGACCAUAGAAGGAGUCG AU
AD-1724947	asgsaccauaGfAfAfggagucgauL96	asdAsucdGadCuccudTcUfauggucuscus	AGAGACCAUAGAAGGAGUCGA UG
AD-1724948	gsasccauagAfAfGfgagucgauguL96	asdCsaudCgdAcuccdTuCfuauggucusc	GAGACCAUAGAAGGAGUCGAU GC
AD-1724949	ascscauagaAfGfGfagucgaugcuL96	asdGscadTcdGacucdCuUfcuauggucscs	AGACCAUAGAAGGAGUCGAUG CU
AD-1725000	cscsuucaggCfUfCfcaugaacauL96	asdAsugdTudCauggdAgCfcugaaggsgsu	ACCCUUCAGGCUCCAUGAACAU C
AD-1725003	uscsaggcucCfAfUfgaacaucuauL96	asdTsagdAudGuucadTgGfagccugasag	CUUCAGGCUCCAUGAACAU AC
AD-1725004	csasggcuccAfUfGfaacaucuacuL96	asdGsuadGadTguucdAuGfgagccugsasa	UUCAGGCUCCAUGAACAU CC
AD-1725013	usgsaacaucUfAfCfcuggugcuauL96	asdTsagdCadCcaggdTaGfauguucasug	CAUGAACAUACCUUGGUGCU AG
AD-1725015	asascaucuaCfCfUfggugcuagauL96	asdTscudAgdCaccadGgUfagauguusca	UGAACAUACCUUGGUGCUAG AU
AD-1725017	csasucuaccUfGfGfugcuagauguL96	asdCsaudCudAgcacdCaGfguagaugsusu	AACAUCUACCUUGGUGCUAGAU GG
AD-1725018	asuscuaccuGfGfUfgcuagaugguL96	asdCscadTcdTagcadCcAfgguagaugsu	ACAUCUACCUUGGUGCUAGAUG GA
AD-1725019	uscsuaccugGfUfGfcuagauggauL96	asdTscddAudCuagedAcCfagguagasug	CAUCUACCUUGGUGCUAGAUGG AU
AD-1725020	csusaccuggUfGfCfuagauggauL96	asdAsucdCadTcuagdCaCfcagguagsasu	AUCUACCUUGGUGCUAGAUGGA UC
AD-1725021	usasccugguGfCfUfagauggaucuL96	asdGsaudCcdAucudGcAfccagguasgsa	UCUACCUUGGUGCUAGAUGGAU CA
AD-1725022	ascscuggugCfUfAfgauggaucuL96	asdTsgadTcdCaucudAgCfaccaggusag	CUACCUUGGUGCUAGAUGGAUC AG
AD-1725023	cscsuggugcUfAfGfauggaucaguL96	asdCsugdAudCcaudTaGfcaccaggsusa	UACCUUGGUGCUAGAUGGAUCA GA
AD-1725025	usgsgucuaGfAfUfggaucagacuL96	asdGsucdTgdAuccadTcUfagcaccasgsg	CCUGGUGCUAGAUGGAUCAGA CA

AD-1725027	gsusgcuagaUfGfGfaucagacaguL96	asdCsugdTcdTgaucdCaUfcuagcacsca	UGGUGCUAGAUGGAUCAGACA GC
AD-1725028	usgscuagauGfGfAfucagacagcuL96	asdGscudGudCugaudCcAfucuagcascsc	GGUGCUAGAUGGAUCAGACAG CA
AD-1725033	gsasuggaucAfGfAfcagcauugguL96	asdCscadAudGcugudCuGfauccaucsusa	UAGAUGGAUCAGACAGCAUUG GG
AD-1725039	csasacuucaCfAfGfgagccaaaauL96	asdTsuudTgdGcuccdTgUfgaaguugscsu	AGCAACUUCACAGGAGCCAAA AA
AD-1725040	asascuucacAfGfGfagccaaaauL96	asdTsuudTudGgcucdCuGfugaaguusgsc	GCAACUUCACAGGAGCCAAA AG
AD-1725041	ascsuucacaGfGfAfgccaaaaguL96	asdCsuudTudTggcudCcUfgugaagusug	CAACUUCACAGGAGCCAAAA GU
AD-1725042	csusucacagGfAfGfccaaaaguuL96	asdAscudTudTuggcdTcCfugugaagsusu	AACUUCACAGGAGCCAAAA UG
AD-1725043	ususcacaggAfGfCfcaaaaaguguL96	asdCsacdTudTuuggdCuCfcugugaasgsu	ACUUCACAGGAGCCAAAA GU
AD-1725044	uscsacaggaGfCfCfaaaaaguguuL96	asdAscudCudTuuugdGcUfccugugasag	CUUCACAGGAGCCAAAA UC
AD-1725045	csascaggagCfCfAfaaaagugucuL96	asdGsacdAcdTuuuudGgCfuccugugsasa	UUCACAGGAGCCAAAA CU
AD-1725046	ascsaggagcCfAfAfaaagugucuuL96	asdAsgadCadCuuuudTgGfcuccugusgsa	UCACAGGAGCCAAAA UA
AD-1725047	csasggagccAfAfAfaagugucuauL96	asdTsagdAcdAcuuudTuGfgcuccugsusg	CACAGGAGCCAAAA AG
AD-1725048	asgsgagccaAfAfAfaagugucuaguL96	asdCsuadGadCacuudTuUfggcuccusgsu	ACAGGAGCCAAAA GU
AD-1725049	gsgsagccaaAfAfAfgugucuaguuL96	asdAscudAgdAcacudTuUfuggcuccsusg	CAGGAGCCAAAA UC
AD-1725050	gsasgcaaaaAfAfGfugucuagucuL96	asdGsacdTadGacacdTuUfuuggcucscsu	AGGAGCCAAAA CA
AD-1725051	asgscaaaaAfGfUfgucuagucauL96	asdTsgadCudAgacadCuUfuuuggcuscsc	GGAGCCAAAA AA
AD-1725052	gscscaaaaGfUfGfucuagucaauL96	asdTsugdAcdTagacdAcUfuuuggcsusc	GAGCCAAAA AC

AD-1725053	cscsaaaaagUfGfUfcuagucaacuL96	asdGsuudGadCuagadCaCfuuuuuggscsu	AGCCAAAAAGUGUCUAGUCAACU
AD-1725054	csasaaaaguGfUfCfuagucaacuuL96	asdAsgudTgdAcuagdAcAfcuuuuugsgsc	GCCAAAAAGUGUCUAGUCAACUU
AD-1725055	asasaaagugUfCfUfagucaacuuuL96	asdAsagdTudGacuadGafacuuiuuusgsg	CCAAAAAGUGUCUAGUCAACUUA
AD-1725056	asasaaguguCfUfAfgucaacuauL96	asdTsaadGudTgacudAgAfcacuuiuuusug	CAAAAAGUGUCUAGUCAACUUA
AD-1725057	asasagugucUfAfGfucaacuauL96	asdTsuadAgdTugacdTaGfacacuuiususu	AAAAAGUGUCUAGUCAACUUAU
AD-1725058	asasgugucuAfGfUfcaacuuaauL96	asdAsuudAadGuugadCuAfgacacuuiususu	AAAAGUGUCUAGUCAACUUAUU
AD-1725059	asgsugucuaGfUfCfaacuuaauuuL96	asdAsaudTadAguugdAcUfagacacuuiususu	AAAGUGUCUAGUCAACUUAUUUG
AD-1725060	gsusgucuaGfUfCfAfacuuaauuguL96	asdCsaadTudAaguudGafcuagacacuuiususu	AAGUGUCUAGUCAACUUAUUUGA
AD-1725061	usgsucuaguCfAfAfcuuaauugauL96	asdTscadAudTaagudTgAfcuagacacuuiususu	AGUGUCUAGUCAACUUAUUUGAG
AD-1725062	gsuscuaGfUfCfAfcuuaauugauL96	asdCsudAadTuaagdTuGfacuagacacuuiususu	GUGUCUAGUCAACUUAUUUGAGA
AD-1725066	asgsucaacuUfAfAfuugagaagguL96	asdCscudTcdTcaaudTaAfguugacacuuiususu	CUAGUCAACUUAUUUGAGAAGGU
AD-1725074	usasauugagAfAfGfguggcaaguuL96	asdAscudTgdCcacedTuCfucauuuasasg	CUUAUUUGAGAAGGUGGCAAGUU
AD-1725075	asasuugagaAfGfGfuggcaaguuuL96	asdAsacdTudGccacdCuUfcucaauiusasa	UUAUUUGAGAAGGUGGCAAGUUA
AD-1725079	gsasgaagguGfGfCfaaguuauugguL96	asdCscadTadAcuugdCcAfcuucucusasa	UUGAGAAGGUGGCAAGUUAUGGU
AD-1725080	asgsaaggugGfCfAfguuauugguL96	asdAscudAadAacuudGcCfaccuucucusasa	UGAGAAGGUGGCAAGUUAUGGUG
AD-1725082	asasgguggcAfAfGfuuaugguguuL96	asdAscudCcdAuaacdTuGfccaccuucucusasa	AGAAGGUGGCAAGUUAUGGUGUG
AD-1725083	asgsuggcaAfGfUfuuaugguguuL96	asdCsacdAcdCauaadCuUfgccaccuucucusasa	GAAGGUGGCAAGUUAUGGUGUGA

AD-1725088	gscsaaguuaUfGfGfugugaagccuL96	asdGsgcdTudCacacdCaUfaacuugscsa	UGGCAAGUUAUGGUGUGAAGC CA
AD-1725092	gsusuaugguGfUfGfaagccaagauL96	asdTscudTgdGcuucdAcAfccauaacsusu	AAGUUAUGGUGUGAAGCCAAG AU
AD-1725095	asusggugugAfAfGfccaagauauuL96	asdAsuadTcdTuggcdTuCfacaccausasa	UUAUGGUGUGAAGCCAAGAU UG
AD-1725096	usgsgugugaAfGfCfcaagauauguL96	asdCsaudAudCuuggdCuUfcacaccasusa	UAUGGUGUGAAGCCAAGAU GG
AD-1725122	asasaauuugGfGfUfcaaagugucuL96	asdGsacdAcdTuugadCcCfaaauuuusgsg	CCAAAUUUGGGUCAAGUGU CU
AD-1725123	asasaauuggGfUfCfaaagugucuuL96	asdAsgadCadCuuugdAcCfcaauuuusug	CAAAAUUUGGGUCAAGUGU UG
AD-1725125	asusuuggguCfAfAfagugucugauL96	asdTscadGadCacuudTgAfccaaaususu	AAAUUUGGGUCAAGUGUC AA
AD-1725156	gsusaaugcaGfAfCfugggucacguL96	asdCsgudGadCccagdTcUfgcauuacsug	CAGUAAUGCAGACUGGGUC GA
AD-1725157	usasaucagAfCfUfgggucacgauL96	asdTscgdTgdAccadGuCfugcauuascu	AGUAAUGCAGACUGGGUC AA
AD-1725158	asasugcagaCfUfGfggucacgaauL96	asdTsudGudGaccdAgUfcugcauusasc	GUAAUGCAGACUGGGUC AG
AD-1725159	asusgcagacUfGfGfgucacgaaguL96	asdCsuudCgdTgaccdCaGfucugcaususa	UAAUGCAGACUGGGUC GC
AD-1725184	asasugaaauCfAfAfuaugaagauL96	asdTscudTcdAuaudTgAfuuucauusgsa	UCAAUGAAAUCAAUUAUG AC
AD-1725186	usgsaaaucaAfUfUfaugaagaccuL96	asdGsgudCudTcauadAuUfgauuucasusu	AAUGAAAUCAAUUAUGA CA
AD-1725189	asasucauuAfUfGfaagaccacauL96	asdTsgudGgdTcuucdAuAfauugauususc	GAAAUCAAUUAUGAAGAC AA
AD-1725190	asuscauuuaUfGfAfagaccacauL96	asdTsugdTgdGucuudCaUfaauugaususu	AAUCAAUUAUGAAGACCA AG
AD-1725191	uscsaauuauGfAfAfagaccacaaguL96	asdCsuudGudGgucudTcAfuaauugasusu	AAUCAAUUAUGAAGACCA GU
AD-1725192	csasauuauGfAfGfaccacaaguL96	asdAscudTgdTggucdTuCfauauugsasu	AUCAAUUAUGAAGACCA UU

AD-1725193	asasuuaugaAfGfAfccacaaguuuL96	asdAsacdTudGuggudCuUfcuaaauusgsa	UCAAUUAUGAAGACCACAAGUUG
AD-1725194	asusuugaaGfAfCfcacaaguuguL96	asdCsaadCudTguggdTcUfucuaaauusg	CAAUUAUGAAGACCACAAGUUGA
AD-1725195	ususaugaagAfCfCfacaaguugauL96	asdTscadAcdTugugdGuCfucauaasusu	AAUUAUGAAGACCACAAGUUGAA
AD-1725196	usasugaagaCfCfAfcaaguugaauL96	asdTsucdAadCuugudGgUfcuucuaasasu	AUUAUGAAGACCACAAGUUGAAG
AD-1725197	asusgaagacCfAfCfaaguugaaguL96	asdCsuudCadAcuugdTgGfucuucausasa	UUAUGAAGACCACAAGUUGAAGU
AD-1725198	usgsaagaccAfCfAfaguugaaguuL96	asdAscudTcdAacuudGuGfgucuuucasusa	UAUGAAGACCACAAGUUGAAGUC
AD-1725199	gsasagaccaCfAfAfguugaagucuL96	asdGsacdTudCaacudTgUfggucuuucasu	AUGAAGACCACAAGUUGAAGUCA
AD-1725200	asasgaccacAfAfGfuugaagucauL96	asdTsgadCudTcaacdTuGfuggucuuasca	UGAAGACCACAAGUUGAAGUCAG
AD-1725201	asgsaccacaAfGfUfugaagucaguL96	asdCsugdAcdTucaadCuUfuggucucususc	GAAGACCACAAGUUGAAGUCAGG
AD-1725203	ascscacaagUfUfGfaagucagggauL96	asdCscddTgdAcuudAaCfuuguggucusu	AGACCACAAGUUGAAGUCAGGGA
AD-1725204	cscsacaaguUfGfAfagucagggauL96	asdTscddCudGacuudCaAfcuuguggusc	GACCACAAGUUGAAGUCAGGGAC
AD-1725205	csascaaguuGfAfAfgucagggacuL96	asdGsucdCcdTgacudTcAfacuugugsgsu	ACCACAAGUUGAAGUCAGGGACU
AD-1725206	ascsaaguugAfAfGfucagggacuuL96	asdAsgudCcdCugacdTuCfaacuugusgsg	CCACAAGUUGAAGUCAGGGACUA
AD-1725208	asasguugaaGfUfCfagggacuauL96	asdTsuadGudCccugdAcUfucuaacuusgsu	ACAAGUUGAAGUCAGGGACUAC
AD-1725211	ususgaagucAfGfGfgacuaacacuL96	asdGsugdTudAgucddCuGfacuucaascu	AGUUGAAGUCAGGGACUAACAAC
AD-1725212	usgsaagucaGfGfGfacuaacaccuL96	asdGsgudGudTagucdCcUfgacuucasasc	GUUGAAGUCAGGGACUAACACCA
AD-1725215	asgsucagggAfCfUfaacaccaaguL96	asdCsuudGgdTguuadGuCfccugacususc	GAAGUCAGGGACUAACACCAAGA

AD-1725216	gsuscaggaCfUfAfacaccaagauL96	asdTscudTgdGuguudAgUfccugacsusu	AAGUCAGGGACUAACACCAAGAA
AD-1725243	cscsaggcagUfGfUfacagcaugauL96	asdTscadTgdCuguadCaCfugccuggsasg	CUCCAGGCAGUGUACAGCAUGAU
AD-1725244	csasggcaguGfUfAfcagcaugauL96	asdAsucdAudGcugudAcAfcugccugsgsa	UCCAGGCAGUGUACAGCAUGAUG
AD-1725245	asgsgcagugUfAfCfagcaugauguL96	asdCsaudCadTgcugdTaCfacugccusgsg	CCAGGCAGUGUACAGCAUGAUGA
AD-1725247	gscsaguguaCfAfGfcaugaugaguL96	asdCsucdAudCaugcdTgUfacacugcsesu	AGGCAGUGUACAGCAUGAUGA
AD-1725327	csusgauggaUfUfGfcacaacauguL96	asdCsaudGudTgugcdAaUfccaucagsusc	GACUGAUGGAUUGCACAACAUGGG
AD-1725328	usgsauggauUfGfCfacaacaugguL96	asdCscadTgdTugugdCaAfucaucasgsu	ACUGAUGGAUUGCACAACAUGGG
AD-1725329	gsasuggauUfGfCfacaacaugguL96	asdCscadAudGuugudGcAfauccaucsasg	CUGAUGGAUUGCACAACAUGGG
AD-1725330	asusggauugCfAfCfaacaugggcuL96	asdGscddCadTguugdTgCfaaucauscsa	UGAUGGAUUGCACAACAUGGGCG
AD-1725331	usgsgauugCfAfCfacaugggcuL96	asdCsgcdCcdAuguudGuGfcaauccasusc	GAUGGAUUGCACAACAUGGGCG
AD-1725332	gsgsauugcaCfAfAfaugggcuL96	asdCscgdCcdCaugudTgUfgcauuccsas	AUGGAUUGCACAACAUGGGCG
AD-1725333	gsasccaauUfAfCfugucaugauL96	asdTscadAudGacagdTaAfuugggucscsc	GGACCCAAUUACUGUCAUUGAU
AD-1725334	ascsccauuAfCfUfgucaugauL96	asdAsucdAadTgacadGuAfaugggucscsc	GGACCCAAUUACUGUCAUUGAUG
AD-1725336	cscsaauuacUfGfUfcaugaugauL96	asdTscadTcdAaugadCaGfuaauuggsgsu	ACCCAAUUACUGUCAUUGAUGAG
AD-1725344	usgsucauugAfUfGfagauccggguL96	asdCscddGgdAucudAuCfaugacasgsu	ACUGUCAUUGAUGAGAUCGGGA
AD-1725345	gsuscauugaUfGfAfgauccggguL96	asdTscddCgdGaucudCaUfcaugacsasg	CUGUCAUUGAUGAGAUCGGGAC
AD-1725347	csasuugaugAfGfAfuccgggacuuL96	asdAsgudCcdCggaudCuCfaucaugsasc	GUCAUUGAUGAGAUCGGGGACUU

AD-1725348	asusugaugaGfAfUfccgggacuuuL96	asdAsagdTcdCeggadTcUfcaucaausgsa	UCAUUGAUGAGAUCCGGGACU UG
AD-1725376	ususggcaagGfAfUfcgcaaaaacuL96	asdGsuudTudTgcgadTcCfuugccaasusg	CAUUGGCAAGGAUCGCAAAAA CC
AD-1725377	usgsgcaaggAfUfCfcaaaaaccuL96	asdGsgudTudTugcgdAuCfcuugccasasu	AUUGGCAAGGAUCGCAAAAA CC
AD-1725378	gsgscaaggaUfCfGfcaaaaaccuL96	asdGsggdTudTuugcdGaUfccuugccsasa	UUGGCAAGGAUCGCAAAAA ACC CA
AD-1725397	csasagggagGfAfUfuaucuggauuL96	asdAsucdCadGauaadTcCfuccuugsgsg	CCCAAGGGAGGAUUAUCUGGA UG
AD-1725402	gsasggauuaUfCfUfggaugucuauL96	asdTsagdAcdAuccadGaUfaauccuscsc	GGGAGGAUUAUCUGGAUGUCU AU
AD-1725403	asgsgauuauCfUfGfgaugucuauuL96	asdAsuadGadCauccdAgAfuaauccuscsc	GGAGGAUUAUCUGGAUGUCUA UG
AD-1725404	gsgsauuauCfUfGfGfaugucuauL96	asdCsaudAgdAcaudCaGfauaaucscusc	GAGGAUUAUCUGGAUGUCUAU GU
AD-1725405	gsasuuauCfUfGfGfaugucuauL96	asdAscadTadGacaudCcAfgauaaucscsu	AGGAUUAUCUGGAUGUCUAU UG
AD-1725406	asusuauCfUfGfGfaugucuauL96	asdCsacdAudAgacadTcCfagauaaucscsc	GGAUUAUCUGGAUGUCUAU GU
AD-1725407	ususauCfUfGfGfaugucuauL96	asdAscadCadTagacdAuCfcagauaaucsc	GAUUAUCUGGAUGUCUAU GU
AD-1725408	usasucuggaUfGfUfcuauguguuuL96	asdAsacdAcdAuagadCaUfccagauasasu	AUUAUCUGGAUGUCUAU GU
AD-1725409	asuscuggauGfUfCfuauguguuuuL96	asdAsaadCadCauagdAcAfuccagausasa	UUAUCUGGAUGUCUAU GU
AD-1725410	uscsuggaugUfCfUfauguguuuguL96	asdCsaadAcdAcaudGaCfauccagasusa	UAUCUGGAUGUCUAU GU
AD-1725411	csusgganguCfUfAfuguguuugguL96	asdCscadAadCcaudAgAfcauccagsasu	AUCUGGAUGUCUAU GU
AD-1725427	asasccaaguGfAfAfcaucaaugcuL96	asdGscadTudGaugudTcAfcuugguuscsa	UGAACCAAGUGAACAUCAA AUG CU
AD-1725428	ascscaagugAfAfCfaucaaugcuL96	asdAsgcdAudTgaugdTuCfacuuggususc	GAACCAAGUGAACAUCAA AUG CU

AD-1725429	cscsaagugaAfCfAfucaaugcuuuL96	asdAsagdCadTugaudGuUfcacuuggsusu	AACCAAGUGAACAUCAAUGCU UU
AD-1725430	csasagugaaCfAfUfcaaugcuuuuL96	asdAsaadGcdAuugadTgUfucacuugsgsu	ACCAAGUGAACAUCAAUGCUU UG
AD-1725439	asuscaaugcUfUfUfggcuuccauL96	asdTsugdGadAgccadAaGfcuugausgsu	ACAUCAAUGCUUUGGCUUCCA AG
AD-1725440	uscсаaugcuUfUfGfgcuuccaaguL96	asdCsuudGgdAagccdAaAfgcauugasusg	CAUCAAUGCUUUGGCUUCCAA GA
AD-1725441	csasaugcuUfGfGfcuuccaagauL96	asdTscudTgdGaagcdCaAfagcauugsasu	AUCAAUGCUUUGGCUUCCAAG AA
AD-1725449	usgsgcuuccAfAfGfaagacaauuL96	asdAsuudGudCuuucdTuGfgaagccasasa	UUUGGCUUCCAAGAAAGACAA UG
AD-1725453	ususcaagaAfAfGfacaaugagcuL96	asdGscudCadTugucdTuUfcuuggaasgsc	GCUUCCAAGAAAGACAAUGAG CA
AD-1725454	uscсаagaaAfGfAfcaaugagcauL96	asdTsgcdTcdAuugudCuUfucuuggasag	CUUCCAAGAAAGACAAUGAGC AA
AD-1725456	csasagaaagAfCfAfaugagcaacuL96	asdGsuudGcdTcaudGuCfuuuuugsgsa	UCCAAGAAAGACAAUGAGCAA CA
AD-1725457	asasgaaagaCfAfAfugagcaacauL96	asdTsgudTgdCucaudTgUfcuuuucusgsg	CCAAGAAAGACAAUGAGCAAC AU
AD-1725460	asasagaaaUfGfAfgcaacauguuL96	asdAscadTgdTugcudCaUfugucuuuscsu	AGAAAGACAAUGAGCAACAUG UG
AD-1725462	agsacaaugAfGfCfaacauguguuL96	asdAscadCadTguugdCuCfauugucususu	AAAGACAAUGAGCAACAUGUG UU
AD-1725463	gsascaaugaGfCfAfcauguguuuL96	asdAsacdAcdAuguudGcUfcuugucsusu	AAGACAAUGAGCAACAUGUGU UC
AD-1725464	ascсаaugagCfAfAfcauguguucuL96	asdGsaadCadCaugudTgCfcauuguscsu	AGACAAUGAGCAACAUGUGUU CA
AD-1725465	csasaugagcAfAfCfauguguucauL96	asdTsgadAcdAcaugdTuGfcuauugsusc	GACAAUGAGCAACAUGUGUUC AA
AD-1725467	asusgagcaaCfAfUfguguucaauL96	asdTsuudGadAcacadTgUfugcucausug	CAAUGAGCAACAUGUGUUCAA AG
AD-1725469	gsasgcaacaUfGfUfguuccaaguL96	asdAscudTudGaacadCaUfguugcucsasu	AUGAGCAACAUGUGUUCAAAG UC

AD-1725470	asgscaacauGfUfGfuucaagucuL96	asdGsacdTudTgaacdAcAfuguugcusc	UGAGCAACAUGUGUUCAAAGUCA
AD-1725472	csasacauguGfUfUfcaagucaauL96	asdTsugdAcdTuugadAcAfauguugscsu	AGCAACAUGUGUUCAAAGUCAAG
AD-1725473	asascaugugUfUfCfaagucaaguL96	asdCsuudGadCuuugdAaCfacauguusgsc	GCAACAUGUGUUCAAAGUCAAGG
AD-1725474	ascsauguguUfCfAfaagucaagguL96	asdCscudTgdAcuuudGaAfcacaugusug	CAACAUGUGUUCAAAGUCAAGGA
AD-1725476	asusguguucAfAfAfgucaaggauuL96	asdAsucdCudTgacudTuGfaacacaugsu	ACAUGUGUUCAAAGUCAAGGAUA
AD-1725477	usgsuguucaAfAfGfucaaggauauL96	asdTsaudCcdTugacdTuUfgaacacasug	CAUGUGUUCAAAGUCAAGGAUAU
AD-1725478	gsusguucaAfGfUfcaaggauuuL96	asdAsuadTcdCuugadCuUfugaacacsasu	AUGUGUUCAAAGUCAAGGAUAUG
AD-1725481	ususcaaaguCfAfAfggauauggauL96	asdTscddAudAuccudTgAfcuuugaasc	UGUUCAAAGUCAAGGAUAUGGAA
AD-1725482	uscsaaagucAfAfGfgauauggaauL96	asdTsucdCadTaucddTuGfacuuugasasc	GUUCAAAGUCAAGGAUAUGGAA
AD-1725483	csasaagucaAfGfGfauauggaauL96	asdTsuudCcdAuauudCuUfgacuuugsasa	UUCAAAGUCAAGGAUAUGGAA
AD-1725534	usgsaaagccAfGfUfcucugagucuL96	asdGsacdTcdAgagadCuGfgcuuucasusc	GAUGAAAGCCAGUCUCUGAGUCU
AD-1725535	gsasaagccaGfUfCfucugagucuuL96	asdAsgadCudCagagdAcUfggcuuucsasu	AUGAAAGCCAGUCUCUGAGUCUC
AD-1725548	usgsagucucUfGfUfggcaugguuuL96	asdAsacdCadTgccadCaGfagacucasgsa	UCUGAGUCUCUGUGGCAUGGUUU
AD-1725552	uscsucugugGfCfAfuuguuugguL96	asdCscddAadAccaudGcCfacagagascsu	AGUCUCUGUGGCAUGGUUUUGGGA
AD-1725556	usgsuggcauGfGfUfuugggaacauL96	asdTsugdTcdCcaaadCcAfugccacasgsa	UCUGUGGCAUGGUUUUGGGAACAC
AD-1725558	usgscauggUfUfUfgggaacacauL96	asdTsugdGudTccadAaCfcaugccascsa	UGUGGCAUGGUUUUGGGAACACAG
AD-1725580	asasggguacCfGfAfuuaccacaauL96	asdTsugdTgdGuaudCgGfuaccuuscsc	GGAAGGGUACCGAUUACCACAAG

AD-1725582	gsgsguaccgAfUfUfaccacaagcuL96	asdGscudTgdTggudAuCfpguaccsusu	AAGGGUACCGAUUACCACAAG CA
AD-1725585	usascgauuAfCfCfacaagcaacuL96	asdGsuudGcdTugugdGuAfaucgguascsc	GGUACCGAUUACCACAAGCAA CC
AD-1725587	cscsgauuacCfAfCfaagcaaccuL96	asdTsggdTudGcuugdTgGfuaaucggsusa	UACCGAUUACCACAAGCAACCA U
AD-1725588	csgsauuaccAfCfAfagcaaccuL96	asdAsugdGudTgcuudGuGfguaaucgsgsu	ACCGAUUACCACAAGCAACCAU G
AD-1725590	asusuaccacAfAfGfcaaccaugguL96	asdCscadTgdGuugdTuGfugguaauscsg	CGAUUACCACAAGCAACCAUG GC
AD-1725591	ususaccacaAfGfCfaaccaugguL96	asdGscddAudGguugdCuUfgugguaasusc	GAUUACCACAAGCAACCAUGG CA
AD-1725592	usascacaaGfCfAfaccauggcauL96	asdTsgcdCadTggudGcUfugugguasasu	AUUACCACAAGCAACCAUGGC AG
AD-1725593	ascscacaagCfAfAfcauggcaguL96	asdCsugdCcdAuggudTgCfuuggusasa	UUACCACAAGCAACCAUGGCA GG
AD-1725598	asasgcaaccAfUfGfgcaggccaauL96	asdTsugdGcdCugccdAuGfguugcuusgsu	ACAAGCAACCAUGGCAGGCCA AG
AD-1725603	ascsauggcAfGfGfcaagaucuuL96	asdAsgadTcdTuggcdCuGfcauggusug	CAACCAUGGCAGGCCAAGAUC UC
AD-1725604	cscsauggcaGfGfCfaagaucucuL96	asdGsagdAudCuuggdCcUfgccauggsusu	AACCAUGGCAGGCCAAGAUCU CA
AD-1725605	csasuggcagGfCfCfaagaucucuL96	asdTsgadGadTcuugdGcCfugccaugsgsu	ACCAUGGCAGGCCAAGAUCUC AG
AD-1725643	gscsugugguGfUfCfugaguacuuuL96	asdAsagdTadCucagdAcAfccacagcscsc	GGGCUGUGGUGUCUGAGUACU UU
AD-1725644	csusuggugUfCfUfgaguacuuuuL96	asdAsaadGudAcucadGaCfaccacagcscsc	GGCUGUGGUGUCUGAGUACUU UG
AD-1725645	usgsugguguCfUfGfaguacuuuguL96	asdCsaadAgdTaducdAgAfcaccacagcsc	GCUGUGGUGUCUGAGUACUUU GU
AD-1725646	gsusggugucUfGfAfguacuuuguL96	asdAscadAadGuacudCaGfacaccacsag	CUGUGGUGUCUGAGUACUUUG UG
AD-1725647	usgsugugucGfAfGfuacuuuguL96	asdCsacdAadAguacdTcAfgacaccacsca	UGUGGUGUCUGAGUACUUUGU GC

AD-1725667	csusgacagcAfGfCfacauuguuuuL96	asdAsaadCadAugugdCuGfcugucagsesa	UGCUGACAGCAGCACAUUGUU UC
AD-1725716	asasgcgggaCfCfUfggagauagauL96	asdTscudAudCuccadGgUfcccgcuuuscu	AGAAGCGGGACCUGGAGAUAG AA
AD-1725717	asgscgggacCfUfGfgagauagaauL96	asdTsucdTadTcuccdAgGfucccgcususc	GAAGCGGGACCUGGAGAUAGA AG
AD-1725756	gsasagcaggAfAfUfuccugaauuuL96	asdAsaudTcdAggaadTuCfcugcuucsusu	AAGAAGCAGGAAUUCCUGAAU UU
AD-1725757	asasgcaggaAfUfUfccugaauuuuL96	asdAsaadTudCaggadAuUfccugcuuscu	AGAAGCAGGAAUUCCUGAAUU UU
AD-1725759	gscsaggaauUfCfCfugaauuuuauL96	asdTsaadAadTucagdGaAfuuccugcsusu	AAGCAGGAAUUCCUGAAUUUU AU
AD-1725760	csasggaauuCfCfUfgaauuuuauL96	asdAsuadAadAuucadGgAfauuccugscsu	AGCAGGAAUUCCUGAAUUUUUA UG
AD-1725761	asgsgaauucCfUfGfaauuuuauL96	asdCsaudAadAauucdAgGfaauuccugsc	GCAGGAAUUCCUGAAUUUUUAU GA
AD-1725762	gsgsaauuccUfGfAfauuuuauL96	asdTscadTadAaaudCaGfgaauuccusg	CAGGAAUUCCUGAAUUUUUAUG AC
AD-1725763	gsasauuccuGfAfAfuuuuauL96	asdGsucdAudAaaudTcAfggaauucscsu	AGGAAUUCCUGAAUUUUUAUGA CU
AD-1725764	asasuuccugAfAfUfuuuauL96	asdAsgudCadTaaaadTuCfaggaauscs	GGAAUUCCUGAAUUUUUAUGAC UA
AD-1725765	asusuccugaAfUfUfuuaugacuauL96	asdTsagdTcdAuaaadAuUfcaggaaususc	GAAUUCCUGAAUUUUUAUGACU AU
AD-1725766	ususccugaaUfUfUfuaugacuauL96	asdAsuadGudCauaadAaUfucaggaasusu	AAUUCCUGAAUUUUUAUGACUA UG
AD-1725767	uscscugaauUfUfUfaugacuauL96	asdCsaudAgdTcauadAaAfuucaggasasu	AUUCCUGAAUUUUUAUGACUAU GA
AD-1725768	cscsugaauUfUfAfugacuauL96	asdTscadTadGucaudAaAfaucaggasasa	UCCUGAAUUUUUAUGACUAUG AC
AD-1725769	csusgaauuuUfAfUfgacuauL96	asdGsucdAudAgucadTaAfaauucagsgsa	UCCUGAAUUUUUAUGACUAUGA CG
AD-1725771	gsasauuuuUfGfAfcuaugacguuL96	asdAscgdTcdAuagudCaUfaaaauucsasg	CUGAAUUUUUAUGACUAUGACG UU

AD-1725772	asasuuuuauGfAfCfuaugacguuuL96	asdAsacdGudCauagdTcAfuaaaauuscsa	UGAAUUUUAUGACUAUGACGUUG
AD-1725773	asusuuuauGfAfCfUfaugacguuguL96	asdCsaadCgdTcauadGuCfuaaaaususc	GAAUUUUAUGACUAUGACGUUGC
AD-1725775	ususuaugacUfAfUfgacguugccuL96	asdGsgcdAadCgucadTaGfucauaaasasu	AUUUUAUGACUAUGACGUUGC
AD-1725776	ususaugacuAfUfGfacguugccuL96	asdGsggdCadAcgucdAuAfgucauaasasa	UUUUAUGACUAUGACGUUGCCCU
AD-1725777	usasugacuaUfGfAfcguugccuuL96	asdAsggdGcdAacgudCaUfagucauasasa	UUUAUGACUAUGACGUUGCCCUG
AD-1725778	asusgacuauGfAfCfguugccuL96	asdCsagdGgdCaacgdTcAfuaugacuasasa	UUAUGACUAUGACGUUGCCCUGA
AD-1725779	usgsacuauGfAfCfGfuugccuL96	asdTscadGgdGcaacdGuCfuaugacuasasa	UAUGACUAUGACGUUGCCCUGAU
AD-1725780	gsascuaugaCfGfUfugccuL96	asdAsucdAgdGgcaadCgUfcaugacuasasa	AUGACUAUGACGUUGCCCUGAUC
AD-1725784	asusgacguuGfAfCfcgucgcaaguL96	asdCsuudGadTcaggdGcAfacgucuasasa	CUAUGACGUUGCCCUGAUCAAAGC
AD-1725785	usgsacguugCfCfCfugaucaagcuL96	asdGscudTgdAucagdGgCfaacgucuasasa	UAUGACGUUGCCCUGAUCAAAGCU
AD-1725786	gsascguugCfCfUfugaucaagcuL96	asdAsgcdTudGaucadGgGfcaacgucuasasa	AUGACGUUGCCCUGAUCAAAGCUC
AD-1725787	ascsguugccCfUfGfaucaagcucuL96	asdGsagdCudTgaucdAgGfcaacgucuasasa	UGACGUUGCCCUGAUCAAAGCUC
AD-1725789	gsusugccuGfAfUfcaagcucuL96	asdTsugdAgdCuugadTcAfgggcaacgucuasasa	ACGUUGCCCUGAUCAAAGCUC
AD-1725790	ususgcccugAfUfCfaagcucuL96	asdCsuudGadGcuugdAuCfagggcaacgucuasasa	CGUUGCCCUGAUCAAAGCUC
AD-1725828	csasgacuauCfAfGfccccuuuguL96	asdCsaadAudGggccdTgAfuagucugsgsc	GCCAGACUAUCAGGCCCAUUUGU
AD-1725829	agsacuauCfAfGfccccuuuguL96	asdAscadAadTgggdcuGfauagucugsgsc	CCAGACUAUCAGGCCCAUUUGUC
AD-1725830	gsascuaugaGfGfCfccccuuuguL96	asdGsacdAadAugggdCcUfgauagucugsgsc	CAGACUAUCAGGCCCAUUUGUCU

AD-1725831	ascsuauacagGfCfCfcuuugucuuL96	asdAsgadCadAauggdGcCfugauaguscsu	AGACUAUCAGGCCCAUUUGUC UC
AD-1725832	csusauacaggCfCfCfauuugucucuL96	asdGsagdAcdAaaugdGgCfcugauagsusc	GACUAUCAGGCCCAUUUGUCU CC
AD-1725840	csgsagggaaCfAfAfcucgagcuuuL96	asdAsagdCudCgagudTgUfuccucgsgsu	ACCGAGGGAACAACUCGAGCU UU
AD-1725841	gsasgggaacAfAfCfucgagcuuuuL96	asdAsaadGcdTcgagdTuGfuuccucsgsg	CCGAGGGAACAACUCGAGCUU UG
AD-1725842	asgsngaacaAfCfUfcgagcuuuguL96	asdCsaadAgdCucgadGuUfguuccuscsg	CGAGGGAACAACUCGAGCUUU GA
AD-1725845	gsasacaacuCfGfAfgcuuugagguL96	asdCscudCadAagcudCgAfguuguucscsc	GGGAACAACUCGAGCUUUGAG GC
AD-1725846	asascaacucGfAfGfcuuugagguL96	asdGscddTcdAaagcdTcGfaguuguuscsc	GGAACAACUCGAGCUUUGAGG CU
AD-1725848	csasacucgaGfCfUfuugagguuuL96	asdAsagdCcdTcaaadGcUfcgaguugsusu	AACAACUCGAGCUUUGAGGCU UC
AD-1725849	asascucgagCfUfUfugagguucuL96	asdGsaadGcdCucaadAgCfucgaguusgsu	ACAACUCGAGCUUUGAGGCUU CC
AD-1725850	ascsucgagcUfUfUfgagguuccuL96	asdGsgadAgdCcucadAaGfcucgagusug	CAACUCGAGCUUUGAGGCUUC CU
AD-1725854	gsasgcuuugAfGfGfcuuccuccauL96	asdTsggdAgdGaagcdCuCfaaagcucsgsa	UCGAGCUUUGAGGCUUCCUCC AA
AD-1725855	asgscuuugaGfGfCfuuccuccauL96	asdTsugdGadGgaagdCcUfcaaagcuscsg	CGAGCUUUGAGGCUUCCUCCA AC
AD-1725856	gscsuuugagGfCfUfuccuccaacuL96	asdGsuudGgdAggaadGcCfucaaagcsusc	GAGCUUUGAGGCUUCCUCCAA CU
AD-1725857	csusuugaggCfUfUfccuccaacuL96	asdAsgudTgdGaggadAgCfcucaaagscsu	AGCUUUGAGGCUUCCUCCAAC UA
AD-1725858	ususugaggcUfUfCfccuccaacuL96	asdTsagdTudGgaggdAaGfccucaaagsc	GCUUUGAGGCUUCCUCCAACU AC
AD-1725861	gsasggcuucCfUfCfaacuaccuL96	asdTsggdTadGuuggdAgGfaagccucsasa	UUGAGGCUUCCUCCAACUACCA C
AD-1725862	asgsuuccUfCfCfaacuaccuL96	asdGsugdGudAguugdGaGfgaagccuscsa	UGAGGCUUCCUCCAACUACCAC U

AD-1725864	gscsuuccucCfAfAfcuaccacuuuL96	asdAsagdTgdGuagudTgGfaggaagcscsu	AGGCUUCCUCCAACUACCACUUG
AD-1725866	ususccuccaAfCfUfaccacuugcuL96	asdGscadAgdTggvadGuUfaggaggaasgsc	GCUUCCUCCAACUACCACUUGC
AD-1725867	uscscuccaaCfUfAfccacuugccuL96	asdGsgcdAadGuggudAgUfaggaggasag	CUUCCUCCAACUACCACUUGCC
AD-1725872	csasacuaccAfCfUfugccagcaauL96	asdTsugdCudGgcaadGuGfguaguugsgsa	UCCAACUACCACUUGCCAGCAA
AD-1725874	ascsuaccacUfUfGfccagcaacauL96	asdTsgudTgdCuggcdAaGfugguagusug	CAACUACCACUUGCCAGCAACA
AD-1725907	csuscccugcAfCfAfggauaucaauL96	asdTsugdAudAuccudGuGfcagggagscsa	UGCUCUCCUGCACAGGAUAUCA
AD-1725908	uscscugcaCfAfGfgauaucaauL96	asdTsuudGadTaucdDgUfgcagggasgsc	GCUCCUGCACAGGAUAUCAAG
AD-1725909	cscscugcacAfGfGfauaucaaguL96	asdCsuudTgdAuaucdCuGfugcagggasag	CUCCUGCACAGGAUAUCAAG
AD-1725911	csusgcacagGfAfUfaucaagcuuL96	asdAsgcdTudTgauadTcCfugucagsgsg	CCUGCACAGGAUAUCAAGC
AD-1725916	csasggauauCfAfAfgcucuguuuL96	asdAsacdAgdAgcuudTgAfuauccugsug	CACAGGAUAUCAAGCUCUGU
AD-1725919	gsasuaucAAfGfCfucuguuuguuL96	asdAscadAadCagagdCuUfugauaucscsu	AGGAUAUCAAGCUCUGUUUG
AD-1725925	asasagcucuGfUfUfugugucugauL96	asdTscadGadCacaadAcAfgagcuuusgsa	UCAAGCUCUGUUUGUGUCUG
AD-1725957	gscsugacucGfGfAfgaggugucuL96	asdAsgadCcdTccuudCcGfagucagcsusu	AAGCUGACUCGGAAGGAGGUC
AD-1725958	csusgacucgGfAfAfgaggucuaL96	asdTsagdAcdCuccudTcCfagucagscsu	AGCUGACUCGGAAGGAGGUCU
AD-1725961	ascsucggaaGfGfAfggucuaauL96	asdAsugdTadGaccudCcUfuccgaguscscsa	UGACUCGGAAGGAGGUCUACA
AD-1725963	uscsggaaggAfGfGfucuaucacuL96	asdTsgadTgdTagacdCuCfcuuccgasgsu	ACUCGGAAGGAGGUCUACAUC
AD-1725964	csgsgaaggaGfGfUfcuacaucauL96	asdTsugdAudGuagadCcUfccuuccgsag	CUCGGAAGGAGGUCUACAUCA

AD-1725967	asasggagguCfUfAfcaucaagaauL96	asdTsudTudGaugudAgAfccuccuuscs	GGAAGGAGGUCUACAUCAAGA AU
AD-1725968	asgsaggucUfAfCfaucaagaauuL96	asdAsuudCudTgaugdTaGfaccuccus	GAAGGAGGUCUACAUCAAGAA UG
AD-1725974	asasgaaaggCfAfGfcugugagaguL96	asdCsudTcdAcagcdTgCfcuuucuas	AUAAGAAAGGCAGCUGUGAGA GA
AD-1725977	asasaggcagCfUfGfugagagagauL96	asdTscudCudCucacdAgCfugccuuus	AGAAAGGCAGCUGUGAGAGAG AU
AD-1725983	asgscugugaGfAfGfagaugcucauL96	asdTsgadGcdAucudTcUfcacagcusc	GCAGCUGUGAGAGAGAUGCUC AA
AD-1725985	csusgugagaGfAfGfaugcucaauuL96	asdAsuudGadGcaudTcUfcucacags	AGCUGUGAGAGAGAUGCUCAA UA
AD-1725986	usgsugagagAfGfAfugcucaauauL96	asdTsaudTgdAgcaudCuCfucucacas	GCUGUGAGAGAGAUGCUCAAU AU
AD-1725987	gsusgagagaGfAfUfgcucaauuuL96	asdAsuadTudGagcadTcUfcucucacs	CUGUGAGAGAGAUGCUCAAUA UG
AD-1725988	usgsagagagAfUfGfcucaauauguL96	asdCsaudAudTgagcdAuCfucucucasc	UGUGAGAGAGAUGCUCAAUAU GC
AD-1725989	gsasgagagaUfGfCfucaauaugcuL96	asdGscadTadTugagdCaUfcucucusc	GUGAGAGAGAUGCUCAAUAUG CC
AD-1725991	csasggcuauGfAfCfaaagucaaguL96	asdCsudGadCuuugdTcAfuagccugsg	CCCAGGCUAUGACAAAGUCAAG GG
AD-1725992	asgsdcuauGfAfCfaaagucaagguL96	asdCsudTgdAcuudGuCfauagccugsg	CCAGGCUAUGACAAAGUCAAG GA
AD-1725993	gsgscuauGfAfAfagucaaggauL96	asdTscudTudGacuudTgUfcuagccus	CAGGCUAUGACAAAGUCAAGG AC
AD-1725999	gsascaaaguCfAfAfggacaucucuL96	asdGsagdAudGuccudTgAfcuuugucs	AUGACAAAGUCAAGGACAUCU CA
AD-1726014	uscsgguuccUfUfUfguacuggaguL96	asdCsudCadGuacadAaGfgaaccgsg	CCUCGGUCCUUUGUACUGGAG GG
AD-1726015	csgsguuccUfUfGfuacuggagguL96	asdCsudCcdAguacdAaAfggaaccgs	CUCGGUCCUUUGUACUGGAG GA
AD-1726016	gsgsuuccuUfGfUfacuggaggauL96	asdTscudTcdCaguadCaAfaggaaccgs	UCGGUCCUUUGUACUGGAGG AG

AD-1726018	ususccuugUfAfCfuggaggaguuL96	asdAscudCcdTccagdTaCfaaaggaascsc	GGUCCUUGUACUGGAGGAGUG
AD-1726020	cscsuuuguaCfUfGfgaggagugauL96	asdTscadCudCcuccdAgUfacaaggsasa	UCCUUGUACUGGAGGAGUGAG
AD-1726023	ususguacugGfAfGfgagugagucuL96	asdGsacdTcdAcuccdTcCfaguacaasasg	CUUUGUACUGGAGGAGUGAGUCC
AD-1726024	usgsuacuggAfGfGfagugaguccuL96	asdGsgadCudCacudCuCfcaguacasasa	UUUGUACUGGAGGAGUGAGUCC
AD-1726025	gsusacuggaGfGfAfgugaguccuL96	asdGsggdAcdTcacudCcUfccaguacsasa	UUGUACUGGAGGAGUGAGUCCCU
AD-1726027	ascsgaggAgfGfUfgaguccuauL96	asdTsagdGgdAcucadCuCfuccagusasc	GUACUGGAGGAGUGAGUCCCUAU
AD-1726029	usgsaggagUfGfAfguccuauL96	asdCsaudAgdGgacudCaCfuccucasgsu	ACUGGAGGAGUGAGUCCCUAUGC
AD-1726031	gsasggagugAfGfUfccuauL96	asdAsgcdAudAgggadCuCfacuccscsa	UGGAGGAGUGAGUCCCUAUGCUG
AD-1726033	gsgsagugagUfCfCfuaugcugauL96	asdTscadGcdAuaggdGaCfucacuccsusc	GAGGAGUGAGUCCCUAUGCUGAC
AD-1726034	gsasgugaguCfCfCfuaugcugacuL96	asdGsucdAgdCauagdGgAfcucacucscsu	AGGAGUGAGUCCCUAUGCUGACC
AD-1726036	csasauacuuGfCfAfgaggugauuuL96	asdAsaudCadCcucudGcAfaguauugsgsg	CCCAUACUUGCAGAGGUGAUUC
AD-1726037	asasuacuugCfAfGfaggugauucuL96	asdGsaadTcdAccudTgCfaaguauugsgsg	CCAUACUUGCAGAGGUGAUUCU
AD-1726039	usascuugcaGfAfGfgugauucuguL96	asdCsagdAadTcaccdTcUfgcaaguasusu	AAUACUUGCAGAGGUGAUUCUGG
AD-1726041	csusugcagaGfGfUfgauucuggcuL96	asdGscddAgdAaucadCcUfcugcaagsusa	UACUUGCAGAGGUGAUUCUGGCG
AD-1726042	ususgcagagGfUfGfauucuggcguL96	asdCsgcdCadGaucdAcCfucugcaasgsu	ACUUGCAGAGGUGAUUCUGGCG
AD-1726048	usgsauaguuCfAfCfaagagaaguuL96	asdAscudTcdTcuugdTgAfacuaucasasg	CUUGAUAGUUCACAAGAGAAGUC
AD-1726049	gsasuaguucAfCfAfaagagaagucuL96	asdGsacdTudCucuudGuGfaacuauacsasa	UUGAUAGUUCACAAGAGAAGUCG

AD-1726050	asusaguucaCfAfAfgagaagucguL96	asdCsgadCudTcucudTgUfgaacuauscsa	UGAUAGUUCACAAGAGAAGUC GU
AD-1726051	usasguucacAfAfGfagaagucguuL96	asdAscgdAcdTucudTuGfugaacuasusc	GAUAGUUCACAAGAGAAGUCG UU
AD-1726052	asgsuucacaAfGfAfgaagucguuuL96	asdAsacdGadCuucudCuUfgugaacusasu	AUAGUUCACAAGAGAAGUCGU UU
AD-1726053	gsusucacaaGfAfGfaagucguuuuL96	asdAsaadCgdAcuucdTcUfugugaacsusa	UAGUUCACAAGAGAAGUCGUU UC
AD-1726054	ususacaagAfGfAfgucguuuuL96	asdGsaadAcDGacuudCuCfuugugaacsu	AGUUCACAAGAGAAGUCGUUU CA
AD-1726055	uscsacaagaGfAfAfgucguuucauL96	asdTsgadAadCgacudTcUfcuugugasasc	GUUCACAAGAGAAGUCGUUUC AU
AD-1726056	csascaagagAfAfGfucguuucauuL96	asdAsugdAadAcgacdTuCfucuugugsasa	UUCACAAGAGAAGUCGUUUCA UU
AD-1726057	ascaagagaAfGfUfcguuucauuuL96	asdAsaudGadAacgadCuUfcucuugusgsa	UCACAAGAGAAGUCGUUUCAU UC
AD-1726058	csasagagaaGfUfCfguuucauuuL96	asdGsaadTgdAaacgdAcUfucucuugsug	CACAAGAGAAGUCGUUUCAU CA
AD-1726059	asasgagaagUfCfGfuuucauucauL96	asdTsgadAudGaaacdGacfuucucuusgsu	ACAAGAGAAGUCGUUUCAUUC AA
AD-1726060	asgsagaaguCfGfUfucauucauuL96	asdTsugdAadTgaaadCgAfcuucucusug	CAAGAGAAGUCGUUUCAUUCA AG
AD-1726061	gsasgaagucGfUfUfcauucaaguL96	asdCsuudGadAugaadAcGfacuucucusu	AAGAGAAGUCGUUUCAUUCAA GU
AD-1726062	asgsaagucgUfUfUfcauucaaguL96	asdAscudTgdAaugadAaCfGacuucucusu	AGAGAAGUCGUUUCAUUCAAG UU
AD-1726063	gsasagucguUfUfCfauucaaguuuL96	asdAsacdTudGaugdAaAfcgacuucusc	GAGAAGUCGUUUCAUUCAAGU UG
AD-1726064	asasgucguUfCfAfuucaaguuguL96	asdCsaadCudTgaaudGaAfacgacuucusc	AGAAGUCGUUUCAUUCAAGUU GG
AD-1726065	asgsucguuuCfAfUfcaaguugguL96	asdCscadAcdTugaadTgAfaacgacususc	GAAGUCGUUUCAUUCAAGUUG GU
AD-1726079	gsasguagugGfAfUfgucgcaauuL96	asdTsuudGcdAgacadTcCfacuacucscsc	GGGAGUAGUGGAUGUCUGCAA AA

AD-1726080	asgsuaguggAfUfGfucugcaaaaauL96	asdTsuudTgdCagacdAuCfcacuacusasc	GGAGUAGUGGAUGUCUGCAAAA AA
AD-1726081	gsusaguggaUfGfUfcugcaaaaaauL96	asdTsuudTudGcagadCaUfccacuacsusc	GAGUAGUGGAUGUCUGCAAAA AC
AD-1726082	usasuggauGfUfCfugcaaaaacuL96	asdGsuudTudTgcagdAcAfuccacuascsu	AGUAGUGGAUGUCUGCAAAAA CC
AD-1726083	asgsuggaugUfCfUfgcaaaaaccuL96	asdGsgudTudTugcadGaCfauccacusasc	GUAGUGGAUGUCUGCAAAAAC CA
AD-1726084	gsusggauguCfUfGfcaaaaaccuL96	asdTsggdTudTuugcdAgAfcauccacsusa	UAGUGGAUGUCUGCAAAAACC AG
AD-1726085	usgsaugucUfGfCfaaaaaccaguL96	asdCsugdGudTuuugdCaGfacauccascsu	AGUGGAUGUCUGCAAAAACCA GA
AD-1726086	gsgsaugucuGfCfAfaaaaccagauL96	asdTscudGgdTuuudGcAfgacaucscasc	GUGGAUGUCUGCAAAAACCAG AA
AD-1726087	gsasugucugCfAfAfaaaccagaauL96	asdTsudTgdGuuudTgCfagacaucscsa	UGGAUGUCUGCAAAAACCAGA AG
AD-1726090	gsuscugcaaAfAfAfccagaagcguL96	asdCsgcdTudCuggudTuUfugcagacsasu	AUGUCUGCAAAAACCAGAAGC GG
AD-1726091	uscugcaaaaAfAfCfcagaagcguL96	asdCscgdCudTcuggdTuUfuugcagascsa	UGUCUGCAAAAACCAGAAGCG GC
AD-1726092	csusgcaaaaAfCfCfagaagcggcuL96	asdGscddGcdTucugdGuUfuuuugcagsasc	GUCUGCAAAAACCAGAAGCGG CA
AD-1726095	csasaaaaccAfGfAfagcggcaaaauL96	asdTsuudGcdCgcuudCuGfguuuuugscsa	UGCAAAAACCAGAAGCGGCAA AA
AD-1726096	asasaaaccaGfAfAfgcggcaaaauL96	asdTsuudTgdCcgcdTcUfgguuuuuusgsc	GCAAAAACCAGAAGCGGCAAA AG
AD-1726097	asasaaccagAfAfGfcggcaaaaguL96	asdCsuudTudGccgdTuCfugguuuuusug	CAAAAACCAGAAGCGGCAAAA GC
AD-1726098	asasaccagaAfGfCfggcaaaagcuL96	asdGscudTudTgccgdCuUfcugguuuususu	AAAACCAGAAGCGGCAAAAAG CA
AD-1726099	asasccagaaGfCfGfgcaaaagcauL96	asdTsgcdTudTugccdGcUfucugguuuususu	AAAACCAGAAGCGGCAAAAAG AG
AD-1726103	asgsaagcggCfAfAfaagcagguauL96	asdTsacdCudGcuudTgCfcgcuucusgsg	CCAGAAGCGGCAAAAAGCAGGU AC

AD-1726113	asasagcaggUfAfCfcugcucacguL96	asdCsgudGadGcaggdTacfcugcuuusug	CAAAAGCAGGUACCUGCUCAC GC
AD-1726159	csasagugcuGfCfCfcuggcugaauL96	asdTsucdAgdCcaggdGcAfgcacuugsasa	UUCAAGUGCUGCCCUGGCUGA AG
AD-1726171	usgsgcugaaGfGfAfgaaacuccauL96	asdTsggdAgdTuuudCcUfucagccasgsg	CCUGGCUGAAGGAGAAACUCC AA
AD-1726184	asascuccaaGfAfUfgaggauuuguL96	asdCsaadAudCcucadTcUfuggaguususc	GAAACUCCAAGAUGAGGAUUU GG
AD-1726187	uscscagauGfAfGfgauuuggguuL96	asdAsccdCadAuccdTcAfucuggasgsu	ACUCCAAGAUGAGGAUUUGGG UU
AD-1726189	csasagaugaGfGfAfuuggguuuuL96	asdAsaadCcdCaaudCcUfcaucuugsgsa	UCCAAGAUGAGGAUUUGGGUU UU
AD-1726191	asgsaugaggAfUfUfuggguuuucuL96	asdGsaadAadCcaadAuCfcucaucusug	CAAGAUGAGGAUUUGGGUUUU CU
AD-1726201	gsusgggauGfAfAfuaaaacagL96	asdCsugdTuTuaudTcAfauccacsgsc	GCGUGGGAUUGAAUAAAACA GC
AD-1726202	usgsggauugAfAfUfuaaaacagcuL96	asdGscudGudTuuaadTuCfauccascsg	CGUGGGAUUGAAUAAAACAG CU
AD-1726203	gsgsgauugaAfUfUfaaaacagcuL96	asdAsgcdTgdTuuaadAuUfcauccesasc	GUGGGAUUGAAUAAAACAGC UG
AD-1726206	asusugaauAfAfAfacagcugcgL96	asdCsgcdAgdCuguudTuAfaaucauscsc	GAUUGAAUAAAACAGCUGC GA
AD-1726207	ususgaauAfAfAfcagcugcgauL96	asdTscgdCadGcugudTuUfaaucaasusc	GAUUGAAUAAAACAGCUGC AC
AD-1726208	usgsaauuaAfAfCfagcugcgacuL96	asdGsucdGcdAgcugdTuUfuaauucasasu	AUUGAAUAAAACAGCUGCGA CA
AD-1726209	gsasauuaAfCfAfgcugcgacauL96	asdTsgudCgdCagcudGuUfuaauucsasa	UUGAAUAAAACAGCUGCGAC AA
AD-1726815	csusggcuUfcUfAfCfcguaccuuL96	asAfsgggUfacggguaGfaAfgccagsasa	UUCUGGCUUCUACCCGUACCCU G
AD-1726927	cscscuacUfaCfAfAfugugagugauL96	asUfscacUfcacauugUfaGfuaggsasg	CUCCCUACUACAAUGUGAGUG AU
AD-1726928	cscsuacuAfcAfAfUfgugagugauL96	asAfsucaCfucacauGfuAfguaggsasa	UCCCUACUACAAUGUGAGUGA UG

AD-1726931	ascsuacaAfuGfUfGfagugaugaguL96	asCfsucaUfcacucacAfuUfguagusasg	CUACUACAAUGUGAGUGAUGA GA
AD-1726934	ascsaaugUfgAfGfUfgaugagauL96	asGfsaucUfcaucacuCfaCfauugusasg	CUACAAUGUGAGUGAUGAGAU CU
AD-1726935	csasauguGfaGfUfGfagugauL96	asAfsgauCfcaucacUfcAfcauugsusa	UACAAUGUGAGUGAUGAGAUC UC
AD-1726936	asasugugAfgUfGfAfugagauL96	asGfsagaUfcucaucaCfuCfcauusgsu	ACAAUGUGAGUGAUGAGAUCU CU
AD-1726937	asusgugaGfuGfAfUfgagauL96	asAfsagAfucucaucAfcUfcacaususg	CAAUGUGAGUGAUGAGAUCUC UU
AD-1726938	usgsugagUfgAfUfGfagauL96	asAfsagaGfaucucaCfaCfucacasusu	AAUGUGAGUGAUGAGAUCUCU UU
AD-1726939	gsusgaguGfaUfGfAfgauL96	asAfsaagAfgaucucaUfcAfcucacsasu	AUGUGAGUGAUGAGAUCUCUU UC
AD-1726940	usgsagugAfuGfAfGfauL96	asGfsaaaGfagaucucAfuCfacucascsa	UGUGAGUGAUGAGAUCUCUUU CC
AD-1726941	gsasgugaUfgAfGfAfucuuL96	asGfsgaaAfgagauCfaUfcacucsasc	GUGAGUGAUGAGAUCUCUUUC CA
AD-1726942	asgsugauGfaGfAfUfcuuL96	asUfsggaAfgagauUfcAfucacuscsa	UGAGUGAUGAGAUCUCUUUCC AC
AD-1726944	usgsaugaGfaUfCfUfcuuL96	asAfsugGfaaagagaUfcUfcaucacsu	AGUGAUGAGAUCUCUUUCCAC UG
AD-1726952	uscsucuuUfcCfAfCfugauL96	asGfsucaUfagcagugGfaAfgagasusc	GAUCUCUUUCCACUGCUAUGA CG
AD-1726961	ascsugcuAfuGfAfCfguuL96	asAfsugUfaaccgucAfuAfgcagusgsg	CCACUGCUAUGACGGUUACAC UC
AD-1727012	csasgacaGfcGfAfUfcugauL96	asUfsuguCfacagauGfcUfgucugscsc	GGCAGACAGCGAUCUGUGACA AC
AD-1727059	csusugaaGfaCfAfGfcgucuuL96	asUfsaggUfgacgcugUfcUfcaagsgsc	GCCUUGAAGACAGCGUCACCU AC
AD-1727140	asasgacuCfcUfUfCfaguL96	asGfsucgUfacaugaaGfgAfgucuuusgsg	CCAAGACUCCUUCAUGUACGAC A
AD-1727142	gsascuccUfuCfAfUfguL96	asGfsuguCfguacaugAfaGfgagucsusu	AAGACUCCUUCAUGUACGACA CC

AD-1727181	asgsagacCfaUfAfGfaaggagucguL96	asCfsgacUfccuucuaUfgGfucucusgsu	ACAGAGACCAUAGAAGGAGUCGA
AD-1727183	asgsaccaUfaGfAfAfggagucgauL96	asAfsucgAfcuccuucUfaUfggucusc	AGAGACCAUAGAAGGAGUCGAUG
AD-1727184	gsasccauAfgAfAfGfgagucgauguL96	asCfsaucGfacuccuUcUfUfggucusc	GAGACCAUAGAAGGAGUCGAUGC
AD-1727249	usgsaacaUfcUfAfCfcuggugcuauL96	asUfsagcAfccagguaGfaUfguucasusg	CAUGAACAUUCUACCGUGGUGCUAG
AD-1727261	usgsgugcUfaGfAfUfggaucagacuL96	asGfsucuGfauccaucUfaGfcaccasgsg	CCUGGUGCUAGAUGGAUCAGACA
AD-1727263	gsusgcuaGfaUfGfGfaucagacaguL96	asCfsuguCfugaucuaUfcUfagcacscsa	UGGUGCUAGAUGGAUCAGACAGC
AD-1727275	csasacuuCfaCfAfGfgagccaaaauL96	asUfsuuUfgcuccugUfgAfaguugsu	AGCAACUUCACAGGAGCCAAA
AD-1727276	asascuucAfcAfGfGfagccaaaauL96	asUfsuuUfggucuccGfuGfaaguusgsc	GCAACUUCACAGGAGCCAAAAG
AD-1727278	csusucacAfgGfAfGfcaaaaaguL96	asAfsuuUfuuggcucCfuGfugaagsu	AACUUCACAGGAGCCAAAAGUG
AD-1727285	gsgsagccAfaAfAfAfgugucuaguL96	asAfsucaGfacacuuUfuGfgcuccusg	CAGGAGCCAAAAGUGUCUAGUC
AD-1727286	gsasgccaAfaAfAfGfugucuagucuL96	asGfsacuAfgacacuUfuUfggucusc	AGGAGCCAAAAGUGUCUAGUCA
AD-1727288	gscscaaaAfaGfUfGfucuaaguL96	asUfsugaCfuagacacUfuUfuuggcsusc	GAGCCAAAAGUGUCUAGUCAAC
AD-1727289	cscsaaaaAfgUfGfUfcuagucaacuL96	asGfsuugAfcuagacaCfuUfuuggscsu	AGCCAAAAGUGUCUAGUCAACU
AD-1727290	csasaaaaGfuGfUfCfuagucaacuL96	asAfsuuGfacuagacAfcUfuuuusgsc	GCCAAAAGUGUCUAGUCAACUU
AD-1727291	asasaaagUfgUfCfUfagucaacuuL96	asAfsaguUfgacuagaCfaCfuuuusgsg	CCAAAAGUGUCUAGUCAACUUA
AD-1727292	asasaaguGfuCfUfAfgucaacuauL96	asUfsaagUfugacuagAfcAfcuuuusg	CAAAAAGUGUCUAGUCAACUUA
AD-1727293	asasagugUfcUfAfGfucaacuauL96	asUfsuaaGfuagacuaGfaCfacuuusuu	AAAAAGUGUCUAGUCAACUUAU

AD-1727298	gsuscuagUfcAfAfCfuuaauugaguL96	asCfsucaAfuaaaguuGfaCfuagacsasc	GUGUCUAGUCAACUUAUUGA GA
AD-1727310	usasauugAfgAfAfGfguggcaaguuL96	asAfscuuGfccaccuuCfuCfaauuasasg	CUUAAUUGAGAAGGUGGCAAG UU
AD-1727318	asasggugGfcAfAfGfuuaugguguuL96	asAfscacCfauaacuuGfcCfaccuuscsu	AGAAGGUGGCAAGUUAUGGUG UG
AD-1727324	gscsaaguUfaUfGfGfugugaagccuL96	asGfsgcuUfcacaccaUfaAfcuugscsa	UGGCAAGUUAUGGUGUGAAGC CA
AD-1727331	asusggugUfgAfAfGfccaagauauuL96	asAfsuauCfuuggcuuCfaCfaccuasasa	UUAUGGUGUGAAGCCAAGAU UG
AD-1727358	asasaauUfgGfGfUfcaaagugucuL96	asGfsacaCfuugaccCfaAfauuuusgsg	CCAAAUUUGGGUCAAGUGU CU
AD-1727359	asasaauUfgGfGfUfcaaagugucuL96	asAfsuauCfuuggcuuCfaCfaccuasasa	CAAAAUUUGGGUCAAGUGU UG
AD-1727361	asusuuggGfuCfAfAfagugucugauL96	asUfscagAfcacuuugAfcCfcaaususu	AAAUUUGGGUCAAGUGUCUG AA
AD-1727392	gsusaugCfaGfAfCfuggucacguL96	asCfsgugAfccagucUfgCfauuacsusg	CAGUAAUGCAGACUGGGUCAC GA
AD-1727420	asasugaaAfuCfAfAfuaugaagauL96	asUfscuuCfauaauugAfuUfucuuusgsa	UCAAUGAAAUCAAUUAUGAAG AC
AD-1727427	uscsaauAfuGfAfAfaccacaaguL96	asCfsuugUfggucuucAfuAfaauugasusu	AAUCAAUUAUGAAGACCACAA GU
AD-1727428	csasaauUfgAfAfGfaccacaaguuL96	asAfscuuGfuggucuuCfaUfaauugsasu	AUCAAUUAUGAAGACCACAAG UU
AD-1727430	asusaugAfaGfAfCfacaaguuguL96	asCfsaacUfuggucUfuCfauaauusg	CAAUUAUGAAGACCACAAGUU GA
AD-1727431	ususaugaAfgAfCfCfacaaguugauL96	asUfscaaCfuugguUfuCfauaauusg	AAUUAUGAAGACCACAAGUUG AA
AD-1727432	usasugaaGfaCfCfAfaaguugaauL96	asUfsucaAfcuuggUfcUfucuuasasu	AUUAUGAAGACCACAAGUUGA AG
AD-1727433	asusgaagAfcCfAfCfaaguugaaguL96	asCfsuucAfacuugGfuCfuucasasa	UUAUGAAGACCACAAGUUGAA GU
AD-1727434	usgsaagaCfcAfCfAfaguugaaguL96	asAfscuuCfaacuuguGfgUfcuucasasa	UAUGAAGACCACAAGUUGAAG UC

AD-1727435	gsasagacCfaCfAfAfguugaagucuL96	asGfsacuUfcaacuugUfgGfucuucsasu	AUGAAGACCACAAGUUGAAGU CA
AD-1727436	asasgaccAfcAfAfGfuugaagucacuL96	asUfsgacUfucaacuuGfuGfgucuuksa	UGAAGACCACAAGUUGAAGUC AG
AD-1727441	csascaagUfuGfAfAfgucagggacuL96	asGfsuccCfugacuucAfaCfuugugsgsu	ACCACAAGUUGAAGUCAGGG AUCU
AD-1727442	ascsaaguUfgAfAfGfucagggacuL96	asAfsugacCfcugacuucCfaAfcuugugsg	CCACAAGUUGAAGUCAGGG ACUA
AD-1727481	asgsgcagUfgUfAfCfagcaugauguL96	asCfsaucAfugcuguaCfaCfugccusgsg	CCAGGCAGUGUACAGCAUG AUGA
AD-1727483	gscsagugUfaCfAfGfcaugaugaguL96	asCfsucaUfcaugcugUfaCfacugcscsu	AGGCAGUGUACAGCAUGA UGA
AD-1727565	gsasuggaUfuGfCfAfcaacauggguL96	asCfsccaUfguugugcAfaUfcaucsasg	CUGAUGGAUUGCACAACA AUGG GC
AD-1727566	asusggauUfgCfAfCfaacaugggcuL96	asGfscceAfuguugugCfaAfucaucscsa	UGAUGGAUUGCACAACA AUGGG CG
AD-1727568	gsgsauugCfaCfAfAfaugggcccguL96	asCfscgcCfcauguugUfgCfaauccsas	AUGGAUUGCACAACA AUGGG CG
AD-1727569	gsascccaAfuUfAfCfugucauugauL96	asUfscacUfgacaguaAfuUfgggucscsc	GGGACCCAAUUACUGUCA UUG AU
AD-1727570	ascscacUfuUfAfCfUfgucauugauL96	asAfsucaAfugacaguAfaUfugggucscsc	GGACCCAAUUACUGUCA UUG AU
AD-1727572	cscsaauUfCfUfGfUfcauugaugauL96	asUfscacUfcaugacaGfuAfaugggsgsu	ACCCAAUUACUGUCA UUG AU
AD-1727584	asusugauGfaGfAfUfccgggacuuuL96	asAfsaguCfccggauUfcAfucaausgsa	UCAUUGAUGAGAUC CGGGACU UG
AD-1727612	ususggcaAfgGfAfUfcgcaaaaacuL96	asGfsuuUfugcgaucCfuUfgccaasug	CAUUGGCAAGGAUCG CAAAAA CC
AD-1727633	csasagggAfgGfAfUfuauuggauuL96	asAfsuccAfgauaaucCfuCfcauugsgsg	CCCAAGGGAGGAUUAUC UGGA UG
AD-1727638	gsasggauUfaUfCfUfggaugucuauL96	asUfsagaCfaucagaUfaAfucaucscsc	GGGAGGAUUAUCUGGA UGUCU AU
AD-1727639	asgsgauUfuCfUfGfcaugucuauuL96	asAfsuagAfaucagAfuAfaucscsc	GGAGGAUUAUCUGGA UGUCU AU

AD-1727640	gsgsauuaUfcUfGfGfauaucuauguL96	asCfsauaGfacauccaGfaUfaauccsusc	GAGGAUUAUCUGGAUGUCUAU GU
AD-1727641	gsasuuauCfuGfGfAfugucuauguuL96	asAfscauAfgacauccAfgAfuauccscsu	AGGAUUAUCUGGAUGUCUAUG UG
AD-1727642	asusuaucUfgGfAfUfgucuauguguL96	asCfsacaUfagacaucCfaGfauaauscsc	GGAUUAUCUGGAUGUCUAUGU GU
AD-1727643	ususaucUfgGfAfUfGfucuauguguuL96	asAfscauAfuagacauCfcAfgauaasusc	GAUUAUCUGGAUGUCUAUGUG UU
AD-1727644	usasucugGfaUfGfUfcuauguguuuL96	asAfsacaCfauagacaUfcCfagauasasu	AUUAUCUGGAUGUCUAUGUGU UU
AD-1727645	asuscuggAfuGfUfCfuauguguuuuL96	asAfsaacAfcuaagacAfuCfcagausasa	UUAUCUGGAUGUCUAUGUGUU UG
AD-1727646	uscuggaUfgUfCfUfauguguuuuL96	asCfsaaaCfacaugaCfaUfccagasusa	UAUCUGGAUGUCUAUGUGUUU GG
AD-1727663	asascaaGfuGfAfAfcuaucuaugcuL96	asGfscuaUfgauguucAfcUfugguuscua	UGAACCAAGUGAACAUCAAUG CU
AD-1727664	ascsaagUfgAfAfCfaucaucuaugcuL96	asAfsagcaUfugauguuCfaCfuuggususc	GAACCAAGUGAACAUCAAUGC UU
AD-1727665	cscsaaguGfaAfCfAfuaucuaugcuuL96	asAfsagcaUfugauguuCfaCfuuggususc	AACCAAGUGAACAUCAAUGCU UU
AD-1727666	csasagugAfaCfAfUfcaucuaugcuuuL96	asAfsaagCfauugaugUfuCfauugsgsu	ACCAAGUGAACAUCAAUGCUU UG
AD-1727675	asuscaauGfcUfUfUfggcuuccaauL96	asUfsuggAfgccaaaGfcAfuugaugsu	ACAUCAAUGCUUUGGCUUCCA AG
AD-1727677	csasaugcUfuUfGfGfcuuccaagauL96	asUfscuuGfgaagccaAfaGfcuaugsu	AUCAAUGCUUUGGCUUCCAAG AA
AD-1727685	usgsgcuCfcAfAfGfaagacaauuL96	asAfsuugUfcuuucuuGfgAfgccasasa	UUUGGCUUCCAAGAAAGACAA UG
AD-1727689	ususcceaGfaAfAfGfacaugagcuL96	asGfscucAfuugucuuUfcUfuggaasgsc	GCUUCCAAGAAAGACAAUGAG CA
AD-1727690	uscscagAfaAfGfAfcaugagcauL96	asUfsgcuCfauugucuUfuCfuuggasag	CUUCCAAGAAAGACAAUGAGC AA
AD-1727693	asasgaaaGfaCfAfAfugagcaacauL96	asUfsguuGfcuaugUfcUfuucuuusgsg	CCAAGAAAGACAAUGAGCAAC AU

AD-1727696	asasagacAfaUfGfAfgcaacauguuL96	asAfscauGfuugcucaUfuGfucuuuscsu	AGAAAGACAAUGAGCAACAUGUG
AD-1727698	asgsacaaUfgAfGfCfaacauguguuL96	asAfscacAfuguugcuCfaUfugucususu	AAAGACAAUGAGCAACAUGUGUU
AD-1727699	gsascaauGfaGfCfAfacauguguuuL96	asAfsacaCfauguugcUfcAfuugucsusu	AAGACAAUGAGCAACAUGUGUUC
AD-1727700	ascsaaugAfgCfAfAfauguguuucL96	asGfsaacAfcauguugCfuCfauuguscsu	AGACAAUGAGCAACAUGUGUUCA
AD-1727701	csasaugaGfcAfAfCfauguguuucL96	asUfsgaaCfacauguuGfcUfcuugsusc	GACAAUGAGCAACAUGUGUUCAA
AD-1727703	asusgagcAfaCfAfUfguguucaaL96	asUfsuugAfacacaugUfuGfcucausug	CAAUGAGCAACAUGUGUUCAAAG
AD-1727705	gsasgcaaCfaUfGfUfguucaaaguL96	asAfsccuUfgaacacaUfgUfugcucasu	AUGAGCAACAUGUGUUCAAAGUC
AD-1727708	csasacauGfuGfUfUfcaaagucauL96	asUfsugaCfuugaacAfcAfuguugscsu	AGCAACAUGUGUUCAAAGUCAAG
AD-1727709	asascaugUfgUfUfCfaaagucaaguL96	asCfsuugAfcuuugaaCfaCfauguugsc	GCAACAUGUGUUCAAAGUCAAGG
AD-1727710	ascsauguGfuUfCfAfaagucaagguL96	asCfsccuGfacuuugaAfcAfaugusug	CAACAUGUGUUCAAAGUCAAGGA
AD-1727712	asusguguUfcAfAfAfgucaaggauuL96	asAfsuccUfugacuuGfaAfcacaugsu	ACAUGUGUUCAAAGUCAAGGAUA
AD-1727713	usgsuguuCfaAfAfGfucaaggauauL96	asUfsaucCfuugacuuUfgAfacacasug	CAUGUGUUCAAAGUCAAGGAUAU
AD-1727714	gsusguucAfaAfGfUfcaaggauauuL96	asAfsuauCfcuugacuUfuGfaacacsasu	AUGUGUUCAAAGUCAAGGAUAUG
AD-1727717	ususcaaaGfuCfAfAfggauauggauL96	asUfsccaUfauccuugAfcUfuugaasca	UGUUCAAAGUCAAGGAUAUGGAA
AD-1727718	uscsaaagUfcAfAfGfgauauggauL96	asUfsuccAfuauccuuGfaCfuugasasc	GUUCAAAAGUCAAGGAUAUGGAA
AD-1727821	usascgaUfuAfCfCfacaagcaacuL96	asGfsuugCfuugugguAfaUfcgguascsc	GGUACCGAUUACCACAAGCAAACC
AD-1727823	cscsgauuAfcCfAfCfaagcaaccuL96	asUfsgguUfgcuugugGfuAfaucggsusa	UACCGAUUACCACAAGCAACCAU

AD-1727826	asusuaccAfcAfAfGfcaaccaugguL96	asCfscauGfguugcuuGfuGfguaauscsg	CGAUUACCACAAGCAACCAUG GC
AD-1727829	ascscacaAfgCfAfAfccauggcaguL96	asCfsugcCfaugguugCfuUfguggusasa	UUACCACAAGCAACCAUGGCA GG
AD-1727883	usgsguguCfuGfAfGfuacuuuguguL96	asCfsacaAfaguacucAfgAfcaccascsa	UGUGGUGUCUGAGUACUUUGU GC
AD-1727977	gsasagcaGfgAfAfUfuccugaauuuL96	asAfsauuCfaggaauuCfcUfgcuucsusu	AAGAAGCAGGAAUUCCUGAAU UU
AD-1727978	asasgcagGfaAfUfUfccugaauuuuL96	asAfsauUfcaggaauUfcCfugcuuscsu	AGAAGCAGGAAUUCCUGAAU UU
AD-1727980	gscsaggaAfuUfCfCfugaauuuuuL96	asUfsaaaAfuucaggaAfuUfccugcsusu	AAGCAGGAAUUCCUGAAUUUU AU
AD-1727981	csasggaaUfuCfCfUfgaauuuuuL96	asAfsuaaAfaucaggAfaUfuccugscsu	AGCAGGAAUUCCUGAAUUUU UG
AD-1727984	gsasauucCfuGfAfAfuuuuauugacuL96	asGfsucaUfaaaauucAfgGfaauucscsu	AGGAAUUCCUGAAUUUUUAUG CU
AD-1727985	asasuuccUfgAfAfUfuuuauugacuuL96	asAfsugcAfuaaaauCfaGfgaauuscs	GGAAUUCCUGAAUUUUUAUG UA
AD-1727986	asusuccuGfaAfUfUfuauugacuauL96	asUfsaguCfauaaaUfcAfggaaususc	GAAUUCCUGAAUUUUUAUGAC AU
AD-1727987	ususccugAfaUfUfUfuauugacuauuL96	asAfsuagUfcuaaaaaUfuCfaggaasusu	AAUUCCUGAAUUUUUAUGAC UA
AD-1727989	cscsugaaUfuUfUfAfugacuauL96	asUfscauAfgucauaaAfaUfucaggsasa	UCCUGAAUUUUUAUGACUA AC
AD-1727990	csusgaauUfuUfAfUfgacuauL96	asGfsucaUfagucauaAfaAfuucagsgsa	UCCUGAAUUUUUAUGACUA AC
AD-1727992	gsasauuuUfaUfGfAfcuauugacguuL96	asAfsccuGfauagucaUfaAfaauucsasg	CUGAAUUUUUAUGACUAUG AC
AD-1727993	asasuuuuAfuGfAfCfuauugacguuuL96	asAfsacgUfcuauagucAfuAfaaauscsa	UGAAUUUUUAUGACUAUG AC
AD-1727994	asusuuuuUfgAfCfUfauugacguuguL96	asCfsaacGfucuauguCfaUfaaaususc	GAAUUUUUAUGACUAUG AC
AD-1727996	ususuauGafcUfAfUfgacguugccuL96	asGfsgcaAfcgucauaGfuCfaaaasasu	AUUUUUAUGACUAUG AC

AD-1727999	asusgacuAfuGfAfCfGuugcccuguL96	asCfsaggGfcaacgucAfuAfgucausasa	UUAUGACUAUGACGUUGCCCU GA
AD-1728049	csasgacuAfuCfAfGfgcccauuuguL96	asCfsaaaUfgggccugAfuAfgucugsgsc	GCCAGACUAUCAGGCCCAUUU GU
AD-1728050	asgsacuaUfcAfGfGfcccauuuguuL96	asAfscaaAfugggccuGfaUfagucugsg	CCAGACUAUCAGGCCCAUUUG UC
AD-1728061	csgsagggAfaCfAfAfcucgagcuuuL96	asAfsagcUfcgaguugUfuCfccucgsgsu	ACCGAGGGAACAACUCGAGCU UU
AD-1728062	gsasgggaAfcAfAfCfucgagcuuuuL96	asAfsaagCfucgaguGfuUfcccucsgsg	CCGAGGGAACAACUCGAGCUU UG
AD-1728067	asascaacUfcGfAfGfcuuugaggcuL96	asGfscuCfaaagcucGfaGfuuguuscsc	GGAACAACUCGAGCUUUGAGG CU
AD-1728085	gscsuuccUfcCfAfAfcuaccacuuuL96	asAfsaguGfguaguugGfaGfgaagcscsu	AGGCUUCCUCCAACUACCACUU G
AD-1728132	csusgcacAfgGfAfUfaucaaagcuuL96	asAfsagcuUfugauaucCfuGfucgagsgsg	CCUGCACAGGAUAUCAAGC UC
AD-1728137	csasggauAfuCfAfAfagcucuguuuL96	asAfsacaGfagcuuugAfuAfuccugsug	CACAGGAUAUCAAGCUCUGU UU
AD-1728140	gsasuaucAfaAfGfCfucuguuuuguuL96	asAfscaaAfcagagcuUfuGfauaucscsu	AGGAUAUCAAGCUCUGUUUG UG
AD-1728146	asasagcuCfuGfUfUfugugucugauL96	asUfscagAfcacaaacAfgAfgcuuusgsa	UCAAGCUCUGUUUGUGUCUG AG
AD-1728195	asasgaaaGfgCfAfGfcugugagaguL96	asCfsucuCfacagcugCfcUfuucuasasu	AUAAGAAAGGCAGCUGUGAGA GA
AD-1728204	asgscuguGfaGfAfGfagaucucauL96	asUfsgagCfaucucUfcAfcagcugsgsc	GCAGCUGUGAGAGAGAUGCUC AA
AD-1728206	csusgugaGfaGfAfGfaucucauuuL96	asAfsuugAfgcaucucUfcUfcacagscsu	AGCUGUGAGAGAGAUGCUCAA UA
AD-1728207	usgsugagAfgAfGfAfugcucauuauL96	asUfsauuGfagcaucuCfuCfucacagsgsc	GCUGUGAGAGAGAUGCUCAAU AU
AD-1728208	gsusgagaGfaGfAfUfgcucauuuuL96	asAfsuauUfgagcaucUfcUfcucacsag	CUGUGAGAGAGAUGCUCAAUA UG
AD-1728209	usgsagagAfgAfUfGfcucauuauuguL96	asCfsauaUfugagcauUfcUfcucacsca	UGUGAGAGAGAUGCUCAAUAU GC

AD-1728210	gsasgagaGfaUfGfCfucaauaugcuL96	asGfscauAfuugagcaUfcUfcucucsasc	GUGAGAGAGAUGCUCAAUAUG CC
AD-1728212	csasggcuAfuGfAfCfaaagucaaguL96	asCfsuugAfcuuugucAfuAfgccugsgsg	CCCAGGCUAUGACAAAGUCA AGG
AD-1728214	gsgscuauGfaCfAfAfagucaaggauL96	asUfscuUfgacuugUfcAfuagccsusg	CAGGCUAUGACAAAGUCAAG AC
AD-1728220	gsascaaaGfuCfAfAfggacaucucuL96	asGfsagaUfguccuugAfcUfuugucsasu	AUGACAAAGUCAAGGACAUC CA
AD-1728244	ususguacUfgGfAfGfgagugagucuL96	asGfsacuCfacuccucCfaGfuacaasag	CUUUGUACUGGAGGAGUGAG UCC
AD-1728258	asasuacuUfgCfAfGfaggugauucuL96	asGfsaauCfaccucugCfaAfguauusgsg	CCAUAUCUUGCAGAGGUGAU UCU
AD-1728260	usascuugCfaGfAfGfgugauucuguL96	asCfsagaAfuaccucUfgCfaaguasusu	AAUACUUGCAGAGGUGAUUC GG
AD-1728269	usgsauagUfuCfAfCfaagagaaguL96	asAfsuuCfucuugugAfaCfuaucasag	CUUGAUAGUUCACAAGAGAAG UC
AD-1728270	gsasuaguUfcAfCfAfagagaagucuL96	asGfsacuUfcucuuguGfaAfcuaucsasa	UUGAUAGUUCACAAGAGAAG UCG
AD-1728271	asusaguuCfaCfAfAfagagaagucguL96	asCfsgacUfucucuugUfgAfacuauscsa	UGAUAGUUCACAAGAGAAGUC GU
AD-1728272	usasguucAfcAfAfGfagaagucguuL96	asAfsccaCfuucucuGfuGfaacuasusc	GAUAGUUCACAAGAGAAGUCG UU
AD-1728273	agsuucaCfaAfGfAfgaagucguuuL96	asAfsacgAfcuucucuUfgUfgaacusasu	AUAGUUCACAAGAGAAGUCGU UU
AD-1728274	gsusucacAfaGfAfGfaagucguuuuL96	asAfsaacGfacuucucUfuGfugaacsusa	UAGUUCACAAGAGAAGUCGUU UC
AD-1728275	ususcacaAfgAfGfAfagucguuuuL96	asGfsaaaCfgacuucuCfuUfgugaascsu	AGUUCACAAGAGAAGUCGUUU CA
AD-1728276	uscsacaaGfaGfAfAfgucguuucauL96	asUfsgaaAfcgacuucUfcUfugugasasc	GUUCACAAGAGAAGUCGUUUC AU
AD-1728277	csascaagAfgAfAfGfucguuucauuL96	asAfsugaAfacgacuucfuCfuugugsasa	UUCACAAGAGAAGUCGUUUC AU
AD-1728278	ascsaagaGfaAfGfUfcguuucauuuL96	asAfsaugAfaacgacuUfcUfcuugusgsa	UCACAAGAGAAGUCGUUUC AU

AD-1728279	csasagagAfaGfUfCfguuucuuL96	asGfsaauGfaaacgacUfuCfucuuugsug	CACAAGAGAAGUCGUUUCAUUC CA
AD-1728280	asasgagaAfgUfCfGfuucuuL96	asUfsgaaUfgaaacgaCfuUfcucuugsu	ACAAGAGAAGUCGUUUCAUUC AA
AD-1728282	gsasgaagUfcGfUfUfcauucaaguL96	asCfsuugAfaugaaacGfaCfuucucsusu	AAGAGAAGUCGUUUCAUUCAA GU
AD-1728283	asgsaaguCfgUfUfUfcauucaaguL96	asAfsuuGfaaugaaacCfaCfuucucsusu	AGAGAAGUCGUUUCAUUCAAAG UU
AD-1728284	gsasagucGfuUfUfCfauucaaguL96	asAfsacuUfgaaugaaAfcGfacuucsusc	GAGAAGUCGUUUCAUUCAAAGU UG
AD-1728285	asasgucgUfuUfCfAfuucaaguL96	asCfsaacUfugaaugaAfaCfagacuucsusu	AGAAGUCGUUUCAUUCAAAGUU GG
AD-1728286	asgsucguUfuCfAfUfcauucaaguL96	asCfscaaCfuugaugAfaAfcgacususc	GAAGUCGUUUCAUUCAAAGUUG GU
AD-1728300	gsasguagUfgGfAfUfgucugcaaaL96	asUfsuugCfagacaucCfaCfuacucsusc	GGGAGUAGUGGAUGUCUGCAA AA
AD-1728301	asgsuaguGfgAfUfGfucugcaaaL96	asUfsuuUfagacaucCfaCfuacucsusc	GGAGUAGUGGAUGUCUGCAAAA AA
AD-1728302	gsusagugGfaUfGfUfcugcaaaaL96	asUfsuuUfagacaucCfaCfuacucsusc	GAGUAGUGGAUGUCUGCAAAA AC
AD-1728303	usasguggAfuGfUfCfugcaaaaL96	asGfsuuUfagacaucCfaCfuacucsusc	AGUAGUGGAUGUCUGCAAAAA CC
AD-1728307	gsgsauguCfuGfCfAfaaaaccagauL96	asUfscugGfuuuuugcAfgAfcuacsusc	GUGGAUGUCUGCAAAAACCAG AA
AD-1728308	gsasugucUfgCfAfAfaaaaccagauL96	asUfsucuGfuuuuugcCfaGfacuacsusc	UGGAUGUCUGCAAAAACCAGA AG
AD-1728311	gsuscugcAfaAfAfAfcagaagcgL96	asCfsgcuUfcugguuuUfuGfcagacsasu	AUGUCUGCAAAAACCAGAAGC GG
AD-1728312	uscsugcaAfaAfAfCfagaagcgL96	asCfscgcUfcugguuuUfuUfgcagacsusc	UGUCUGCAAAAACCAGAAGCG GC
AD-1728317	asasaaacCfaGfAfAfgcggcaaaL96	asUfsuuUfcccguucUfgGfuuuuugsusc	GCAAAAACCAGAAGCGGCAAAA AG
AD-1728318	asasaaccAfgAfAfGfcggcaaaL96	asCfsuuUfcccguucCfuGfuuuuugsusc	CAAAAACCAGAAGCGGCAAAA GC

AD-1728320	asascagAfaGfCfGfgcaaaagcauL96	asUfsgcuUfuugccgcUfuCfugguususu	AAAACCAGAAGCGGCAAAGCAG
AD-1728324	asgsaacGfgCfAfaagcagguauL96	asUfsaccUfgcuuuugCfcGfcuucusgsg	CCAGAAGCGGCAAAGCAGGUAC
AD-1728405	asascuccAfaGfAfUfgaggauuuguL96	asCfsaaaUfccucaucUfuGfgaguususc	GAAACUCCAAGAUGAGGAUUUGG
AD-1728408	uscscagAfuGfAfGfgauuuggguuL96	asAfscccAfauccucAfuCfuuggasgsu	ACUCCAAGAUGAGGAUUUGGGUU
AD-1728410	csasagauGfaGfGfAfuuggguuuuL96	asAfsaacCfcaauuccUfcAfucuuugsgsa	UCCAAGAUGAGGAUUUGGGUUUU
AD-1728412	asgsaugaGfgAfUfUfuggguuuucuL96	asGfsaaaAfcccaauCfcUfcaucusug	CAAGAUGAGGAUUUGGGUUUUUCU
AD-1728422	gsusgggaUfuGfAfAfuuaaacaguL96	asCfsuguUfuuaauucAfaUfccacsgsc	GCGUGGGAUUGAAUUAAAACAGC
AD-1728423	usgsggauUfgAfAfUfuuaaacagcuL96	asGfscugUfuuaauuCfaAfuccascsg	CGUGGGAUUGAAUUAAAACAGCU
AD-1728424	gsgsgauGfaAfUfUfaaacagcuuL96	asAfsagcuGfuuuuaauUfcAfauccsasc	GUGGGAUUGAAUUAAAACAGCUG
AD-1728427	asusugaaUfuAfAfAfacagcugcguL96	asCfsgcaGfcuguuuuAfaUfucauscsc	GGAUUGAAUUAAAACAGCUGCGA
AD-1728447	asasgggaAfuGfUfGfaccaggucuuL96	asAfsgadCc(Tgn)ggucacAfuUfccuuscsc	GGAAGGGAAUGUGACCAGGUCUA
AD-1728461	asgsgucuAfgGfUfCfuggaguuuuL96	asGfsaadAc(Tgn)ccagacCfuAfgaccusgsg	CCAGGUCUAGGUCUGGAGUUUCA
AD-1728470	uscsggaGfuUfUfCfagcuuggacuL96	asGfsucdCa(Agn)gcugaaAfcUfccagascsc	GGUCUGGAGUUUCAGCUUGGACA
AD-1728471	csusggagUfuUfCfAfgcuuggacauL96	asUfsgudCc(Agn)agcugaAfaCfuccagsasc	GUCUGGAGUUUCAGCUUGGACAC
AD-1728659	uscscuucUfgGfCfUfucuaaccguuL96	asAfsagdGg(Tgn)agaagcCfaGfaaggascsa	UGUCCUUCUGGCUUCUACCCGUA
AD-1728664	csusggcuUfcUfAfCfcguaccuuL96	asAfsagdGu(Agn)cgguuaGfaAfgccagsasa	UUCUGGCUUCUACCCGUACCCUG
AD-1728671	csusaccGfuAfCfCfcugucagauL96	asUfscudGc(Agn)cagguAfcGfgguagsasa	UUCUACCCGUACCCUGUGCAGAC

AD-1728685	usgscagaCfaCfGfUfaccugcagauL96	asUfscudGc(Agn)gguacgUfgUfcugcasc a	UGUGCAGACACGUACCUGCAG AU
AD-1728736	asasggcaGfaGfUfGfcagagcaauL96	asAfsuudGc(Tgn)cugcacUfcUfgccuusc c	GGAAGGCAGAGUGCAGAGCAA UC
AD-1728777	cscsuacuAfcAfAfUfgugagugauL96	asAfsucdAc(Tgn)cacauuGfuAfguaggs g a	UCCCUACUACAAUGUGAGUGA UG
AD-1728784	csasauguGfaGfUfGfaugagauL96	asAfsgadTc(Tgn)caucacUfcAfcuugs s a	UACAAUGUGAGUGAUGAGAUC UC
AD-1728786	asusgugaGfuGfAfUfgagaucuuL96	asAfsgadGa(Tgn)cucaucAfcUfcacaus g	CAAUGUGAGUGAUGAGAUCUC UU
AD-1728787	usgsugagUfgAfUfGfagaucuuL96	asAfsagdAg(Agn)ucucacUfcUfcacaus s u	AAUGUGAGUGAUGAGAUCUCU UU
AD-1728789	usgsagugAfuGfAfGfaucuuuuL96	asGfsaadAg(Agn)gaucucAfuCfacucasc s a	UGUGAGUGAUGAGAUCUCUUU CC
AD-1728793	usgsaugaGfaUfCfUfcuuuccacuuL96	asAfsgadGg(Agn)aagagaUfcUfcacasc s u	AGUGAUGAGAUCUCUUUCCAC UG
AD-1728801	uscscuuUfcCfAfCfugcuaugacuL96	asGfsucdAu(Agn)gcagugGfaAfagagas s c	GAUCUCUUUCCACUGCUAUGA CG
AD-1728802	csuscuuUfcCfAfCfUfcuaugacuL96	asCfsgadCa(Tgn)agcaguGfgAfaagags s a	AUCUCUUUCCACUGCUAUGAC GG
AD-1728810	ascsgcuAfuGfAfCfGfguuacacuuL96	asAfsgadGu(Agn)accgucAfuAfgcaguss s g	CCACUGCUAUGACGGUUACAC UC
AD-1728811	csusgcuAfuGfAfCfGfguuacacuuL96	asGfsagdTg(Tgn)aaccguCfaUfagcags s g	CACUGCUAUGACGGUUACACU CU
AD-1728827	uscsgcacCfuGfCfCfaagugaauL96	asCfsaudTc(Agn)cuuggcAfgGfugcgas s u	AAUCGCACCUGCCAAGUGAAU GG
AD-1728861	csasgacaGfcGfAfUfcugugacaauL96	asUfsugdTc(Agn)cagaucGfcUfgucgsc s c	GGCAGACAGCGAUCUGUGACA AC
AD-1728863	gsascagcGfaUfCfUfgugacaacguL96	asCfsgadTg(Tgn)cacagaUfcGfcugucsu s g	CAGACAGCGAUCUGUGACAAC GG
AD-1728877	usgsgcacAfaGfGfAfaggugggcauL96	asUfsgcdCc(Agn)ccuuccUfuGfugccas s u	AUUGGCACAAGGAAGGUGGGC AG
AD-1728909	ususgaagAfcAfGfCfugaccuacuL96	asGfsuadGg(Tgn)gacgcuGfuCfucaas s g	CCUUGAAGACAGCGUCACCUAC C

AD-1728990	asgsacucCfuUfCfAfuguacgacauL96	asUfsgudCg(Tgn)acaugaAfgGfagucusus g	CAAGACUCCUUCAUGUACGAC AC
AD-1728995	csasagagGfuGfGfCfcgaagcuuuuL96	asAfsaadGc(Tgn)ucggccAfcCfucuugsasg	CUCAAGAGGUGGCCGAAGCUU UC
AD-1729031	gsasgaccAfuAfGfAfaggagucgauL96	asUfscgdAc(Tgn)ccuucuAfuGfgucucus g	CAGAGACCAUAGAAGGAGUCG AU
AD-1729089	csasggcuCfcAfUfGfaacaucuacuL96	asGfsuadGa(Tgn)guucauGfgAfgccugsas a	UUCAGGCUCCAUGAACAUUCUA CC
AD-1729103	asuscuacCfuGfGfUfgcuagaugguL96	asCfscadTc(Tgn)agcaccAfgGfuagaugsu	ACAUCUACCUGGUGCUAGAUG GA
AD-1729105	csusaccuGfgUfGfCfuagauggauuL96	asAfsudcCa(Tgn)cuagcaCfcAfgguagsasu	AUCUACCUGGUGCUAGAUGGA UC
AD-1729106	usascugGfuGfCfUfagauggaucuL96	asGfsaudCc(Agn)ucuagcAfcCfagguasgs a	UCUACCUGGUGCUAGAUGGAU CA
AD-1729110	usgsgugcUfaGfAfUfggaucagacuL96	asGfsudcTg(Agn)uccaucUfaGfcaccasgsg	CCUGGUGCUAGAUGGAUCAGA CA
AD-1729112	gsusgcuaGfaUfGfGfaucagacaguL96	asCfsugdTc(Tgn)gauccaUfcUfagcacscsa	UGGUGCUAGAUGGAUCAGACA GC
AD-1729130	csascaggAfgCfCfAfaaaagugucuL96	asGfsacdAc(Tgn)uuuuggCfuCfcugugsas a	UUCACAGGAGCCAAAAAGUGU CU
AD-1729132	csasggagCfcAfAfAfaagugucuauL96	asUfsagdAc(Agn)cuuuuuGfgCfuccugsus g	CACAGGAGCCAAAAAGUGUCU AG
AD-1729134	gsgsagccAfaAfAfAfgugucuaguL96	asAfsudcAg(Agn)cacuuuUfuGfgcuccsus g	CAGGAGCCAAAAAGUGUCUAG UC
AD-1729136	asgscaaAfaAfGfUfgucuagucauL96	asUfsgadCu(Agn)gacacuUfuUfuggcusc c	GGAGCCAAAAAGUGUCUAGUC AA
AD-1729137	gscscaaaAfaGfUfGfucuagucauL96	asUfsugdAc(Tgn)agacacUfuUfuuggcsus c	GAGCCAAAAAGUGUCUAGUCA AC
AD-1729139	csasaaaaGfuGfUfCfuagucaacuL96	asAfsugdTg(Agn)cuagacAfcUfuuuugs c	GCCAAAAAGUGUCUAGUCAAC UU
AD-1729141	asasaaguGfuCfUfAfgucaacuauL96	asUfsaadGu(Tgn)gacuagAfcAfcuuuus g	CAAAAAGUGUCUAGUCAACU AA
AD-1729142	asasagugUfcUfAfGfucaacuuaauL96	asUfsuadAg(Tgn)ugacuaGfaCfacuuus u	AAAAAGUGUCUAGUCAACU AU

AD-1729151	asgsucaaCfuUfAfAfuugagaagguL96	asCfscudTc(Tgn)caauuaAfgUfugacusasg	CUAGUCAACUAAUUGAGAAG GU
AD-1729180	asusggugUfgAfAfGfccaagauauuL96	asAfsuadTc(Tgn)uggcuuCfaCfaccasasa	UUAUGGUGUGAAGCCAAGAU UG
AD-1729207	asasaauUfgGfGfUfcaaagugucuL96	asGfsacdAc(Tgn)uugaccCfaAfauuusgs g	CCAAAUUUGGGUCAAGUGU CU
AD-1729242	usasaugcAfgAfCfUfgggucacgauL96	asUfscgdTg(Agn)cccaguCfuGfcauuascsu	AGUAAUGCAGACUGGGUCACG AA
AD-1729269	asasugaaAfuCfAfAfuuaugaagauL96	asUfscudTc(Agn)uaauugAfuUfcauuusgs a	UCA AUGAAAUCAAUUAUGAAG AC
AD-1729271	usgsaaauCfaAfUfUfaugaagaccuL96	asGfsgudCu(Tgn)cauauUfgAfuucasus u	AAUGAAAUCAAUUAUGAAGAC CA
AD-1729274	asasucaaUfuAfUfGfaagaccacauL96	asUfsgudGg(Tgn)cuucauAfaUfugauusus c	GAAAUCAAUUUGAAGACCAC AA
AD-1729277	csasauuaUfgAfAfGfaccacaaguuL96	asAfscudTg(Tgn)ggucuuCfaUfaauugsas u	AUCAAUUAUGAAGACCACAAG UU
AD-1729280	ususaugaAfgAfCfCfacaaguugauL96	asUfscadAc(Tgn)ugugguCfuUfcauaasus u	AAUUAUGAAGACCACAAGUUG AA
AD-1729285	asasgaccAfcAfAfGfuugaagucacuL96	asUfsgadCu(Tgn)caacuuGfuGfgucuuuscs a	UGAAGACCACAAGUUGAAGUC AG
AD-1729288	ascscacaAfgUfUfGfaagucagggguL96	asCfscd Tg(Agn)cuucauAfuUfgugguscs u	AGACCACAAGUUGAAGUCAGG GA
AD-1729290	csascaagUfuGfAfAfGfucagggacuL96	asGfsucdCc(Tgn)gacuucAfaCfuugugsgs u	ACCACAAGUUGAAGUCAGGGA CU
AD-1729296	ususgaagUfcAfGfGfgacuacacacuL96	asGfsugdTu(Agn)guccuGfaCfuucaascs u	AGUUGAAGUCAGGGACUAACA CC
AD-1729297	usgsaaguCfaGfGfGfacuacaccuL96	asGfsgudGu(Tgn)aguccUfgAfcuucasas c	GUUGAAGUCAGGGACUAACAC CA
AD-1729300	asgsucagGfgAfCfUfaacaccaaguuL96	asCfsuudGg(Tgn)guuaguCfcCfugacus c	GAAGUCAGGGACUAACACCAA GA
AD-1729413	usgsauggAfuUfGfCfacaacaugguL96	asCfscadTg(Tgn)ugugcaAfuCfcaucasgsu	ACUGAUGGAUUGCACAACAUG GG
AD-1729461	ususggcaAfgGfAfUfcgcaaaaacuL96	asGfsuudTu(Tgn)gcgaucCfuUfgccaasusg	CAUUGGCAAGGAUCGCAAAAA CC

AD-1729462	usgsgcaaGfgAfUfCfcaaaaaccuL96	asGfsgudTu(Tgn)ugcgauCfcUfugccasasu	AUUGGCAAGGAUCGCAAAAAC CC
AD-1729463	gsgscaagGfaUfCfGfcaaaaaccuL96	asGfsggdTu(Tgn)uugcgaUfcCfuugccsasa	UUGGCAAGGAUCGCAAAAACC CA
AD-1729487	gsasggauUfaUfCfUfggaugucuauL96	asUfsagdAc(Agn)uccagaUfaAfuccucscsc	GGGAGGAUUAUCUGGAUGUCU AU
AD-1729514	cscsaaguGfaAfCfAfucaaugcuuuL96	asAfsagdCa(Tgn)ugauguUfcAfcuuggsus u	AACCAAGUGAACAUCA AUGCU UU
AD-1729515	csasagugAfaCfAfUfcaaugcuuuuL96	asAfsaadGc(Agn)uugaugUfuCfacuugsgs u	ACCAAGUGAACAUCA AUGCUU UG
AD-1729524	asuscaauGfcUfUfUfggcuuccaauL96	asUfsugdGa(Agn)gcaaaaGfcAfuugausgs u	ACAUCA AUGCUUUGGCUUCCA AG
AD-1729525	uscсааугCfuUfUfGfgcuuccaагуL96	asCfsuudGg(Agn)agccaaAfgCfauugasus g	CAUCA AUGCUUUGGCUUCCAA GA
AD-1729538	ususccaaGfaAfAfGfacaaugagcuL96	asGfscudCa(Tgn)ugucuuUfcUfuggaasgs c	GCUUCCAAGAAAGACAAUGAG CA
AD-1729539	uscсааугAfaAfGfAfaаугаgcauL96	asUfsgcdTc(Agn)uugucuUfuCfuuggasas g	CUUCCAAGAAAGACAAUGAGC AA
AD-1729541	csasagaaAfgAfCfAfaugagcaacuL96	asGfsuudGc(Tgn)cauuguCfuUfucuuugsgs a	UCCAAGAAAGACAAUGAGCAA CA
AD-1729545	asasagacAfaUfGfAfgcaacauguuL96	asAfsacdTg(Tgn)ugcucaUfuGfucuuuscs u	AGAAAGACAAUGAGCAACAUG UG
AD-1729548	gsascaauGfaGfCfAfaauguguuuL96	asAfsacdAc(Agn)uguugcUfcAfuugucsus u	AAGACAAUGAGCAACAUGUGU UC
AD-1729550	csasaugaGfcAfAfCfauguguucauL96	asUfsgadAc(Agn)cauguuGfcUfcuuugsus c	GACAAUGAGCAACAUGUGUUC AA
AD-1729552	asusgagcAfaCfAfUfguguucaaaL96	asUfsuudGa(Agn)cacaugUfuGfcucaus g	CAAUGAGCAACAUGUGUUCAA AG
AD-1729555	asgscaacAfuGfUfGfuucaaaagucuL96	asGfsacdTu(Tgn)gaacacAfuGfuugcuscса	UGAGCAACAUGUGUUCAAAGU CA
AD-1729557	csasacauGfuGfUfUfcaagucaauL96	asUfsugdAc(Tgn)uugaacAfcAfuguugscs u	AGCAACAUGUGUUCAAAGUCA AG
AD-1729559	ascсааугуGfuUfCfAfaаугааgguL96	asCfscudTg(Agn)cuuugaAfcAfaugus g	CAACAUGUGUUCAAAGUCAAG GA

AD-1729561	asusguguUfcAfAfAfgucaaggauuL96	asAfsucdCu(Tgn)gacuuuGfaAfcacausgs u	ACAUGUGUUCAAAGUCAAGGA UA
AD-1729562	usgsuguuCfaAfAfGfucaaggauauL96	asUfsaudCc(Tgn)ugacuuUfgAfacacasusg	CAUGUGUUCAAAGUCAAGGAU AU
AD-1729567	uscsaaagUfcAfAfGfgauauggaauL96	asUfsucdCa(Tgn)auccuuGfaCfuugasasc	GUUCAAAAGUCAAGGAUAUGGA AA
AD-1729568	csasaaguCfaAfGfGfauauggaaauL96	asUfsuudCc(Agn)uauccuUfgAfcuuugsas a	UUCAAAAGUCAAGGAUAUGGAA AA
AD-1729619	usgsaaagCfcAfGfUfcucugagucuL96	asGfsacdTc(Agn)gagacuGfgCfuucasusc	GAUGAAAGCCAGUCUCUGAGU CU
AD-1729643	usgsgcauGfgUfUfUfgggaacacauL96	asUfsgudGu(Tgn)cccaaCfcAfugccascsa	UGUGGCAUGGUUUGGGAACAC AG
AD-1729667	gsgsguacCfgAfUfUfaccacaagcuL96	asGfscudTg(Tgn)gguaauCfgGfuaccsusu	AAGGGUACCGAUUACCACAAG CA
AD-1729670	usasccgaUfuAfCfCfacaagcaacuL96	asGfsuudGc(Tgn)ugugguAfaUfcgguasc c	GGUACCGAUUACCACAAGCAA CC
AD-1729673	csgsauuaCfcAfCfAfagcaaccauuL96	asAfsugdGu(Tgn)gcuuguGfgUfaaucgsgs u	ACCGAUUACCACAAGCAACCAU G
AD-1729677	usasccacAfaGfCfAfaccauggcauL96	asUfsgcdCa(Tgn)gguugcUfuGfugguasas u	AUUACCACAAGCAACCAUGGC AG
AD-1729688	ascscaugGfcAfGfGfccaagaucuuL96	asAfsgadTc(Tgn)uggccuGfcCfauggusus g	CAACCAUGGCAGGCCAAGAUC UC
AD-1729690	csasuggcAfgGfCfCfaagaucuauL96	asUfsgadGa(Tgn)cuuggcCfuGfccaugsgs u	ACCAUGGCAGGCCAAGAUCUC AG
AD-1729729	csusguggUfgUfCfUfgaguacuuuuL96	asAfsaadGu(Agn)cucagaCfaCfcacagscsc	GGCUGUGGUGUCUGAGUACUU UG
AD-1729802	asgscgggAfcCfUfGfgagauagaauL96	asUfsucdTc(Tgn)cuccagGfuCfccgcususc	GAAGCGGGACCUGGAGAUAGA AG
AD-1729841	gsasagcaGfgAfAfUfuccugaauuuL96	asAfsaudTc(Agn)ggaauuCfcUfgcuucsus u	AAGAAGCAGGAAUUCUGAAU UU
AD-1729849	asasuuccUfgAfAfUfuuuuagacuuL96	asAfsugdCa(Tgn)aaaauCfaGfgaaususc	GGAAUUCUGAAUUUUUAUGAC UA
AD-1729850	asusuccuGfaAfUfUfuuuuagacuauL96	asUfsagdTc(Agn)uaaaauUfcAfggaaususc	GAAUUCUGAAUUUUUAUGACU AU

AD-1729852	uscscugaAfuUfUfUfaugacuauL96	asCfsaudAg(Tgn)cauaaaAfuUfcaggasasu	AUUCCUGAAUUUUAUGACUAU GA
AD-1729854	csusgaauUfuUfAfUfgacuauL96	asGfsucdAu(Agn)gucauaAfaAfuucagsgs a	UCCUGAAUUUUAUGACUAUGA CG
AD-1729856	gsasauuuUfaUfGfAfcuauL96	asAfsdgdTc(Agn)uagucaUfaAfaauucsasg	CUGAAUUUUAUGACUAUGACG UU
AD-1729861	ususaugaCfuAfUfGfagcuuL96	asGfsggdCa(Agn)cgucAuAfgUfcuauasas a	UUUUAUGACUAUGACGUUGCC CU
AD-1729862	usasugacUfaUfGfAfcuauL96	asAfsdgdGc(Agn)acgucaUfaGfucuaasas a	UUUAUGACUAUGACGUUGCCC UG
AD-1729869	asusgacgUfuGfCfCfugaucauL96	asCfsuudGa(Tgn)cagggcAfaCfugucuasg	CUAUGACGUUGCCCUGAUCAA GC
AD-1729870	usgsacguUfgCfCfCfugaucauL96	asGfscudTg(Agn)ucagggCfaAfcgucasus a	UAUGACGUUGCCCUGAUCAAG CU
AD-1729872	ascsguugCfcCfUfGfaucauL96	asGfsagdCu(Tgn)gucagGfgCfaacguscsa	UGACGUUGCCCUGAUCAAGCU CA
AD-1729926	gsasgggaAfcAfAfCfugagcuuuL96	asAfsaadGc(Tgn)cgaguuGfuUfccucsgs g	CCGAGGGAACAACUCGAGCUU UG
AD-1729933	csasacucGfaGfCfUfuugagcuuuL96	asAfsagdCc(Tgn)caaagcUfcGfaguugsusu	AACAACUCGAGCUUUGAGGCU UC
AD-1729941	gscsuuugAfgGfCfUfuccucaacuL96	asGfsuudGg(Agn)ggaagcCfuCfaaagesus c	GAGCUUUGAGGCUUCCUCCAA CU
AD-1729947	asgsgcuuCfcUfCfCfaacuaccacuL96	asGfsugdGu(Agn)guuggaGfgAfagccuscs a	UGAGGCUUCCUCCAACUACCAC U
AD-1729951	ususccucCfaAfCfUfaccacuugcuL96	asGfscadAg(Tgn)gguaguUfgGfaggaasgs c	GCUUCCUCCAACUACCACUUGC C
AD-1729992	csuscccuGfcAfCfAfggauaucauL96	asUfsugdAu(Agn)uccuguGfcAfgggagscs a	UGCUCUCCUGCACAGGAUAUCA AA
AD-1729993	uscscugCfaCfAfGfgauaucaauL96	asUfsuudGa(Tgn)auccugUfgCfagggasgs c	GCUUCCUGCACAGGAUAUCA AG
AD-1729994	csccugcAfcAfGfGfauaucaauL96	asCfsuudTg(Agn)uauccuGfuGfcagggasg g	CUUCCUGCACAGGAUAUCAAA GC
AD-1729996	csusgcacAfgGfAfUfaucauL96	asAfsdgdTu(Tgn)gauaucCfuGfugcagsgs g	CCCUGCACAGGAUAUCAAAAGC UC

AD-1730001	csasggauAfuCfAfAfagcucuguuuL96	asAfsacdAg(Agn)gcuuugAfuAfuccugsusg	CACAGGAUAUCAAAGCUCUGUUU
AD-1730042	gscsugacUfcGfGfAfaggaggucuuL96	asAfsgadCc(Tgn)ccuuccGfaGfucagcsusu	AAGCUGACUCGGAAGGAGGUCUA
AD-1730048	uscsggaaGfgAfGfGfucuaacauL96	asUfsgadTg(Tgn)agaccuCfcUfuccgasgsu	ACUCGGAAGGAGGUCUACAUCAA
AD-1730053	asgsgaggUfcUfAfCfaucaagaauuL96	asAfsuudCu(Tgn)gauguaGfaCfcuccususc	GAAGGAGGUCUACAUCAAGAAUG
AD-1730059	asasgaaaGfgCfAfGfcugugagaguL96	asCfsudTc(Agn)cagcugCfcUfuucuasasu	AUAAGAAAGGCAGCUGUGAGA GA
AD-1730068	asgscuguGfaGfAfGfagaucucauL96	asUfsgadGc(Agn)ucucucUfcAfcagcsusc	GCAGCUGUGAGAGAGAUGCUCAA
AD-1730071	usgsugagAfgAfGfAfugcucaauuL96	asUfsaudTg(Agn)gcaucuCfuCfucacasc	GCUGUGAGAGAGAUGCUCAAU AU
AD-1730077	asgsgcuaUfgAfCfAfaagucaagguL96	asCfscudTg(Agn)cuuuguCfaUfagccusgs	CCAGGCUAUGACAAAGUCAAG GA
AD-1730103	ususccuuUfgUfAfCfuggaggaguuL96	asAfsudCc(Tgn)ccaguaCfaAfaggaascsc	GGUCCUUUGUACUGGAGGAGUG
AD-1730108	ususguacUfgGfAfGfagugagucuL96	asGfsacdTc(Agn)cuccucCfaGfuacaasag	CUUUGUACUGGAGGAGUGAGUCC
AD-1730110	gsusacugGfaGfGfAfugaguccuL96	asGfsggdAc(Tgn)cacuccUfcCfaguacsasa	UUGUACUGGAGGAGUGAGUCC CU
AD-1730112	ascsuggaGfgAfGfUfgaguccuauL96	asUfsagdGg(Agn)cucacuCfcUfccagusasc	GUACUGGAGGAGUGAGUCCU AU
AD-1730118	gsgsagugAfgUfCfCfuaugcugauL96	asUfscadGc(Agn)uagggaCfuCfacuccsusc	GAGGAGUGAGUCCCUAUGCUG AC
AD-1730122	asasuacuUfgCfAfGfaggugauucuL96	asGfsaadTc(Agn)ccucugCfaAfguauusgs	CCAAUACUUGCAGAGGUGAUU CU
AD-1730133	usgsauagUfuCfAfCfaagagaaguuL96	asAfsudTc(Tgn)cuugugAfaCfuucasasg	CUUGAUAGUUCACAAGAGAAG UC
AD-1730143	csasagagAfaGfUfCfuuucauucuL96	asGfsaadTg(Agn)aacgacUfuCfucuuusgs	CACAAGAGAAGUCGUUUCAUUC A
AD-1730164	gsasguagUfgGfAfUfgucugcaauL96	asUfsuudGc(Agn)gacaucCfaCfuacuscsc	GGGAGUAGUGGAUGUCUGCAA AA

AD-1730167	usasguggAfuGfUfCfugcaaaaacuL96	asGfsuudTu(Tgn)gcagacAfuCfcacuascu	AGUAGUGGAUGUCUGCAAAAA CC
AD-1730168	asgsuggaUfgUfCfUfgcaaaaaccuL96	asGfsgudTu(Tgn)ugcagaCfaUfccacusasc	GUAGUGGAUGUCUGCAAAAA CA
AD-1730169	gsusggauGfuCfUfGfcaaaaaccuL96	asUfsggdTu(Tgn)uugcagAfcAfuccacsusa	UAGUGGAUGUCUGCAAAAA ACCAG
AD-1730171	gsgsauGfuCfGfAfaaaaccagauL96	asUfscudGg(Tgn)uuuugcAfgAfcuaccsasc	GUGGAUGUCUGCAAAAA ACCAGAA
AD-1730183	asasaccaGfaAfGfCfGfgcaaaagcuL96	asGfscudTu(Tgn)gccgcuUfcUfgguuusuu	AAAAACCAGAAGCGGCAAA AGCA
AD-1730184	asasccagAfaGfCfGfgcaaaagcauL96	asUfsgcdTu(Tgn)ugccgcUfuCfugguusuu	AAAACCAGAAGCGGCAAA AGCAG
AD-1730256	usgsgcugAfaGfGfAfgaaacuccauL96	asUfsggdAg(Tgn)uucuccUfuCfagccasgsg	CCUGGCUGAAGGAGAAAC UCCAA
AD-1730287	usgsggauUfgAfAfUfuaaaacagcuL96	asGfscudGu(Tgn)uuuauuUfcAfucccasgsg	CGUGGGAUUGAAUUA AAAACAGCU
AD-1730288	gsgsgauuGfaAfUfUfaaaacagcuuL96	asAfsgcdTg(Tgn)uuuauuUfcAfaucccsasc	GUGGGAUUGAAUUA AAAACAGCUG
AD-1730293	usgsaauuAfaAfAfCfagcugcgacuL96	asGfsucdGc(Agn)gcuguuUfuAfaucscasasc	AUUGAAUUA AAAACAGCUGCGACA
AD-1730476	asasuuaaAfaCfAfGfcugcgacaauL96	asUfsuguCfGcagcugUfuUfuaauuscsa	UGAAUUA AAAACAGCUGCGACA AC
AD-1730477	asasuuaaaaCfAfGfcugcgacaauL96	asdTsugdTcdGcagcdTgUfuuuuauuscsa	UGAAUUA AAAACAGCUGCGACA AC
AD-1730478	asusuuaaacAfGfCfugcgacaacuL96	asdGsuudGudCgcagdCuGfuuuuauuscsa	GAAUUA AAAACAGCUGCGACA CA

Пример 2. Способы скрининга *in vitro*

Культивирование и трансфекции клеток:

Анализы трансфекции проводили для первичных гепатоцитов человека (РНН, BioIVT). Трансфекции проводили посредством добавления 5 мкл Opti-MEM плюс 0,1 мкл липофектамина RNAiMax на лунку (Invitrogen, Carlsbad CA. кат. # 13778-150) к 5 мкл дуплексов миРНК на лунку в 384-луночной планшете и инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. 40 мкл сред Invitrogro CP (BioIVT, кат. # Z99029), содержащих $\sim 10 \times 10^3$ клеток, затем добавляли к смеси миРНК. Клетки инкубировали в течение 24 часов до очистки РНК. Эксперименты проводили при 10нМ, 1нМ и 0,1нМ.

Выделение тотальной РНК с использованием набора для выделения мРНК DYNABEADS:

РНК выделяли с использованием интегрированной системы Highres Biosolution, с использованием набора для очистки мРНК Dynabeads™ DIRECT™ (Invitrogen™, каталожный No. 61012). Кратко, 70 мкл буфера для лизиса/связывания и 10 мкл буфера для лизиса, содержащего 3 мкл магнитных бусин, добавляли в планшет с клетками. Планшеты инкубировали в электромагнитном встряхивателе в течение 10 минут при комнатной температуре и затем магнитные бусины связывали, и супернатант удаляли. Связанную с бусинами РНК затем промывали 2 раза с использованием 90 мкл буфера для промывки А и один раз с использованием 90 мкл буфера для промывки В. Бусины затем промывали с использованием 90 мкл буфера для элюции, повторно связывали, и супернатант удаляли. Комплементарную ДНК (кДНК) синтезировали с использованием высокопроизводительного набора для обратной транскрипции кДНК с ингибитором РНКазы (Applied Biosystems™, каталожный No. 4374967), в соответствии с рекомендациями производителя. Готовую реакционную смесь, содержащую 1 мкл 10X буфера, 0,4 мкл 25X дезоксирибонуклеотидтрифосфатов, 1 мкл 10X случайных праймеров, 0,5 мкл обратной транскриптазы, 0,5 мкл ингибитора РНКазы и 6,6 мкл H₂O на реакцию, добавляли к РНК, выделенной выше. Планшеты герметично закрывали, перемешивали и инкубировали в электромагнитном встряхивателе в течение 10 минут при комнатной температуре, с последующей инкубацией 2 часа при 37°C.

Уровни мРНК CFB количественно оценивали посредством проведения анализа RT-qПЦР. 2 мкл кДНК добавляли к готовой реакционной смеси, содержащей 0,5 мкл зонда TaqMan GAPDH человека или яванского макака, 0,5 мкл зонда CFB человека или яванского макака (Hs00156060_m1) и 5 мкл готовой реакционной смеси для зондов Lightcycler 480 (Roche кат. # 04887301001) на лунку в 384-луночных планшетах. ПЦР с детекцией в реальном времени проводили в системе для ПЦР с детекцией в реальном времени LightCycler480 (Roche). Для расчета относительной кратности изменения, данные детекции в реальном времени анализировали с использованием способа дельта-дельта порогового цикла (относительной количественной оценки) ($\Delta\Delta C_q[RO]$) [Schmittgen and Livak 2008] и нормализовали по контрольным анализам, проведенным с использованием клеток, трансфицированных PBS. Для всех образцов, уровни мРНК CFB сначала нормализовали по

GAPDH в качестве эталонного гена. Данные выражали как процент мРНК CFB, оставшийся относительно среднего для контроля с PBS, и ошибку выражали как стандартное отклонение (SD), выведенное из 4 повторов трансфекций.

Результаты скринингов после трансфекции однократной дозой в клетках РНН для средств на основе дцРНК в таблицах 2 и 3 показаны в **таблице 4**.

Таблица 4. Скрининги *in vitro* для однократной дозы в первичных гепатоцитах человека

Наименование дуплекса	10 нМ Среднее оставшейся мРНК(%)	10нМ СТ. ОТКЛ.	1 нМ Среднее оставшейся мРНК(%)	1нМ СТ. ОТКЛ.	0,1 нМ Среднее оставшейся мРНК(%)	0,1нМ СТ. ОТКЛ.
AD-1728447.1	14	4	13	4	21	3
AD-1724362.1	17	10	13	3	20	4
AD-1724363.1	19	6	26	7	25	1
AD-1724364.1	16	5	19	1	15	4
AD-1724365.1	38	13	47	8	36	4
AD-1724369.1	23	7	27	7	30	9
AD-1724370.1	25	7	48	5	48	8
AD-1724376.1	20	4	19	3	23	6
AD-1728461.1	22	5	28	3	37	5
AD-1724384.1	69	7	52	9	78	14
AD-1728470.1	42	11	43	10	71	12
AD-1724385.1	47	7	66	6	63	9
AD-1728471.1	30	1	40	7	37	10
AD-1724386.1	37	3	49	6	69	15
AD-1724530.1	14	1	30	6	30	5
AD-1724572.1	31	5	62	8	75	18
AD-1728659.1	26	5	36	6	45	9
AD-1724574.1	13	3	16	0	16	4
AD-1724575.1	17	1	32	5	31	6
AD-1724576.1	11	1	15	1	18	3
AD-1724579.1	21	2	21	2	34	7
AD-1728664.1	76	2	85	10	95	9
AD-1726815.1	55	5	67	6	79	9
AD-1728671.1	55	5	60	9	84	8
AD-1724586.1	27	2	41	8	52	4
AD-1728685.1	60	8	66	8	76	11
AD-1724600.1	21	4	32	5	34	5
AD-1728736.1	12	2	17	4	13	2
AD-1724651.1	8	1	11	1	10	2
AD-1724653.1	13	2	17	3	21	6
AD-1724685.1	15	2	33	2	27	3
AD-1726927.1	12	2	22	3	29	5
AD-1724691.1	13	1	17	2	21	2
AD-1728777.1	25	8	50	7	44	6

AD-1726928.1	20	3	32	2	39	4
AD-1724692.1	9	1	16	2	14	3
AD-1724693.1	8	1	11	1	14	2
AD-1726931.1	56	5	61	5	75	3
AD-1724695.1	12	2	24	4	21	1
AD-1726934.1	25	3	28	10	49	6
AD-1724698.1	18	2	21	1	25	2
AD-1728784.1	7	1	12	2	10	1
AD-1726935.1	9	2	10	2	13	2
AD-1724699.1	6	1	9	1	6	1
AD-1726936.1	6	2	10	2	12	3
AD-1724700.1	8	1	13	2	10	2
AD-1728786.1	9	1	14	4	12	2
AD-1726937.1	7	1	10	1	9	2
AD-1724701.1	9	2	12	1	8	1
AD-1728787.1	54	8	62	7	69	11
AD-1726938.1	12	3	17	3	18	5
AD-1724702.1	6	1	12	3	9	2
AD-1726939.1	4	1	8	1	9	1
AD-1724703.1	7	1	12	3	12	2
AD-1728789.1	12	2	19	3	22	5
AD-1726940.1	10	1	14	4	15	2
AD-1724704.1	8	1	11	2	10	1
AD-1726941.1	14	1	23	8	27	6
AD-1724705.1	13	2	19	6	20	4
AD-1724706.1	3	1	10	2	9	1
AD-1726942.1	7	1	11	3	10	2
AD-1724707.1	10	1	25	2	20	3
AD-1728793.1	14	2	21	8	22	5
AD-1724708.1	10	1	11	1	12	1
AD-1724714.1	12	2	19	5	25	5
AD-1724715.1	10	2	16	5	14	3
AD-1728801.1	6	1	15	8	38	2
AD-1726952.1	12	4	10	3	34	9
AD-1724716.1	15	2	18	3	26	5
AD-1728802.1	52	9	79	13	86	16
AD-1724717.1	31	7	45	9	74	23
AD-1724718.1	8	1	14	3	16	2
AD-1726961.1	6	0	20	3	20	3
AD-1724725.1	5	3	15	2	17	2
AD-1728810.1	59	15	46	11	46	17
AD-1728811.1	35	12	46	4	58	11
AD-1724726.1	20	8	36	7	40	15
AD-1724730.1	16	4	23	7	27	5
AD-1724731.1	31	9	53	10	77	16
AD-1724741.1	42	8	52	9	64	23

AD-1724742.1	14	4	22	7	22	5
AD-1728827.1	31	10	43	3	51	8
AD-1724743.1	23	10	23	5	60	18
AD-1728861.1	28	10	20	9	28	12
AD-1727012.1	15	5	18	4	22	8
AD-1724776.1	11	4	15	4	18	5
AD-1724777.1	12	6	18	6	25	9
AD-1728863.1	15	5	21	6	33	13
AD-1724778.1	13	3	20	4	24	5
AD-1724779.1	11	4	26	5	37	5
AD-1724780.1	47	6	65	10	88	13
AD-1724781.1	19	4	32	6	42	3
AD-1728877.1	23	4	32	8	37	7
AD-1724792.1	29	9	38	3	47	7
AD-1724819.1	10	1	15	4	21	4
AD-1724823.1	12	1	13	3	23	9
AD-1727059.1	12	2	18	2	15	2
AD-1728909.1	23	5	31	11	46	5
AD-1724824.1	21	4	35	2	30	4
AD-1724825.1	22	4	27	15	44	7
AD-1724860.1	51	11	55	13	73	6
AD-1724894.1	17	3	31	6	41	9
AD-1724897.1	16	1	27	5	26	4
AD-1724899.1	13	4	21	6	19	2
AD-1724900.1	11	2	22	2	26	3
AD-1724903.1	44	5	46	9	69	14
AD-1727140.1	34	21	47	12	75	10
AD-1724904.1	40	4	54	12	54	11
AD-1728990.1	13	2	22	3	16	2
AD-1724905.1	15	1	22	3	25	4
AD-1727142.1	51	11	77	12	81	8
AD-1724906.1	42	6	54	5	53	2
AD-1728995.1	25	4	37	1	26	7
AD-1724910.1	14	1	20	3	12	1
AD-1724919.1	25	5	46	9	38	4
AD-1727181.1	52	11	71	19	76	4
AD-1724945.1	17	4	23	6	26	6
AD-1724946.1	31	6	32	6	61	4
AD-1727183.1	17	4	14	7	20	2
AD-1724947.1	15	6	18	2	17	4
AD-1727184.1	84	9	87	3	94	11
AD-1724948.1	37	8	43	5	52	5
AD-1724949.1	35	1	52	11	61	8
AD-1725000.1	27	3	47	9	36	5
AD-1725003.1	59	16	65	9	65	5
AD-1729089.1	112	19	122	19	90	20

AD-1725004.1	97	16	106	8	87	13
AD-1725013.1	27	1	43	5	39	5
AD-1725017.1	48	4	75	11	82	9
AD-1729103.1	52	3	74	4	78	9
AD-1725018.1	39	4	43	3	56	7
AD-1725019.1	71	7	102	8	90	7
AD-1729105.1	66	9	84	17	71	13
AD-1725020.1	18	3	31	5	24	2
AD-1729106.1	32	4	48	8	48	6
AD-1725021.1	19	1	30	6	24	3
AD-1725022.1	35	6	43	7	43	10
AD-1725023.1	23	1	39	5	40	2
AD-1729110.1	23	6	36	4	32	4
AD-1725025.1	16	5	29	5	26	6
AD-1729112.1	35	6	49	11	46	8
AD-1727263.1	36	4	52	5	68	13
AD-1725027.1	35	7	47	3	41	11
AD-1725028.1	21	4	44	7	42	3
AD-1725033.1	73	11	89	15	88	10
AD-1727275.1	52	6	52	8	41	2
AD-1725039.1	26	4	28	3	20	2
AD-1727276.1	107	18	99	11	101	10
AD-1725040.1	29	3	41	2	41	13
AD-1725041.1	13	3	24	5	17	3
AD-1727278.1	76	16	83	16	86	10
AD-1725042.1	17	3	24	6	21	3
AD-1725043.1	12	5	21	3	18	3
AD-1725044.1	7	3	14	5	11	1
AD-1729130.1	62	13	81	13	69	7
AD-1725045.1	16	3	25	3	17	4
AD-1725046.1	19	2	21	5	23	6
AD-1729132.1	62	9	50	6	39	6
AD-1725047.1	19	1	25	5	17	3
AD-1725048.1	15	1	19	2	17	4
AD-1729134.1	34	3	55	11	56	8
AD-1727285.1	23	5	35	3	44	11
AD-1725049.1	14	2	21	5	19	5
AD-1727286.1	32	4	49	9	50	6
AD-1725050.1	17	4	31	9	27	7
AD-1729136.1	16	3	22	3	20	9
AD-1725051.1	10	0	23	3	17	1
AD-1729137.1	7	0	11	2	9	1
AD-1727288.1	5	2	13	2	8	2
AD-1725052.1	9	3	12	1	9	4
AD-1727289.1	9	2	17	2	18	9
AD-1725053.1	11	2	20	4	17	3

AD-1729139.1	7	1	12	2	9	1
AD-1727290.1	8	1	15	4	12	5
AD-1725054.1	5	2	5	0	6	1
AD-1727291.1	9	1	8	2	14	3
AD-1725055.1	6	2	6	2	6	0
AD-1729141.1	9	3	10	4	12	1
AD-1727292.1	7	3	6	2	15	1
AD-1725056.1	15	4	13	2	17	4
AD-1725057.1	8	1	7	2	5	2
AD-1729142.1	16	1	19	5	23	5
AD-1727293.1	9	1	7	1	5	1
AD-1725058.1	12	3	11	4	25	4
AD-1725059.1	8	3	5	1	12	1
AD-1725060.1	22	2	13	5	9	1
AD-1725061.1	18	4	13	3	9	1
AD-1727298.1	29	3	21	3	11	1
AD-1725062.1	27	3	19	2	8	1
AD-1725066.1	28	5	15	2	14	5
AD-1729151.1	40	4	27	3	22	4
AD-1727310.1	85	6	57	13	71	6
AD-1725074.1	25	1	16	2	11	1
AD-1725075.1	22	1	13	3	11	1
AD-1725079.1	38	8	22	4	21	3
AD-1725080.1	65	4	46	5	59	2
AD-1727318.1	38	3	25	3	15	1
AD-1725082.1	26	6	15	4	8	1
AD-1725083.1	30	7	19	5	11	2
AD-1725088.1	69	5	41	10	40	4
AD-1725092.1	47	7	31	8	19	2
AD-1725095.1	7	2	6	2	5	1
AD-1729180.1	52	5	54	7	57	9
AD-1727331.1	28	3	21	6	30	3
AD-1725096.1	18	1	11	3	6	1
AD-1729207.1	76	9	59	8	90	11
AD-1727358.1	42	4	38	7	50	6
AD-1725122.1	31	3	21	4	21	2
AD-1727359.1	62	11	38	4	29	5
AD-1725123.1	33	3	22	2	41	8
AD-1725125.1	21	5	11	3	6	1
AD-1727361.1	26	3	15	5	9	2
AD-1727392.1	24	2	13	2	9	1
AD-1725156.1	19	1	11	5	16	3
AD-1729242.1	22	2	15	6	11	1
AD-1725158.1	50	6	32	6	40	8
AD-1725159.1	63	10	45	8	42	6
AD-1729269.1	52	1	51	5	51	3

AD-1727420.1	24	4	18	1	13	3
AD-1725184.1	22	4	16	2	9	1
AD-1729271.1	47	5	31	5	23	3
AD-1725186.1	39	5	21	1	16	2
AD-1729274.1	43	5	37	2	40	5
AD-1725189.1	29	5	17	2	14	1
AD-1725190.1	22	5	14	5	12	1
AD-1727427.1	74	8	56	5	66	8
AD-1725191.1	27	3	25	4	21	1
AD-1729277.1	51	12	33	5	35	2
AD-1727428.1	97	4	65	9	70	4
AD-1725192.1	20	2	15	2	9	1
AD-1725193.1	18	1	9	1	12	4
AD-1727430.1	26	6	16	4	17	2
AD-1725194.1	13	2	9	1	8	1
AD-1729280.1	27	5	23	2	20	5
AD-1727431.1	30	8	21	4	20	2
AD-1725195.1	25	6	16	3	13	3
AD-1727432.1	19	4	14	4	9	1
AD-1725196.1	18	5	15	1	11	1
AD-1727433.1	68	19	43	7	65	4
AD-1725197.1	33	12	27	5	52	3
AD-1727434.1	50	10	49	3	36	2
AD-1725198.1	24	5	21	2	23	3
AD-1727435.1	46	13	36	4	35	4
AD-1725199.1	30	7	27	3	26	6
AD-1729285.1	37	8	38	7	32	3
AD-1727436.1	36	8	25	3	36	9
AD-1725200.1	17	5	16	2	14	1
AD-1729288.1	98	12	91	17	92	15
AD-1725203.1	64	16	69	8	52	4
AD-1725204.1	77	18	77	17	73	7
AD-1729290.1	26	4	25	2	15	2
AD-1727441.1	49	10	52	7	55	7
AD-1725205.1	31	7	35	1	27	4
AD-1725206.1	23	4	31	4	39	4
AD-1727442.1	45	11	44	6	48	5
AD-1725208.1	13	4	16	2	15	2
AD-1729296.1	28	8	33	6	16	5
AD-1725211.1	28	9	32	3	39	3
AD-1725212.1	16	9	21	3	20	4
AD-1729300.1	58	16	48	6	77	15
AD-1725215.1	15	3	20	6	33	5
AD-1725216.1	20	6	28	12	33	5
AD-1725243.1	32	4	37	10	49	8
AD-1725244.1	12	3	16	4	10	3

AD-1727481.1	22	2	36	4	23	0
AD-1725245.1	16	1	22	3	15	4
AD-1727483.1	30	2	41	7	48	9
AD-1725247.1	13	2	25	3	24	3
AD-1725327.1	22	4	35	7	27	5
AD-1729413.1	68	19	82	10	87	6
AD-1725328.1	39	3	57	9	75	10
AD-1727565.1	71	6	90	5	94	5
AD-1725329.1	54	8	91	15	103	16
AD-1727566.1	70	10	90	9	105	13
AD-1725330.1	62	10	76	6	92	10
AD-1725331.1	31	4	67	4	73	17
AD-1727568.1	85	10	105	11	88	8
AD-1725332.1	54	5	59	8	63	7
AD-1727569.1	21	3	37	7	41	7
AD-1725333.1	24	4	38	4	44	6
AD-1727570.1	22	4	34	5	38	5
AD-1725334.1	20	4	32	4	26	8
AD-1725336.1	17	5	34	10	30	6
AD-1725344.1	39	6	54	10	64	17
AD-1725345.1	38	2	62	5	68	5
AD-1725347.1	35	3	50	11	49	4
AD-1727584.1	32	5	44	2	36	7
AD-1725348.1	15	3	24	1	22	4
AD-1727612.1	35	8	20	1	40	5
AD-1725376.1	16	6	45	13	41	7
AD-1729461.1	66	13	78	16	79	3
AD-1729462.1	34	19	93	6	99	8
AD-1725377.1	62	15	87	16	89	9
AD-1729463.1	28	6	58	2	46	5
AD-1725378.1	25	4	44	4	43	5
AD-1727633.1	47	7	64	14	58	11
AD-1725397.1	16	3	24	6	20	5
AD-1729487.1	13	0	21	1	10	3
AD-1727638.1	11	1	23	2	15	3
AD-1725402.1	14	2	25	3	15	3
AD-1727639.1	14	2	23	6	14	3
AD-1725403.1	12	3	21	4	13	2
AD-1727640.1	37	5	60	6	68	11
AD-1725404.1	16	2	35	3	27	7
AD-1727641.1	13	2	26	5	20	1
AD-1725405.1	9	1	15	2	11	2
AD-1727642.1	47	8	82	13	78	8
AD-1725406.1	17	1	26	4	23	4
AD-1727643.1	21	1	36	9	31	5
AD-1725407.1	13	1	26	3	20	5

AD-1727644.1	14	1	24	2	23	4
AD-1725408.1	8	1	15	1	10	1
AD-1727645.1	14	2	21	2	15	2
AD-1725409.1	12	3	16	3	12	2
AD-1727646.1	47	6	74	10	83	11
AD-1725410.1	22	1	37	4	32	4
AD-1725411.1	24	3	44	6	44	7
AD-1730469.1	72	3	96	11	102	4
AD-1730470.1	36	4	55	11	76	4
AD-1730471.1	16	3	27	5	30	6
AD-1727663.1	45	4	60	15	54	5
AD-1725427.1	18	2	34	2	27	2
AD-1727664.1	32	5	53	3	45	6
AD-1725428.1	21	3	35	5	29	3
AD-1729514.1	13	2	21	3	15	3
AD-1727665.1	12	3	19	4	20	3
AD-1725429.1	11	2	22	5	14	2
AD-1729515.1	37	5	36	5	34	3
AD-1727666.1	15	2	23	4	14	3
AD-1725430.1	11	1	13	5	13	3
AD-1729524.1	30	3	56	5	49	4
AD-1727675.1	24	5	35	9	26	5
AD-1725439.1	29	6	44	10	45	10
AD-1725440.1	25	1	32	4	29	3
AD-1729525.1	29	8	47	8	59	11
AD-1727677.1	30	6	47	6	41	2
AD-1725441.1	21	2	28	1	26	2
AD-1725449.1	32	7	41	7	29	8
AD-1729538.1	29	3	55	4	51	8
AD-1727689.1	41	5	67	8	61	9
AD-1725453.1	29	9	47	5	54	8
AD-1727690.1	9	4	14	5	16	4
AD-1725454.1	15	3	18	4	24	2
AD-1729541.1	9	4	26	2	17	4
AD-1725456.1	13	3	18	1	15	2
AD-1727693.1	11	1	18	3	11	2
AD-1725457.1	9	2	20	2	11	3
AD-1729545.1	15	3	22	4	18	2
AD-1727696.1	12	3	9	3	15	3
AD-1725460.1	5	2	8	2	11	2
AD-1727698.1	19	1	20	2	23	10
AD-1725462.1	5	1	9	3	8	3
AD-1729548.1	7	2	9	2	7	3
AD-1727699.1	7	2	7	2	10	2
AD-1725463.1	4	1	7	3	7	1
AD-1725464.1	3	1	8	1	10	1

AD-1729550.1	26	1	24	11	38	4
AD-1727701.1	13	2	28	2	33	5
AD-1725465.1	9	1	19	4	19	3
AD-1729552.1	25	3	33	3	26	4
AD-1727703.1	6	1	11	2	10	1
AD-1725467.1	7	1	12	2	14	3
AD-1725469.1	7	2	11	1	16	2
AD-1727705.1	16	2	29	2	29	8
AD-1729555.1	7	1	10	1	13	1
AD-1725470.1	11	1	17	2	19	5
AD-1729557.1	42	6	60	3	48	4
AD-1727708.1	12	3	16	2	19	3
AD-1725472.1	9	0	13	2	11	2
AD-1725473.1	11	2	18	3	18	1
AD-1729559.1	18	4	28	6	45	4
AD-1727710.1	39	6	68	11	70	7
AD-1725474.1	19	4	40	2	38	3
AD-1729561.1	11	1	17	1	22	3
AD-1727712.1	10	1	16	1	19	1
AD-1725476.1	6	1	9	1	13	1
AD-1729562.1	4	3	4	1	6	2
AD-1727713.1	8	1	10	1	12	1
AD-1725477.1	7	0	10	0	13	1
AD-1727714.1	9	2	15	1	20	3
AD-1725478.1	9	1	12	1	12	1
AD-1727717.1	23	2	38	4	53	6
AD-1725481.1	17	2	29	6	37	1
AD-1727718.1	19	2	33	3	40	3
AD-1725482.1	16	3	31	4	31	9
AD-1729567.1	65	13	60	8	70	6
AD-1729568.1	20	4	23	3	25	4
AD-1725483.1	13	1	12	2	16	1
AD-1725534.1	13	2	23	8	38	8
AD-1725535.1	6	1	6	1	9	0
AD-1725548.1	5	2	12	3	19	3
AD-1725552.1	29	6	67	7	75	9
AD-1725556.1	13	6	22	6	29	5
AD-1729643.1	9	6	24	6	26	5
AD-1725558.1	20	3	32	8	40	6
AD-1725580.1	25	5	32	5	35	4
AD-1729667.1	43	7	59	4	68	10
AD-1725582.1	46	8	47	7	55	9
AD-1729670.1	12	3	25	4	34	3
AD-1727821.1	19	2	38	9	46	6
AD-1725585.1	15	1	27	4	41	6
AD-1727823.1	72	8	71	11	77	10

AD-1725587.1	21	2	43	1	48	11
AD-1729673.1	22	2	32	8	33	7
AD-1725588.1	19	4	20	4	31	5
AD-1725590.1	17	4	36	4	55	8
AD-1727826.1	99	18	83	7	84	15
AD-1725591.1	42	5	77	4	78	14
AD-1729677.1	17	2	24	1	29	6
AD-1725592.1	20	2	34	2	47	4
AD-1727829.1	88	22	89	14	93	7
AD-1725593.1	14	2	17	3	33	7
AD-1725598.1	94	24	66	11	79	18
AD-1729688.1	24	3	54	12	61	13
AD-1725603.1	11	3	20	3	23	2
AD-1725604.1	15	4	17	3	29	4
AD-1729690.1	88	9	83	12	86	17
AD-1725605.1	64	11	49	8	67	12
AD-1725643.1	7	0	10	2	15	1
AD-1725644.1	2	0	11	3	13	3
AD-1729729.1	28	6	31	7	41	11
AD-1725645.1	18	7	42	7	41	5
AD-1725646.1	13	5	37	7	46	9
AD-1727883.1	16	6	28	6	44	9
AD-1725647.1	14	3	17	5	29	8
AD-1725667.1	23	4	30	6	40	6
AD-1725716.1	67	14	49	12	62	15
AD-1725717.1	22	2	46	9	63	14
AD-1729802.1	102	26	77	11	79	13
AD-1729841.1	3	1	7	2	11	2
AD-1727977.1	2	0	6	1	12	5
AD-1725756.1	3	0	6	2	10	2
AD-1727978.1	11	2	11	2	15	4
AD-1725757.1	6	1	7	2	10	2
AD-1727980.1	7	2	8	2	11	4
AD-1725759.1	7	2	6	1	13	2
AD-1727981.1	6	0	7	1	10	1
AD-1725760.1	7	1	8	2	11	1
AD-1725761.1	6	2	7	2	9	2
AD-1725762.1	9	3	17	2	19	3
AD-1727984.1	7	1	9	1	10	2
AD-1725763.1	3	1	5	1	8	2
AD-1727985.1	7	1	10	2	17	4
AD-1725764.1	4	1	5	2	11	1
AD-1729849.1	42	10	31	5	41	11
AD-1729850.1	12	4	14	3	21	2
AD-1727986.1	5	1	9	2	13	1
AD-1725765.1	8	1	14	2	22	2

AD-1727987.1	6	1	8	1	12	2
AD-1725766.1	5	1	9	2	12	2
AD-1725767.1	6	1	10	2	14	1
AD-1729852.1	33	7	43	7	58	16
AD-1727989.1	10	2	13	3	16	2
AD-1725768.1	9	2	15	3	18	2
AD-1729854.1	21	1	31	5	32	3
AD-1727990.1	10	1	17	2	19	3
AD-1725769.1	8	1	14	1	20	2
AD-1727992.1	9	1	15	4	21	2
AD-1725771.1	8	2	12	3	7	4
AD-1729856.1	14	4	24	3	29	2
AD-1727993.1	13	1	24	3	18	6
AD-1725772.1	7	1	9	1	10	2
AD-1727994.1	23	2	40	6	43	7
AD-1725773.1	7	2	11	3	15	1
AD-1727996.1	19	8	30	2	53	7
AD-1725775.1	45	10	55	8	71	8
AD-1729861.1	60	5	69	2	79	6
AD-1725776.1	23	6	29	9	57	9
AD-1729862.1	37	10	42	6	42	2
AD-1725777.1	8	2	12	3	15	2
AD-1727999.1	50	7	64	14	78	9
AD-1725778.1	17	5	25	3	35	3
AD-1725779.1	16	1	21	1	29	4
AD-1725780.1	7	1	11	1	11	2
AD-1729869.1	28	1	43	5	57	11
AD-1725784.1	10	2	15	1	17	1
AD-1729870.1	30	2	50	13	59	4
AD-1725785.1	13	1	21	3	34	2
AD-1725786.1	16	4	22	3	30	2
AD-1729872.1	44	3	51	12	54	5
AD-1725787.1	16	3	24	3	28	5
AD-1725789.1	11	1	16	2	20	3
AD-1725790.1	20	1	29	4	37	6
AD-1728049.1	102	14	94	11	100	14
AD-1725828.1	26	5	34	6	46	9
AD-1725829.1	44	7	50	8	64	3
AD-1725830.1	11	2	21	5	26	5
AD-1725831.1	18	5	21	3	24	2
AD-1725832.1	15	1	26	4	37	4
AD-1728061.1	38	5	40	5	50	10
AD-1725840.1	43	3	32	4	29	2
AD-1729926.1	44	6	50	4	45	5
AD-1728062.1	38	4	37	4	46	6
AD-1725841.1	13	2	15	2	20	3

AD-1725842.1	12	2	17	2	22	6
AD-1725845.1	56	12	74	7	81	18
AD-1728067.1	85	10	98	21	108	12
AD-1725846.1	42	6	68	7	75	11
AD-1729933.1	16	1	22	5	21	1
AD-1725848.1	12	2	14	1	15	3
AD-1725849.1	14	4	17	5	28	5
AD-1725850.1	31	4	39	9	58	6
AD-1725854.1	12	1	15	7	23	7
AD-1725855.1	8	1	10	5	19	2
AD-1729941.1	30	3	47	7	59	5
AD-1725856.1	20	4	32	1	39	6
AD-1725857.1	10	0	15	2	18	4
AD-1725858.1	25	4	36	8	46	7
AD-1725861.1	39	6	41	7	66	12
AD-1729947.1	51	7	46	14	53	2
AD-1725862.1	40	4	51	6	66	7
AD-1728085.1	25	5	50	10	48	8
AD-1725864.1	11	2	20	3	25	4
AD-1729951.1	27	7	45	7	59	11
AD-1725866.1	16	4	29	7	40	9
AD-1725867.1	24	6	34	6	54	5
AD-1725872.1	15	2	17	3	26	6
AD-1725874.1	20	8	25	3	39	8
AD-1729992.1	60	8	34	8	41	13
AD-1725907.1	45	10	29	10	54	10
AD-1729993.1	51	9	25	4	47	13
AD-1725908.1	15	0	13	4	19	2
AD-1729994.1	47	12	60	10	79	18
AD-1725909.1	17	3	29	10	42	7
AD-1728132.1	31	7	35	7	65	4
AD-1725911.1	36	5	36	7	58	10
AD-1730001.1	6	1	10	4	21	4
AD-1728137.1	6	1	10	2	19	3
AD-1725916.1	5	1	10	2	12	1
AD-1728140.1	7	1	16	6	28	4
AD-1725919.1	7	3	16	5	22	5
AD-1728146.1	10	1	16	2	26	8
AD-1725925.1	6	1	10	2	24	7
AD-1730042.1	18	2	37	4	65	14
AD-1725957.1	24	3	32	3	50	9
AD-1725958.1	18	1	28	6	42	8
AD-1725961.1	8	1	16	4	21	3
AD-1730048.1	10	1	17	2	27	5
AD-1725963.1	15	3	19	4	26	4
AD-1725964.1	18	4	15	3	22	6

AD-1725967.1	15	3	26	8	33	4
AD-1730053.1	62	7	51	11	73	17
AD-1725968.1	46	7	39	7	56	7
AD-1730059.1	31	6	51	6	85	23
AD-1728195.1	23	4	38	4	67	13
AD-1725974.1	11	3	16	1	46	13
AD-1725977.1	20	4	24	2	25	15
AD-1730068.1	11	1	13	2	11	5
AD-1728204.1	15	1	18	3	38	5
AD-1725983.1	11	2	15	3	24	4
AD-1728206.1	11	1	16	3	40	10
AD-1725985.1	7	2	12	2	21	2
AD-1728207.1	12	3	23	2	25	7
AD-1725986.1	18	4	22	3	25	4
AD-1728208.1	13	1	22	1	35	2
AD-1725987.1	13	3	17	2	24	2
AD-1728209.1	46	6	70	6	101	10
AD-1725988.1	20	7	28	5	43	7
AD-1725989.1	23	4	38	1	66	7
AD-1728210.1	26	4	42	1	65	8
AD-1728212.1	16	2	23	3	57	7
AD-1725991.1	10	1	18	4	31	6
AD-1730077.1	46	2	62	6	102	8
AD-1725992.1	33	2	54	8	92	10
AD-1728214.1	17	2	30	5	74	16
AD-1725993.1	13	2	25	7	50	5
AD-1728220.1	10	2	10	4	34	2
AD-1725999.1	11	2	16	3	32	3
AD-1726014.1	41	5	68	13	100	31
AD-1726015.1	30	5	53	11	98	16
AD-1726016.1	49	9	76	14	114	5
AD-1730103.1	38	8	56	7	92	12
AD-1726018.1	29	10	42	4	80	10
AD-1726020.1	34	5	45	3	74	24
AD-1730108.1	63	5	79	13	109	14
AD-1728244.1	58	9	85	9	109	12
AD-1726023.1	40	6	44	7	105	14
AD-1726024.1	31	9	51	9	88	18
AD-1730110.1	44	6	53	4	108	17
AD-1726025.1	21	3	34	9	65	10
AD-1730112.1	62	12	76	9	92	10
AD-1726027.1	23	5	36	4	66	14
AD-1726029.1	17	5	41	7	76	7
AD-1726031.1	20	3	31	5	53	10
AD-1730118.1	48	8	74	13	96	13
AD-1726033.1	34	4	64	5	99	11

AD-1726034.1	18	5	33	5	53	11
AD-1726036.1	7	1	15	4	22	2
AD-1728258.1	3	0	15	4	43	3
AD-1726037.1	9	2	15	4	32	7
AD-1730122.1	12	3	18	3	37	6
AD-1728260.1	21	2	34	4	70	7
AD-1726039.1	15	1	22	3	55	12
AD-1726041.1	19	2	35	5	75	13
AD-1726042.1	36	8	52	11	96	13
AD-1730472.1	14	5	24	7	66	11
AD-1730133.1	8	2	21	2	32	4
AD-1728269.1	12	2	25	2	55	10
AD-1726048.1	7	2	13	1	24	1
AD-1728270.1	14	5	35	8	90	20
AD-1726049.1	18	6	42	7	81	6
AD-1728271.1	11	4	20	2	38	10
AD-1726050.1	8	2	13	3	19	4
AD-1726051.1	4	1	6	2	10	3
AD-1728272.1	20	4	30	3	64	16
AD-1728273.1	4	2	9	4	20	3
AD-1726052.1	4	1	9	2	19	5
AD-1728274.1	7	2	13	1	28	7
AD-1726053.1	5	1	9	3	17	4
AD-1728275.1	8	4	15	4	35	9
AD-1726054.1	6	3	12	3	22	6
AD-1728276.1	4	1	8	4	15	5
AD-1726055.1	6	2	11	2	15	1
AD-1728277.1	7	1	9	2	17	3
AD-1726056.1	6	1	7	1	13	2
AD-1728278.1	5	1	10	3	12	3
AD-1726057.1	6	1	7	1	14	2
AD-1726058.1	7	1	12	3	11	5
AD-1730143.1	8	2	14	1	19	3
AD-1728279.1	7	1	13	2	21	2
AD-1726059.1	8	1	16	2	18	3
AD-1726060.1	9	1	16	4	18	2
AD-1728282.1	17	2	29	9	62	11
AD-1726061.1	9	2	17	2	33	7
AD-1728283.1	15	2	30	5	39	3
AD-1726062.1	7	0	14	3	15	2
AD-1728284.1	12	1	20	2	28	5
AD-1726063.1	11	0	15	3	29	6
AD-1728285.1	8	1	16	3	31	3
AD-1726064.1	11	1	17	5	27	5
AD-1728286.1	14	4	25	4	64	10
AD-1726065.1	9	1	14	1	27	6

AD-1730474.1	18	3	28	11	56	6
AD-1730473.1	15	2	28	5	56	8
AD-1730475.1	9	1	13	2	20	3
AD-1730164.1	29	4	42	4	47	7
AD-1728300.1	18	2	27	2	38	1
AD-1726079.1	14	2	23	7	35	4
AD-1728301.1	12	2	16	2	24	3
AD-1726080.1	9	2	14	2	20	4
AD-1728302.1	6	2	7	3	9	2
AD-1726081.1	7	3	9	3	16	3
AD-1730167.1	8	2	9	5	16	6
AD-1728303.1	9	1	16	1	17	3
AD-1726082.1	10	0	17	2	20	6
AD-1730168.1	27	6	51	7	73	7
AD-1726083.1	21	3	37	8	63	13
AD-1726084.1	11	1	18	1	24	5
AD-1730169.1	20	2	23	3	32	5
AD-1726085.1	9	3	21	2	33	5
AD-1730171.1	21	3	39	3	49	7
AD-1728307.1	17	1	32	5	50	6
AD-1726086.1	15	5	29	4	53	11
AD-1728308.1	16	3	25	3	44	6
AD-1726087.1	11	2	15	2	21	2
AD-1728311.1	50	13	73	14	109	15
AD-1726090.1	21	2	42	9	70	10
AD-1728312.1	55	4	60	12	104	19
AD-1726091.1	18	3	32	5	46	8
AD-1726092.1	32	5	71	9	82	7
AD-1726095.1	68	8	73	9	79	12
AD-1728317.1	34	2	40	5	42	9
AD-1726096.1	16	2	24	4	24	5
AD-1728318.1	106	19	45	15	110	4
AD-1726097.1	17	4	28	6	38	4
AD-1730183.1	61	7	71	14	94	16
AD-1726098.1	54	3	69	10	90	9
AD-1730184.1	69	6	74	4	93	12
AD-1728320.1	48	9	73	12	94	4
AD-1726099.1	40	7	71	11	79	7
AD-1726103.1	70	12	83	11	73	5
AD-1728324.1	67	9	71	12	68	13
AD-1726113.1	51	7	74	3	88	8
AD-1726159.1	15	4	32	5	39	8
AD-1730256.1	35	6	42	7	56	6
AD-1726171.1	15	2	21	2	32	4
AD-1728405.1	30	7	42	5	67	9
AD-1726184.1	11	3	19	2	30	8

AD-1728408.1	17	1	39	8	63	9
AD-1726187.1	11	2	22	5	39	11
AD-1728410.1	9	2	17	3	20	4
AD-1726189.1	7	2	14	1	17	4
AD-1728412.1	9	2	19	3	29	6
AD-1726191.1	9	1	18	3	26	10
AD-1726201.1	8	1	17	1	16	3
AD-1728422.1	12	3	20	6	23	5
AD-1730287.1	13	3	24	2	31	5
AD-1728423.1	15	3	30	5	37	4
AD-1726202.1	15	2	29	7	44	8
AD-1730288.1	12	1	25	6	41	7
AD-1726203.1	11	2	17	4	25	6
AD-1728427.1	16	4	36	4	56	14
AD-1726206.1	12	2	22	3	28	7
AD-1726207.1	4	1	10	1	11	5
AD-1730293.1	13	4	19	3	23	3
AD-1726208.1	6	2	16	2	20	5
AD-1726209.1	7	1	17	4	17	4
AD-1730476.1	22	5	25	3	17	6
AD-1730477.1	7	1	13	3	13	3
AD-1730478.1	21	3	36	7	50	11

Пример 3. Способы скрининга *in vitro*

Подгруппу дуплексов также оценивали посредством трансфекции и свободного поглощения в первичных гепатоцитах человека и первичных гепатоцитах яванского макака.

Анализы трансфекции и свободного поглощения проводили в первичных гепатоцитах человека (PHH, BioIVT) и первичных гепатоцитах яванского макака (PCH, BioIVT). Трансфекцию проводили посредством добавления 5 мкл Opti-MEM плюс 0,1 мкл липофектамина RNAiMax на лунку (Invitrogen, Carlsbad CA. кат. # 13778-150) к 5 мкл дуплексов миРНК на лунку в 384-луночном планшете и инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. 40 мкл сред Invitrogen CP (BioIVT, кат. # Z99029), содержащих $\sim 10 \times 10^3$ клеток, затем добавляли к смеси миРНК. Клетки инкубировали в течение 24 часов до очистки РНК. Эксперименты проводили при 10нМ, 1нМ, 0,1нМ и 0,01нМ. Анализ свободного поглощения проводили сходным образом с анализом трансфекции, без использования липофектамина RNAiMax, и клетки инкубировали в течение 48 часов до очистки РНК. Эксперименты проводили при 200нМ, 100нМ, 10нМ, 1нМ.

РНК выделяли с использованием интегрированной системы Highres Biosolution, с использованием набора для очистки мРНК Dynabeads™ DIRECT™ (Invitrogen™, каталожный No. 61012). Кратко, 70 мкл буфера для лизиса/связывания и 10 мкл буфера для лизиса, содержащего 3 мкл магнитных бусин, добавляли в планшет с клетками. Планшеты инкубировали в электромагнитном встряхивателе в течение 10 минут при комнатной температуре и затем магнитные бусины связывали, и супернатант удаляли. Связанную с

бусинами РНК затем промывали 2 раза с использованием 90 мкл буфера для промывки А и один раз с использованием 90 мкл буфера для промывки В. Бусины затем промывали с использованием 90 мкл буфера для элюции, повторно связывали, и супернатант удаляли. Комплементарную ДНК (кДНК) синтезировали с использованием высокопроизводительного набора для обратной транскрипции кДНК с ингибитором РНКазы (Applied Biosystems™, каталожный No. 4374967), в соответствии с рекомендациями производителя. Готовую реакционную смесь, содержащую 1 мкл 10X буфера, 0,4 мкл 25X дезоксирибонуклеотидтрифосфатов, 1 мкл 10X случайных праймеров, 0,5 мкл обратной транскриптазы, 0,5 мкл ингибитора РНКазы и 6,6 мкл H₂O на реакцию, добавляли к РНК, выделенной выше. Планшеты герметично закрывали, перемешивали и инкубировали в электромагнитном встряхивателе в течение 10 минут при комнатной температуре, с последующей инкубацией 2 часа при 37°C.

Уровни мРНК CFB количественно оценивали посредством проведения анализа RT-qПЦР. 2 мкл кДНК добавляли к готовой реакционной смеси, содержащей 0,5 мкл зонда TaqMan GAPDH человека или яванского макака, 0,5 мкл зонда CFB человека или яванского макака (Hs00156060_m1) и 5 мкл готовой реакционной смеси для зондов Lightcycler 480 (Roche кат. # 04887301001) на лунку в 384-луночных планшетах. ПЦР с детекцией в реальном времени проводили в системе для ПЦР с детекцией в реальном времени LightCycler480 (Roche). Для расчета относительной кратности изменения, данные детекции в реальном времени анализировали с использованием способа дельта-дельта порогового цикла (относительной количественной оценки) ($\Delta\Delta C_q[RQ]$) [Schmittgen and Livak 2008] и нормализовали по контрольным анализам, проведенным с использованием клеток, трансфицированных PBS. Для всех образцов, уровни мРНК CFB сначала нормализовали по *GAPDH* в качестве эталонного гена. Данные выражали как процент мРНК CFB, оставшийся относительно среднего для контроля с PBS, и ошибку выражали как стандартное отклонение (SD), выведенное из 4 повторов трансфекций.

Результаты скринингов после трансфекции однократной дозой и скринингов после свободного поглощения в клетках РНН и РСН показаны в таблицах 5 и 6, соответственно.

Таблица 5. Скрининги *in vitro* для трансфекции однократной дозой и свободного поглощения в первичных гепатоцитах человека

Наименование дуплекса	Трансфекция первичных гепатоцитов человека								Свободное поглощение в первичных гепатоцитах человека							
	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.	0,1нМ Средн.	0,1нМ Ст. откл.	0,01нМ Средн.	0,01нМ Ст. откл.	200нМ Средн.	200нМ Ст. откл.	100нМ Средн.	100нМ Ст. откл.	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.
AD-1724704.1	8	2	7	3	15	3	19	2	9	3	8	2	33	5	50	8
AD-1729137.1	8	2	12	3	20	5	25	3	32	2	30	3	53	1	87	11
AD-1725059.1	6	2	8	1	13	4	18	4	10	1	10	1	27	4	61	17
AD-1727392.1	9	2	12	4	20	4	27	5	27	4	62	18	54	4	32	3
AD-1725408.1	7	2	11	2	16	3	18	3	16	2	15	2	46	5	68	5
AD-1727703.1	9	1	15	1	21	4	23	2	31	3	33	6	63	4	74	7
AD-1725478.1	10	0	13	1	20	4	27	4	20	2	91	6	51	7	38	5
AD-1725759.1	13	2	19	3	25	3	33	5	30	5	29	6	69	7	86	3
AD-1725771.1	8	1	15	4	19	2	31	4	20	2	24	4	56	5	88	6
AD-1726051.1	16	2	16	3	21	4	18	2	17	5	24	2	59	7	79	9
AD-1726057.1	14	5	13	3	12	1	8	5	14	3	14	3	42	8	50	21
AD-1724693.1	8	2	8	2	22	0	29	3	22	1	22	2	43	2	39	16
AD-1724706.1	7	1	15	3	18	2	33	5	12	2	15	1	35	2	63	9
AD-1727288.1	8	4	11	2	24	5	24	5	16	4	20	2	46	2	69	7
AD-1725060.1	12	1	18	5	38	4	50	5	44	3	42	2	73	6	96	16
AD-1725192.1	15	2	20	2	16	10	44	6	38	2	41	5	50	10	78	10
AD-1725430.1	7	1	8	1	16	4	18	2	19	3	17	5	46	7	65	16
AD-1725469.1	15	3	17	4	32	6	41	9	43	8	41	4	77	9	96	13
AD-1725535.1	8	1	13	3	22	2	21	7	18	3	21	2	51	5	75	13
AD-1727981.1	13	1	16	4	21	3	28	4	27	2	32	5	61	4	89	15
AD-1725772.1	10	1	16	3	22	6	31	8	20	4	25	2	54	19	107	31
AD-1728273.1	16	3	19	2	33	3	29	5	19	5	23	1	58	6	81	13
AD-1726058.1	7	2	15	2	15	3	18	6	13	5	16	2	50	7	61	21
AD-1728784.1	7	2	7	2	19	2	21	3	16	2	16	7	39	8	38	23

Наименование дуплекса	Трансфекция первичных гепатоцитов человека								Свободное поглощение в первичных гепатоцитах человека							
	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.	0,1нМ Средн.	0,1нМ Ст. откл.	0,01нМ Средн.	0,01нМ Ст. откл.	200нМ Средн.	200нМ Ст. откл.	100нМ Средн.	100нМ Ст. откл.	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.
AD-1724708.1	9	2	12	2	24	5	26	4	12	4	15	1	43	9	69	6
AD-1725193.1	12	1	18	1	24	6	28	6	21	2	19	4	46	6	75	10
AD-1725460.1	14	4	19	4	31	5	40	4	70	9	61	3	94	6	95	11
AD-1729555.1	10	2	14	3	33	7	31	8	27	8	26	1	68	7	99	28
AD-1725643.1	10	1	19	5	32	9	23	7	26	3	26	3	59	2	83	5
AD-1726052.1	14	2	17	5	26	6	28	5	15	2	20	1	51	3	85	3
AD-1726062.1	4	1	17	1	23	11	26	8	15	5	18	3	45	9	48	15
AD-1726936.1	5	2	7	3	19	4	28	2	15	5	13	7	30	13	35	21
AD-1724715.1	11	3	18	5	26	6	46	11	22	4	25	3	45	11	66	11
AD-1725055.1	5	2	8	2	20	2	21	5	17	2	20	1	47	2	74	6
AD-1725061.1	14	2	18	4	35	7	34	4	33	1	30	2	73	6	85	9
AD-1725194.1	13	3	14	2	26	6	23	5	16	2	16	2	40	6	62	11
AD-1725462.1	13	2	14	3	34	7	36	6	46	4	29	3	69	13	80	20
AD-1725472.1	10	3	17	1	28	6	27	3	32	5	102	7	60	5	103	16
AD-1725644.1	13	2	21	6	31	9	31	2	38	4	35	8	68	13	89	18
AD-1725761.1	10	1	17	3	31	5	27	5	29	3	37	3	81	10	112	8
AD-1725773.1	12	1	19	3	27	4	38	7	31	7	34	5	75	11	110	25
AD-1726053.1	14	2	19	2	22	2	23	4	14	4	17	0	45	4	73	12
AD-1728302.1	10	2	14	3	25	8	25	8	12	3	19	4	47	9	76	17
AD-1728786.1	7	2	9	1	16	3	19	4	16	1	19	4	38	17	47	4
AD-1724718.1	11	1	19	4	27	4	30	5	14	3	22	2	52	2	71	5
AD-1729141.1	15	4	17	2	30	5	28	5	31	7	34	4	57	5	107	19
AD-1725075.1	20	5	19	3	25	4	34	3	25	4	26	5	60	10	86	14
AD-1727432.1	14	2	17	2	23	3	31	5	24	5	104	10	56	6	82	12
AD-1729548.1	14	2	20	4	31	2	36	8	43	7	42	5	80	9	100	9
AD-1725476.1	11	2	19	2	32	8	28	8	24	4	35	1	83	7	111	8

Наименование дуплекса	Трансфекция первичных гепатоцитов человека								Свободное поглощение в первичных гепатоцитах человека							
	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.	0,1нМ Средн.	0,1нМ Ст. откл.	0,01нМ Средн.	0,01нМ Ст. откл.	200нМ Средн.	200нМ Ст. откл.	100нМ Средн.	100нМ Ст. откл.	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.
AD-1729841.1	13	1	21	4	29	6	25	6	36	8	41	3	74	2	111	16
AD-1725763.1	8	1	16	4	31	8	37	5	20	4	25	2	60	2	97	10
AD-1725777.1	14	4	18	4	18	1	21	6	24	7	27	5	65	8	90	22
AD-1728276.1	15	1	23	2	34	16	29	8	18	5	22	3	44	11	94	25
AD-1730167.1	10	2	14	2	16	8	20	5	7	4	15	4	35	8	50	15
AD-1726937.1	6	1	9	2	8	2	20	3	11	2	11	1	33	2	44	9
AD-1724725.1	9	1	14	2	22	1	25	4	15	3	19	1	41	5	59	12
AD-1727292.1	11	1	14	2	24	4	31	6	21	3	25	1	49	7	79	13
AD-1725095.1	12	2	13	1	21	4	27	5	15	2	15	1	39	4	66	6
AD-1725244.1	18	2	21	3	35	9	37	9	42	4	39	5	80	14	97	11
AD-1725463.1	8	2	13	3	22	8	26	9	21	3	23	3	57	9	80	10
AD-1729562.1	11	2	14	2	26	5	19	4	18	3	16	3	43	3	71	7
AD-1725756.1	10	2	12	2	23	5	24	2	24	2	26	3	58	5	87	10
AD-1725764.1	7	1	13	2	29	7	25	4	24	5	117	4	59	4	95	18
AD-1730001.1	16	2	25	11	22	5	32	7	29	5	107	15	75	9	105	13
AD-1726056.1	14	2	20	2	30	9	25	3	12	2	15	2	43	7	79	17
AD-1726189.1	11	3	18	2	18	1	23	8	15	5	23	5	43	9	88	11
AD-1724702.1	6	1	11	2	15	4	23	7	15	0	15	1	36	1	50	8
AD-1724910.1	9	2	13	2	22	3	23	2	21	3	16	2	38	4	60	7
AD-1727293.1	6	1	10	3	14	1	19	4	20	5	23	3	48	6	77	8
AD-1725096.1	11	3	16	2	30	6	34	5	22	3	25	2	55	11	81	14
AD-1729487.1	13	1	20	2	40	9	31	3	31	7	33	12	70	11	96	21
AD-1725464.1	9	3	14	4	26	7	27	5	21	3	28	1	64	8	91	12
AD-1727713.1	11	1	16	3	32	4	34	5	26	5	28	2	67	6	97	7
AD-1725757.1	10	1	14	2	26	3	28	7	21	1	22	3	51	1	93	5
AD-1727986.1	7	2	12	3	29	8	27	7	17	6	24	2	60	10	80	13

Наименование дуплекса	Трансфекция первичных гепатоцитов человека								Свободное поглощение в первичных гепатоцитах человека							
	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.	0,1нМ Средн.	0,1нМ Ст. откл.	0,01нМ Средн.	0,01нМ Ст. откл.	200нМ Средн.	200нМ Ст. откл.	100нМ Средн.	100нМ Ст. откл.	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.
AD-1725916.1	8	1	12	4	22	7	24	3	16	4	21	3	55	7	85	22
AD-1728278.1	13	2	20	4	28	12	25	6	17	2	23	4	49	4	81	17
AD-1726207.1	9	1	19	5	28	6	28	3	19	5	27	6	49	9	59	7
AD-1726939.1	5	1	7	1	12	4	18	5	11	1	11	2	28	4	33	5
AD-1725044.1	4	1	8	2	16	4	22	7	19	3	20	2	43	9	46	10
AD-1725057.1	6	3	11	2	20	2	23	6	16	2	20	2	47	9	64	14
AD-1725125.1	13	2	20	2	37	11	40	7	49	4	63	12	85	13	90	12
AD-1725405.1	6	2	9	2	20	6	25	8	17	3	21	1	57	12	66	9
AD-1725477.1	9	2	13	2	28	4	27	5	18	3	25	2	56	7	73	6
AD-1727980.1	11	2	15	2	24	3	25	4	18	3	25	3	55	1	79	17
AD-1725767.1	9	2	17	4	41	11	37	9	24	6	35	4	66	5	87	9
AD-1730068.1	18	8	18	5	11	6	26	5	30	10	43	2	77	5	92	29
AD-1730477.1	9	1	14	5	27	7	26	7	21	3	24	2	52	3	108	34

Таблица 6 . Скрининги *in vitro* для трансфекции однократной дозой и свободного поглощения в первичных гепатоцитах яванского макака

Наименование дуплекса	Трансфекция первичных гепатоцитов яванского макака								Свободное поглощение в первичных гепатоцитах яванского макака							
	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.	0,1нМ Средн.	0,1нМ Ст. откл.	0,01нМ Средн.	0,01нМ Ст. откл.	200нМ Средн.	200нМ Ст. откл.	100нМ Средн.	100нМ Ст. откл.	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.
AD-1724704.1	2	1	6	1	11	2	12	3	16	1	20	2	41	2	62	5
AD-1729137.1	5	0	11	1	19	1	21	1	58	1	59	6	72	2	91	6
AD-1725059.1	2	0	4	0	9	1	12	1	18	1	21	3	41	3	62	4
AD-1727392.1	12	1	25	2	42	1	53	3	56	2	56	4	80	4	93	4
AD-1725408.1	2	0	7	1	11	1	15	1	26	2	28	4	47	3	68	3
AD-1727703.1	5	1	11	0	18	1	24	2	50	7	49	4	76	2	89	1

Наименование дуплекса	Трансфекция первичных гепатоцитов яванского макака								Свободное поглощение в первичных гепатоцитах яванского макака							
	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.	0,1нМ Средн.	0,1нМ Ст. откл.	0,01нМ Средн.	0,01нМ Ст. откл.	200нМ Средн.	200нМ Ст. откл.	100нМ Средн.	100нМ Ст. откл.	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.
AD-1725478.1	3	0	7	1	12	1	17	1	28	2	33	4	56	2	72	5
AD-1725759.1	9	5	12	1	19	1	24	1	43	1	44	1	66	4	83	4
AD-1725771.1	4	1	10	2	17	1	23	1	31	2	33	1	56	1	75	2
AD-1726051.1	6	1	11	1	16	1	23	2	41	3	44	3	70	4	87	2
AD-1726057.1	4	1	12	2	15	1	21	1	33	1	43	2	72	4	91	2
AD-1724693.1	5	1	11	1	22	2	30	3	36	3	37	2	59	3	79	4
AD-1724706.1	2	0	6	1	11	1	16	2	15	0	20	1	38	1	57	2
AD-1727288.1	3	1	7	1	13	1	17	1	34	2	35	1	48	9	70	4
AD-1725060.1	6	1	16	1	29	3	37	2	46	1	48	3	69	4	81	1
AD-1725192.1	4	1	11	1	19	2	24	2	48	3	49	4	70	8	79	3
AD-1725430.1	3	1	5	1	8	1	12	1	21	1	21	1	39	2	60	3
AD-1725469.1	5	1	13	2	21	2	28	3	45	2	45	2	67	4	83	6
AD-1725535.1	2	0	6	1	9	1	12	1	21	2	23	0	45	2	67	4
AD-1727981.1	4	1	8	1	15	2	19	1	33	2	36	3	57	2	73	7
AD-1725772.1	4	1	9	2	14	2	22	3	34	4	32	2	52	2	74	4
AD-1728273.1	6	1	11	1	17	2	22	2	42	10	39	3	63	4	81	6
AD-1726058.1	4	1	7	1	11	1	16	1	29	3	32	2	54	2	73	2
AD-1728784.1	4	0	9	1	19	2	24	5	31	11	38	2	61	2	79	3
AD-1724708.1	3	0	8	1	13	1	17	1	20	1	21	0	44	1	62	1
AD-1725193.1	3	0	6	0	12	1	19	2	31	1	32	2	53	6	72	2
AD-1725460.1	5	0	12	0	22	3	29	2	68	2	63	4	74	5	83	3
AD-1729555.1	3	0	9	1	15	1	20	2	32	1	33	1	56	4	74	1
AD-1725643.1	5	1	11	1	17	2	21	1	24	1	26	0	48	2	71	5
AD-1726052.1	5	1	10	1	16	2	19	1	32	1	37	2	60	4	78	3
AD-1726062.1	4	1	9	1	15	1	20	1	33	1	37	1	60	2	81	3
AD-1726936.1	3	0	10	1	16	0	22	1	34	3	30	3	52	3	73	3

Наименование дуплекса	Трансфекция первичных гепатоцитов яванского макака								Свободное поглощение в первичных гепатоцитах яванского макака							
	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.	0,1нМ Средн.	0,1нМ Ст. откл.	0,01нМ Средн.	0,01нМ Ст. откл.	200нМ Средн.	200нМ Ст. откл.	100нМ Средн.	100нМ Ст. откл.	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.
AD-1724715.1	3	0	10	1	19	2	26	0	26	1	27	2	50	2	68	1
AD-1725055.1	3	1	6	1	11	1	15	1	29	1	30	0	50	3	66	4
AD-1725061.1	4	0	9	1	17	1	25	1	31	2	32	2	51	2	69	5
AD-1725194.1	2	0	5	0	8	1	13	2	21	1	22	2	41	3	59	2
AD-1725462.1	4	1	10	1	18	2	24	1	36	2	36	2	55	3	74	4
AD-1725472.1	3	1	8	1	14	1	18	2	33	1	33	1	49	3	66	2
AD-1725644.1	6	1	13	1	21	1	24	2	40	2	40	1	60	3	78	4
AD-1725761.1	4	1	8	1	15	3	19	1	33	2	33	2	55	2	70	2
AD-1725773.1	6	2	12	1	22	2	25	3	36	3	37	3	58	2	77	4
AD-1726053.1	4	1	7	1	12	1	13	1	25	1	29	3	48	4	68	3
AD-1728302.1	4	1	9	1	15	2	18	2	29	2	34	2	59	3	78	3
AD-1728786.1	4	1	11	2	16	0	21	1	38	1	38	2	61	4	81	3
AD-1724718.1	3	1	11	1	18	1	24	2	26	1	31	3	55	4	73	2
AD-1729141.1	6	0	12	2	22	3	27	1	44	2	48	3	69	4	82	5
AD-1725075.1	3	0	9	1	14	1	19	2	27	1	30	3	53	5	70	2
AD-1727432.1	3	0	7	0	14	2	18	1	27	2	29	2	49	4	78	10
AD-1729548.1	4	1	11	1	21	1	29	2	36	2	37	2	61	4	75	5
AD-1725476.1	4	1	9	1	13	2	18	0	33	1	34	0	57	3	70	2
AD-1729841.1	4	1	10	1	15	2	19	1	40	3	40	2	62	4	74	6
AD-1725763.1	2	1	7	0	12	2	14	2	16	1	18	1	33	2	57	3
AD-1725777.1	4	1	9	1	17	2	21	2	29	3	35	1	58	2	71	3
AD-1728276.1	4	0	8	1	13	1	16	0	24	1	27	0	49	2	70	8
AD-1730167.1	3	1	8	1	13	1	17	1	25	1	29	2	50	1	75	6
AD-1726937.1	2	1	7	1	11	2	17	1	21	1	24	1	47	3	73	4
AD-1724725.1	3	0	8	1	15	2	21	2	23	1	28	1	51	1	73	3
AD-1727292.1	3	0	6	1	12	2	16	1	29	0	31	2	49	2	69	3

Наименование дуплекса	Трансфекция первичных гепатоцитов яванского макака								Свободное поглощение в первичных гепатоцитах яванского макака							
	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.	0,1нМ Средн.	0,1нМ Ст. откл.	0,01нМ Средн.	0,01нМ Ст. откл.	200нМ Средн.	200нМ Ст. откл.	100нМ Средн.	100нМ Ст. откл.	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.
AD-1725095.1	2	0	5	0	9	1	13	0	17	1	19	1	39	2	60	4
AD-1725244.1	4	1	10	1	17	1	21	2	36	3	37	2	59	3	78	3
AD-1725463.1	3	1	6	2	11	2	14	2	22	1	23	1	43	2	64	3
AD-1729562.1	2	0	5	1	8	1	11	1	25	1	26	1	41	3	63	5
AD-1725756.1	3	1	6	1	11	2	14	2	26	3	27	1	47	2	65	5
AD-1725764.1	2	0	6	1	12	2	16	2	25	1	26	2	44	3	64	5
AD-1730001.1	5	1	12	1	22	2	24	3	30	1	35	2	58	3	73	4
AD-1726056.1	4	1	8	1	13	2	14	1	24	1	28	2	50	4	70	3
AD-1726189.1	7	1	18	3	24	1	30	2	53	3	58	3	79	4	94	6
AD-1724702.1	4	0	10	1	16	2	22	2	31	2	33	2	57	1	77	4
AD-1724910.1	3	1	8	1	12	1	15	1	32	1	31	1	52	1	70	4
AD-1727293.1	4	1	8	0	16	2	22	3	40	1	43	2	66	5	80	3
AD-1725096.1	3	1	7	1	14	1	20	2	22	1	24	1	45	2	71	3
AD-1729487.1	7	1	13	1	24	4	33	6	47	1	49	3	70	4	85	4
AD-1725464.1	2	0	6	1	13	2	19	2	23	1	25	2	44	4	64	2
AD-1727713.1	3	1	7	1	13	1	18	1	30	1	33	2	57	1	77	2
AD-1725757.1	3	0	6	1	10	2	14	1	24	2	24	1	46	1	65	3
AD-1727986.1	3	1	6	1	14	1	17	2	24	1	27	2	47	4	65	4
AD-1725916.1	3	1	7	1	12	1	14	0	21	1	24	1	47	4	67	6
AD-1728278.1	3	0	8	1	12	2	14	1	25	2	30	2	54	2	72	5
AD-1726207.1	4	1	10	1	19	3	25	2	25	1	30	2	53	3	76	5
AD-1726939.1	3	1	6	0	12	2	17	0	21	1	23	1	46	4	74	5
AD-1725044.1	3	0	7	2	14	1	16	5	36	2	32	1	50	2	75	3
AD-1725057.1	3	0	7	1	14	2	20	1	42	3	38	1	60	4	80	3
AD-1725125.1	8	1	23	3	39	5	53	5	61	2	62	2	82	3	98	4
AD-1725405.1	2	1	7	1	13	1	19	2	22	2	23	1	43	1	71	4

Наименование дуплекса	Трансфекция первичных гепатоцитов яванского макака								Свободное поглощение в первичных гепатоцитах яванского макака							
	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.	0,1нМ Средн.	0,1нМ Ст. откл.	0,01нМ Средн.	0,01нМ Ст. откл.	200нМ Средн.	200нМ Ст. откл.	100нМ Средн.	100нМ Ст. откл.	10нМ Средн.	10нМ Ст. откл.	1нМ Средн.	1нМ Ст. откл.
AD-1725477.1	3	0	7	1	11	4	18	2	32	3	34	1	56	2	77	4
AD-1727980.1	4	1	9	0	16	1	20	3	29	2	31	3	51	3	74	7
AD-1725767.1	6	1	12	1	23	2	27	1	41	1	42	2	64	7	87	4
AD-1730068.1	5	1	11	0	18	2	19	2	35	2	36	2	63	5	84	6
AD-1730477.1	3	0	10	2	13	2	18	1	32	3	33	1	51	3	77	7

Пример 4. Скрининг *in vivo* дуплексов дцРНК

Исследование однократной дозы (1мг/кг)

Представляющие интерес дуплексы, идентифицированные в вышеуказанных исследованиях *in vitro*, оценивали *in vivo*. В частности, на сутки -21 до дозирования мышей дикого типа (C57BL/6) трансдуцировали с использованием 2×10^{11} вирусных частиц вектора на основе аденоассоциированного вируса 8 (AAV8), кодирующего CFB человека, внутривенно посредством ретроорбитальной доставки. В частности, мышам вводили AAV8, кодирующий часть мРНК CFB человека, кодирующую открытую рамку считывания и 3'-UTR мРНК CFB человека, приведенной путем ссылки как NM_001710.5, обозначенный как VCAV-07851.AAV8.HsCFB.

На сутки 0, группам из трех мышей подкожно вводили однократную дозу 1 мг/кг представляющих интерес дуплексов или фосфатно-солевого буфера (PBS). В **таблице 7** представлен дизайн обработки и представлены представляющие интерес дуплексы. На сутки 0 до дозирования и сутки 7 после дозирования, собирали плазму с K₂ЭДТА, и образцы анализировали по белку CFB человека посредством ELISA (Assay Pro # EF7001). Все образцы плазмы разводили 1:1000 в 1x разбавителе, и ELISA проводили, в соответствии с протоколом производителя. Данные интерполировали с использованием 4-параметрической логистической кривой, с использованием программного обеспечения GraphPad Prism.

Для всех образцов, уровни белка CFB человека нормализовали по уровню на сутки 0 у индивидуальных животных, для расчета относительного % оставшегося белка CFB человека. Для каждой группы, средний % оставшегося белка CFB рассчитывали (\pm стандартное отклонение [SD]).

Данные выражали как процент от исходного значения и представляли как среднее плюс стандартное отклонение. Результаты, перечисленные в **таблице 8** и показанные на **фигуре 2**, показывают, что тестируемые иллюстративные дуплексные средства эффективно уменьшают уровень белка CFB человека *in vivo*.

Таблица 7. Группы обработки

Группа	Обработка	# животных	Доза (мг/кг массы тела)	Область-мишень
1	PBS	3	NA	
2	AD-1726057.3	3	1	2242-2264
3	AD-1725763.3	3	1	1828-1850
4	AD-1725777.3	3	1	1842-1864
5	AD-1725057.3	3	1	995-1017
6	AD-1725096.3	3	1	1034-1056
7	AD-1728786.3	3	1	641-663
8	AD-1725059.3	3	1	997-1019

9	AD-1728276.3	3	1	2391-2413
10	AD-1728278.3	3	1	2393-2415
11	AD-1726936.3	3	1	640-662
12	AD-1725472.3	3	1	1473-1495
13	AD-1724715.3	3	1	504-526
14	AD-1727292.3	3	1	1145-1167
15	AD-1730477.3	3	1	2453-2475
17	AD-1727288.3	3	1	1141-1163
18	AD-1730167.3	3	1	2438-2460
19	AD-1725408.3	3	1	1389-1411
20	AD-1725761.3	3	1	1826-1848

Таблица 8. Скрининг *in vivo*

Группа	Обработка	Оставшийся % CFB (индивидуальные животные)			Среднее для группы	СТ. ОТКЛ.
1	PBS	100,01	106,18	98,65	101,61	4,01
2	AD-1726057.3	67,11	72,07	68,00	69,06	2,64
3	AD-1725763.3	35,75	44,82	31,92	37,50	6,63
4	AD-1725777.3	80,87	67,57	72,06	73,50	6,77
5	AD-1725057.3	60,58	72,93	70,28	67,93	6,50
6	AD-1725096.3	68,25	57,34	65,02	63,54	5,61
7	AD-1728786.3	68,9	65,6	69,2	67,91	1,99
8	AD-1725059.3	62,9	62,2	64,2	63,10	0,99
9	AD-1728276.3	49,2	26,3	38,7	38,06	11,43
10	AD-1728278.3	60,5	56,1	58,1	58,24	2,16
11	AD-1726936.3	38,4	62,2	50,0	50,21	11,92
12	AD-1725472.3	47,5	76,4	64,5	62,78	14,53
13	AD-1724715.3	51,69	47,15	66,83	55,23	10,30
14	AD-1727292.3	43,51	50,53	53,90	49,31	5,30
15	AD-1730477.3	50,08	50,96	ND	50,52	0,62
17	AD-1727288.3	67,03	56,42	42,49	55,31	12,31
18	AD-1730167.3	54,47	56,24	52,30	54,34	1,97
19	AD-1725408.3	56,03	39,87	58,80	51,56	10,22
20	AD-1725761.3	71,73	75,44	52,36	66,51	12,39

ЭКВИВАЛЕНТЫ

Специалисту в данной области известны, или он способен определять с использованием не более, чем общепринятых экспериментов, множество эквивалентов конкретных вариантов осуществления изобретения и способов, описанных в настоящем описании. Такие эквиваленты предназначены для включения в объем следующей формулы изобретения.

Список последовательностей в произвольной форме

SEQ ID NO:1

>gi|1732746151|ref|NM_001710.6 Homo sapiens, фактор комплемента В (CFB) мРНК
GGGAAGGGAATGTGACCAGGTCTAGGTCTGGAGTTTCAGCTTGGACACTGAG
CCAAGCAGACAAGCAAAG
CAAGCCAGGACACACCATCCTGCCCCAGGCCAGCTTCTCTCCTGCCTTCCAACGCC
ATGGGGAGCAATC
TCAGCCCCCAACTCTGCCTGATGCCCTTATCTTGGGCCTCTTGTCTGGAGGTGTGAC
CACCCTCCATG
GTCTTTGGCCCGGCCCCAGGGATCCTGCTCTCTGGAGGGGGTAGAGATCAAAGGCG
GCTCCTTCCGACTT
CTCCAAGAGGGCCAGGCACTGGAGTACGTGTGTCCTTCTGGCTTCTACCCGTACCCT
GTGCAGACACGTA
CCTGCAGATCTACGGGGTCTGGAGCACCTGAAGACTCAAGACCAAAAGACTGTC
AGGAAGGCAGAGTG
CAGAGCAATCCACTGTCCAAGACCACACGACTTCGAGAACGGGGAATACTGGCCCC
GGTCTCCCTACTAC
AATGTGAGTGATGAGATCTCTTTCCACTGCTATGACGGTTACACTCTCCGGGGCTCT
GCCAATCGCACCT
GCCAAGTGAATGGCCGATGGAGTGGGCAGACAGCGATCTGTGACAACGGAGCGGG
GTA CTGCTCCAACCC
GGGCATCCCCATTGGCACAAGGAAGGTGGGCAGCCAGTACCGCCTTGAAGACAGCG
TCACCTACCACTGC
AGCCGGGGGCTTACCCTGCGTGGCTCCCAGCGGCGAACGTGTCAGGAAGGTGGCTC
TTGGAGCGGGACGG
AGCCTTCCTGCCAAGACTCCTTCATGTACGACACCCCTCAAGAGGTGGCCGAAGCTT
TCCTGTCTTCCT
GACAGAGACCATAGAAGGAGTCGATGCTGAGGATGGGCACGGCCCAGGGGAACAA
CAGAAGCGGAAGATC
GTCCTGGACCCTTCAGGCTCCATGAACATCTACCTGGTGCTAGATGGATCAGACAGC
ATTGGGGCCAGCA
ACTTCACAGGAGCCAAAAAGTGTCTAGTCAACTTAATTGAGAAGGTGGCAAGTTAT
GGTGTGAAGCCAAG
ATATGGTCTAGTGACATATGCCACATACCCCAAAATTTGGGTCAAAGTGTCTGAAGC
AGACAGCAGTAAT

GCAGACTGGGTCACGAAGCAGCTCAATGAAATCAATTATGAAGACCACAAGTTGAA
GTCAGGGACTAACA
CCAAGAAGGCCCTCCAGGCAGTGTACAGCATGATGAGCTGGCCAGATGACGTCCCT
CCTGAAGGCTGGAA
CCGCACCCGCCATGTCATCATCCTCATGACTGATGGATTGCACAACATGGGCGGGGA
CCCAATTACTGTC
ATTGATGAGATCCGGGACTTGCTATACATTGGCAAGGATCGCAAAAACCCAAGGGA
GGATTATCTGGATG
TCTATGTGTTTGGGGTTCGGGCCTTTGGTGAACCAAGTGAACATCAATGCTTTGGCTT
CCAAGAAAGACAA
TGAGCAACATGTGTTCAAAGTCAAGGATATGGAAAACCTGGAAGATGTTTTCTACC
AAATGATCGATGAA
AGCCAGTCTCTGAGTCTCTGTGGCATGGTTTGGGAACACAGGAAGGGTACCGATTAC
CACAAGCAACCAT
GGCAGGCCAAGATCTCAGTCATTCGCCCTTCAAAGGGACACGAGAGCTGTATGGGG
GCTGTGGTGTCTGA
GTACTTTGTGCTGACAGCAGCACATTGTTTCACTGTGGATGACAAGGAACACTCAAT
CAAGGTCAGCGTA
GGAGGGGAGAAGCGGGACCTGGAGATAGAAGTAGTCCTATTTACCCCCAACTACAA
CATTAAATGGGAAAA
AAGAAGCAGGAATTCCTGAATTTTATGACTATGACGTTGCCCTGATCAAGCTCAAGA
ATAAGCTGAAATA
TGGCCAGACTATCAGGCCCATTTGTCTCCCCTGCACCGAGGGGAACAACCTCGAGCTTT
GAGGCTTCCTCCA
ACTACCACTTGCCAGCAACAAAAGGAAGAGCTGCTCCCTGCACAGGATATCAAAGC
TCTGTTTGTGTCTG
AGGAGGAGAAAAAGCTGACTCGGAAGGAGGTCTACATCAAGAATGGGGATAAGAA
AGGCAGCTGTGAGAG
AGATGCTCAATATGCCCCAGGCTATGACAAAAGTCAAGGACATCTCAGAGGTGGTCA
CCCCTCGGTTTCCTT
TGTACTGGAGGAGTGAGTCCCTATGCTGACCCCAATACTTGCAGAGGTGATTCTGGC
GGCCCCTTGATAG
TTCACAAGAGAAGTCGTTTCATTCAAGTTGGTGTAAATCAGCTGGGGAGTAGTGGATG
TCTGCAAAAACCA
GAAGCGGCAAAAGCAGGTACCTGCTCACGCCCGAGACTTTCACATCAACCTCTTTCA
AGTGCTGCCCTGG
CTGAAGGAGAACTCCAAGATGAGGATTTGGGTTTTCTATAAGGGGTTTTCTGCTGG
ACAGGGGCGTGGG ATTGAATTAACAGCTGCGACAACA

SEQ ID NO:2

>gi|218156288|ref|NM_008198.2| Mus musculus, фактор комплемента В (Cfb), вариант

1 транскрипта, мРНК

GCTCCATCACACAGTCCATGGAAAGACTGATCTTTTAAATTGGGGGTAGTGG
AGGTGGTGGTCTGTGCTT
GTTAGGAGGGGTCTGGGGGCTAAGAGGGAGCTTTGAAAGGGAAGTTCTGGC
CCTTGGTCAGTCAAGGGTG
GGGCTCACATAGTTTCTGTTTCCTCAGTTGGCAGTTCAGCTGGGGCCCTCCTT
CATGAATGTTCCGGGAA
GCAGTGGCTGCGTGCGCAGGGTAGGCTGGCCAGGCTGCAGATGCCAGAGCA
GATTGCATAAAAGGTTAGG
GGACAGTGGGAAAGGGGTGTAGCCAGATCCAGCATTTGGGTTTCAGTTTGA
CAGGAGGTCAAATAGGCA
CCCAGAGTGACCTGGAGAGGGCTTTGGGCCACTGGACTCTCTGGTGCTTTCC
ATGACAATGGAGAGCCCC
CAGCTCTGCCTCGTCCTCTTGGTCTTAGGCTTCTCCTCTGGAGGTGTGAGCGC
AACTCCAGTGCTTGAGG
CCCGGCCCAAGTCTCCTGCTCTCTGGAGGGAGTAGAGATCAAAGGCGGCTC
CTTTCAACTTCTCCAAGG
CGGTCAGGCCCTGGAGTACCTATGTCCCTCTGGCTTCTACCCATAACCCCGTGC
AGACTCGAACCTGCAGA
TCCACAGGCTCCTGGAGCGACCTGCAGACCCGAGACCAAAGATTGTCCAGA
AGGCGGAATGCAGAGCAA
TACGCTGCCACGACCGCAGGACTTTGAAAATGGGGAATTCTGGCCCCGGTC
CCCCTTCTACAACCTGAG
TGACCAGATTTCTTTTCAATGCTATGATGGTTACGTTCTCCGGGGCTCTGCTA
ATCGCACCTGCCAAGAG
AATGGCCGGTGGGATGGGCAAACAGCAATTTGTGATGATGGAGCTGGATACT
GTCCCAATCCCGGTATTC
CTATTGGGACAAGGAAGGTGGGTAGCCAATACCGCCTTGAAGACATTGTTAC
TTACCACTGCAGCCGGGG
ACTTGTCTGCGTGGCTCCCAGAAGCGAAAGTGTCAAGAAGGTGGCTCATGG
AGTGGGACAGAGCCTTCC
TGCCAAGATTCCTTCATGTATGACAGCCCTCAAGAAGTGGCCGAAGCATTCC
TATCCTCCCTGACAGAGA
CCATCGAAGGAGCCGATGCTGAGGATGGGCACAGCCCAGGAGAACAGCAGA
AGAGGAAGATTGTCCTAGA
CCCCTCGGGCTCCATGAATATCTACCTGGTGCTAGATGGATCAGACAGCATC
GGAAGCAGCAACTTACA
GGGGCTAAGCGGTGCCTCACCAACTTGATTGAGAAGGTGGCGAGTTACGGGG
TGAGGCCACGATATGGTC
TCCTGACATATGCTACAGTCCCCAAAGTGTTGGTCAGAGTGTCTGATGAGAG

GAGTAGCGATGCCGACTG

GGTCACAGAGAAGCTCAACCAAATCAGTTATGAAGACCACAAGCTGAAGTC
AGGGACCAACACCAAGAGG

GCTCTCCAGGCTGTGTATAGCATGATGAGCTGGGCAGGGGATGCCCCGCCTG
AAGGCTGGAATAGAACCC

GCCATGTCATCATCATTATGACTGATGGCTTGCACAACATGGGTGGAAACCC
TGTCACTGTCATTCAGGA

CATCCGAGCCTTGCTGGACATCGGCAGGGATCCCCAAAATCCCAGGGAGGAT
TACCTGGATGTGTATGTG

TTTGGGGTCGGGCCTCTGGTGGACTCCGTGAACATCAATGCCTTAGCTTCCAA
AAAGGACAATGAGCATC

ATGTGTTTAAAGTCAAGGATATGGAAGACCTGGAGAATGTTTTCTACCAAAT
GATTGATGAAACCAAATC

TCTGAGTCTCTGTGGCATGGTGTGGGAGCATAAAAAAGGCAACGATTATCAT
AAGCAACCATGGCAAGCC

AAGATCTCAGTCACTCGCCCTCTGAAAGGACATGAGACCTGTATGGGGGCCG
TGGTGTCTGAGTACTTCG

TGCTGACAGCAGCGCACTGCTTCATGGTGGATGATCAGAAACATTCCATCAA
GGTCAGCGTGGGGGGTCA

GAGGCGGGACCTGGAGATTGAAGAGGTCCTGTTCCACCCCAAATACAATATT
AATGGGAAAAAGGCAGAA

GGGATCCCTGAGTTCTATGATTATGATGTGGCCCTAGTCAAGCTCAAGAACA
AGCTCAAGTATGGCCAGA

CTCTCAGGCCCATCTGTCTCCCCTGCACGGAGGGAACCACACGAGCCTTGAG
GCTTCCTCAGACAGCCAC

CTGCAAGCAGCACAAGGAACAGTTGCTCCCTGTGAAGGATGTCAAAGCTCTG
TTTGTATCTGAGCAAGGG

AAGAGCCTGACTCGGAAGGAGGTGTACATCAAGAATGGGGACAAGAAAGCC
AGTTGTGAGAGAGATGCTA

CAAAGGCCCAAGGCTATGAGAAGGTCAAAGATGCCTCTGAGGTGGTCACTCC
ACGGTTCCTCTGCACAGG

AGGGGTGGATCCCTATGCTGACCCCAACACATGCAAAGGAGATTCCGGGGGC
CCTCTCATTGTTACAAG

AGAAGCCGCTTCATTCAAGTTGGTGTGATTAGCTGGGGAGTAGTAGATGTCT
GCAGAGACCAGAGGCGGC

AACAGCTGGTACCCTCTTATGCCCGGGACTTCCACATCAACCTCTTCCAGGTG
CTGCCCTGGCTAAAGGA

CAAGCTCAAAGATGAGGATTTGGGTTTTCTATAAAGAGCTTCCTGCAGGGAG
AGTGTGAGGACAGATTAA

AGCAGTTACAATAACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

SEQ ID NO:3

>gi|218156290|ref|NM_001142706.1| Mus musculus, фактор комплемента В (Cfb), вариант 2 транскрипта, мРНК

GCTCCATCACACAGTCCATGGAAAGACTGATCTTTTAAATTGGGGGTAGTGG
AGGTGGTGGTCTGTGCTT
GTTAGGAGGGGTCTGGGGGCTAAGAGGGAGCTTTGAAAGGGAAGTTCTGGC
CCTTGGTCAGTCAAGGGTG
GGGCTCACATAGTTTCTGTTTCCTCAGTTGGCAGTTCAGCTGGGGCCCTCCTT
CATGAATGTTCCGGGAA
GCAGTGGCTGCGTGCGCAGGGTAGGCTGGCCAGGCTGCAGATGCCAGAGCA
GATTGCATAAAAGGTTAGG
GGACAGTGGGAAAGGGGTGTAGCCAGATCCAGCATTTGGGTTTCAGTTTGA
CAGGAGGTCAAATAGGCA
CCCAGAGTGACCTGGAGAGGGCTTTGGGCCACTGGACTCTCTGGTGCTTTCC
ATGACAATGGAGAGCCCC
CAGCTCTGCCTCGTCCTCTTGGTCTTAGGCTTCTCCTCTGGAGGTGTGAGCGC
AACTCCAGTGCTTGAGG
CCCGGCCCAAGTCTCCTGCTCTCTGGAGGGAGTAGAGATCAAAGGCGGCTC
CTTTCAACTTCTCCAAGG
CGGTCAGGCCCTGGAGTACCTATGTCCCTCTGGCTTCTACCCATAACCCCGTGC
AGACTCGAACCTGCAGA
TCCACAGGCTCCTGGAGCGACCTGCAGACCCGAGACCAAAGATTGTCCAGA
AGGCGGAATGCAGAGCAA
TACGCTGCCACGACCGCAGGACTTTGAAAATGGGGAATTCTGGCCCCGGTC
CCCCTTCTACAACCTGAG
TGACCAGATTTCTTTTCAATGCTATGATGGTTACGTTCTCCGGGGCTCTGCTA
ATCGCACCTGCCAAGAG
AATGGCCGGTGGGATGGGCAAACAGCAATTTGTGATGATGGAGCTGGATACT
GTCCCAATCCCGGTATTC
CTATTGGGACAAGGAAGGTGGGTAGCCAATACCGCCTTGAAGACATTGTTAC
TTACCACTGCAGCCGGGG
ACTTGTCTGCGTGGCTCCCAGAAGCGAAAGTGTCAAGAAGGTGGCTCATGG
AGTGGGACAGAGCCTTCC
TGCCAAGATTCCTTCATGTATGACAGCCCTCAAGAAGTGGCCGAAGCATTCC
TATCCTCCCTGACAGAGA
CCATCGAAGGAGCCGATGCTGAGGATGGGCACAGCCCAGGAGAACAGCAGA
AGAGGAAGATTGTCCTAGA
CCCCTCGGGCTCCATGAATATCTACCTGGTGCTAGATGGATCAGACAGCATC
GGAAGCAGCAACTTACA
GGGGCTAAGCGGTGCCTCACCAACTTGATTGAGAAGGTGGCGAGTTACGGGG

TGAGGCCACGATATGGTC
TCCTGACATATGCTACAGTCCCCAAAGTGTTGGTCAGAGTGTCTGATGAGAG
GAGTAGCGATGCCGACTG
GGTCACAGAGAAGCTCAACCAAATCAGTTATGAAGACCACAAGCTGAAGTC
AGGGACCAACACCAAGAGG
GCTCTCCAGGCTGTGTATAGCATGATGAGCTGGGCAGGGGATGCCCCGCCTG
AAGGCTGGAATAGAACCC
GCCATGTCATCATCATTATGACTGATGGCTTGCACAACATGGGTGGAAACCC
TGTCACTGTCATTCAGGA
CATCCGAGCCTTGCTGGACATCGGCAGGGATCCCCAAAATCCCAGGGAGGAT
TACCTGGATGTGTATGTG
TTTGGGGTCGGGCCTCTGGTGGACTCCGTGAACATCAATGCCTTAGCTTCCAA
AAAGGACAATGAGCATC
ATGTGTTTAAAGTCAAGGATATGGAAGACCTGGAGAATGTTTTCTACCAAAT
GATTGATGAAACCAAATC
TCTGAGTCTCTGTGGCATGGTGTGGGAGCATAAAAAAGGCAACGATTATCAT
AAGCAACCATGGCAAGCC
AAGATCTCAGTCACTCGCCCTCTGAAAGGACATGAGACCTGTATGGGGGCCG
TGGTGTCTGAGTACTTCG
TGCTGACAGCAGCGCACTGCTTCATGGTGGATGATCAGAAACATTCCATCAA
GGTCAGCGTGGGGGGTCA
GAGGCGGGACCTGGAGATTGAAGAGGTCCTGTTCCACCCCAAATACAATATT
AATGGGAAAAAGGCAGAA
GGGATCCCTGAGTTCTATGATTATGATGTGGCCCTAGTCAAGCTCAAGAACA
AGCTCAAGTATGGCCAGA
CTCTCAGGCCCATCTGTCTCCCCTGCACGGAGGGAACCACACGAGCCTTGAG
GCTTCCTCAGACAGCCAC
CTGCAAGCAGCACAAGGAACAGTTGCTCCCTGTGAAGGATGTCAAAGCTCTG
TTTGTATCTGAGCAAGGG
AAGAGCCTGACTCGGAAGGAGGTGTACATCAAGAATGGGGACAAGCCAGTT
GTGAGAGAGATGCTACAAA
GGCCCAAGGCTATGAGAAGGTCAAAGATGCCTCTGAGGTGGTCACTCCACGG
TTCCTCTGCACAGGAGGG
GTGGATCCCTATGCTGACCCCAACACATGCAAAGGAGATTCCGGGGGCCCTC
TCATTGTTCAAGAGAA
GCCGCTTCATTCAAGTTGGTGTGATTAGCTGGGGAGTAGTAGATGTCTGCAG
AGACCAGAGGCGGCAACA
GCTGGTACCCTCTTATGCCCGGGACTTCCACATCAACCTCTTCCAGGTGCTGC
CCTGGCTAAAGGACAAG
CTCAAAGATGAGGATTTGGGTTTTCTATAAAGAGCTTCCTGCAGGGAGAGTG

TGAGGACAGATTAAGCA

GTTACAATAACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

SEQ ID NO:4

>gi|218156284|ref|NM_212466.3| *Rattus norvegicus*, фактор комплемента В (Cfb),
mPHK

CAGCAGGGGCCCTCCTTCATGAATGTTCCGGGAAGCAGCGTCTGTGCAGGGT
AGGTTGGCCAGGCTGCAG

GTGCCAGAGCAGATTGCATAAAAGGTTAGGGGCCGGTGGGAAAGGGGTGTA
GCCAGATCCAGCACTGGAG

TTTCAGTCTGGACAGCAAGTCAAGTAGCCACCCAGAGTGAAGTGGAAAGGGC
TTTTGGCCACGGGCTTTC

CATGACAATGGAGGGTCCCCAGCTCTGCTTAGTCCTCTTGGTCTTAGGCCTCT
CCTCCGGAGGTGTGAGC

GCAACTCCAGTGCTTGAGGCCCGGCCCCAGGTCTCTTGCTCTCTGGAGGGAG
TAGAGATCAAAGGCGGCT

CCTTCCAACCTTCTCCAAGACGGTCAGGCCCTGGAGTACCTGTGTCCCTCTGGC
TTCTACCCATACCCTGT

GCAGACTCGAACCTGCAAATCCACAGGCTCCTGGAGTGTCTCCAGACCCGG
GACCAAAGATTGTCAAG

AAGGCAGAATGCAGAGCAATACGCTGCCACGACCACAGGACTTTGAAAAT
GGGGAGTTCTGGCCCCGGT

CCCCCTACTACAACCTGAGTGATCAGATTTCTTTTCAATGCTATGATGGCTAC
ACTCTCCGGGGCTCTGC

TAATCGCACCTGCCAAGAGAATGGCCGGTGGGATGGGCAAACAGCAATCTGT
GATGATGGAGCGGGATAC

TGTCCCAACCCGGGTATTCCTATTGGGACAAGGAAGGTGGGAAGCCAGTACC
GTCTTGAAGACACTGTCA

CTTACCACTGTAGTCGGGGACTTGTCTACGTGGCTCCCAGCAGCGAAGGTG
CCAGGAAGGTGGCTCGTG

GAGTGGGACAGAGCCTTCCTGCCAAGATTCCTTCATGTACGACAGCCCTCAA
GAGGTGGCCGAAGCATT

CTATCCTCCCTGACAGAGACCATCGAAGGAGCAGATGCGGAGGATGGGCAC
AGCCCAGGGGAACAGCAGA

AGAGGAAGATTATCCTGGACCCCTCGGGCTCCATGAATATCTACATGGTGCT
GGATGGATCCGACAGCAT

CGGGGCCAGCAACTTCACAGGGGCCAAGCGGTGTCTCGCCAACTTGATTGAG
AAGGTGGCGAGTTATGGG

GTGAAGCCAAGATACGGTCTAGTGACATATGCCACAGTCCCCAAAGTCTTGG
TCAGAGTGTCTGAGGAGA

GGAGTAGTGATGCCGACTGGGTACAGAGAAGCTCAACCAAATCAGTTATGA

AGACCACAAGCTGAAGTC
AGGGACCAACACCAAGAAGGCTCTCCAGGCTGTATACAGCATGATGAGCTGG
CCAGGGGATGCTCCGCCT
GAAGGCTGGAATCGAACCCGCCACGTCATCATCATGACTGATGGCTTGC
ACAACATGGGTGGAGACC
CTGTCACTGTCATTGAGGACATCCGAGACTTGCTGGATATTGGCAGGGATCG
CAAAAATCCCCGGGAGGA
TTATTTGGATGTGTATGTGTTTGGGGTCGGGCCTCTGGTGGACCCTGTGAACA
TCAATGCCTTGGCTTCC
AAAAAGAACAATGAGCAGCATGTGTTCAAGGTCAAGGACATGGAGGATCTG
GAGAACGTCTTCTACAAAA
TGATCGATGAAACCAAATCTCTGGGTCTCTGTGGCATGGTGTGGGAGCATCA
GAAAGGCGGTGATTATTA
CAAGCAACCATGGCAAGCCAAGATCTCAGTCACTCGTCCTCTGAAAGGACAT
GAGAACTGTATGGGGGCC
GTGGTGTCCGAGTACTTCGTGCTGACAGCAGCGCATTGCTTCACAGTGGAAG
ATCAGAAACACTCCATCA
AGGTCAACGTGGAGGGGAAAAGGCGGGACCTGGAGATTGAAGAGGTCCTGT
TCCACCCTAATTACGACAT
CAATGGGAAAAAGGCAGAAGGAATCTCTGAGTTCTATGACTATGATGTTGCC
CTCATCAAGCTCAAGACC
AAGCTGAAGTACAGCCAGACTCTCAGGCCCATCTGTCTCCCCTGCACAGAGG
GAACCACCCGAGCCTTGC
GGCTTCCTCAGACAGCCACCTGCAAACAGCACAAGGAAGAGTTGCTCCCTAT
GAAGGACGTCAAAGCTCT
GTTTGTATCCGAGGAAGGGAAGAAGCTGACCCGGAAGGAGGTGTACATCAA
GAATGGGGAAAAGAAAGCC
AGTTGTGAGAGAGATGCTACAAAGGCCCAAGGCTATGAGAAGGTCAAAGTT
GCCTCTGAGGTGGTCACCC
CCAGGTTCTGTGCACCGGAGGGGTAGATCCCTATGCTGACCCCAACACATG
CAAAGGAGACTCCGGGGG
CCCTCTCATTGTTCAACAAGAGAAGCCGCTTCATTCAAGTTGGTGTGATCAGCT
GGGGAGTAGTGGATGTC
TGCAAAGACCCGAGGCGGCAACAGTTGGTGCCCTCCTATGCCCGGGACTTCC
ACATCAATCTCTTCCAGG
TGCTGCCCTGGCTAAAGGAGAAGCTCAAAGACGAGGACTTGGGTTTCTTATA
AGGAGCTTCTGCTGGGA
GGGTGAGGGCAGATTAAAGCAGCTACAATACAAATACAAAAAAAAAAAAAAAAA
AA

SEQ ID NO:5

>gi|57114201|ref|NM_001009169.1| Pan troglodytes, фактор комплемента В (CFB),
mPHK

CCCAGGCCCAGCTTCTCTCCTGCCTTCCAACGCCATGGGGAGCAATCTCAGCC
CCCAACTCTGCCTGATG
CCCTTCATCTTGGGCCTCTTGTCTGGAGGTGTGACCACCACTCCATGGCCTTT
GGCCCAGCCCCAGGAAT
CCTGCTCTCTGGAGGGGGTAGAGATCAAAGGCGGCTCCTTCCGACTTCTCCA
AGAGGGCCAGGCACTGGA
GTACGTGTGTCCTTCTGGCTTCTACCCGTACCCTGTGCAGACACGTACCTGCA
GATCTACGGGGTCCTGG
AGCACCTGAAGACTCAAGTCCAAAAGACTGTCAGGAAGGCAGAGTGCAGA
GCAATCCACTGTCCAAGAC
CACACGACTTCGAGAACGGGGAATACTGGCCCCGGTCTCCCTACTACAATGT
GAGTGATGAGATCTCTTT
CCACTGCTATGACGGTTACTCTCCGGGGCTCTGCCAATCGCACCTGCCAAG
TGAATGGCCGGTGGAGT
GGGCAGACAGCGATCTGTGACAACGGAGCGGGGTACTGCTCCAACCCGGGC
ATCCCCATTGGCACAAGGA
AGGTGGGCAGCCAGTACCGCCTTGAAGACAGCGTCACCTACCACTGCAGCCG
GGGGCTTACCCTGCGTGG
CTCCCAGCGGCGAACGTGTCAGGAAGGTGGCTCTTGGAGCGGGACGGAGCCT
TCTTGCCAAGACTCCTTC
ATGTACGACACCCCTCAAGAGGTGGCCGAAGCTTTCCTGTCTTCCCTGACAG
AGACCATAGAAGGAGTCG
ATGCTGAGGATGGGCACGGCCCAGGGGAACAACAGAAGCGGAAGATCGTCC
TGGACCCTTCAGGCTCCAT
GAACATCTACCTGGTGCTAGATGGATCAGACAGCATTGGGGCCAGCAACTTC
ACAGGAGCCAAAAAGTGT
CTAGTCAACTTAATTGAGAAGGTGGCAAGTTATGGTGTGAAGCCAAGATATG
GTCTAGTGACATATGCCA
CACACCCCAAAATTTGGGTCAAAGTGTCTGATCCAGACAGCAGTAATGCAGA
CTGGGTCACGAAGCAGCT
CAATGAAATCAATTATGAAGACCACAAGTTGAAGTCAGGGACTAACACCAA
GAAGGCCCTCCAGGCAGTG
TACAGCATGATGAGCTGGCCAGATGACATCCCTCCTGAAGGCTGGAACCGCA
CCCGCCATGTCATCATCC
TCATGACTGATGGATTGCACAACATGGGCGGGGACCCAATTACTGTCATTGA
TGAGATCCGGGACTTGCT
ATACATTGGCAAGGATCGCAAAAACCCAAGGGAGGATTATCTGGATGTCTAT
GTGTTTGGGGTCGGGCCT

TTGGTGAACCAAGTGAACATCAATGCTTTGGCTTCCAAGAAAGACAATGAGC
 AACATGTGTTCAAAGTCA
 AGGATATGGAAAACCTGGAAGATGTTTTCTACCAAATGATTGATGAAAGCCA
 GTCTCTGAGTCTCTGTGG
 CATGGTTTGGGAACACAGGAAGGGTACCGATTACCACAAGCAACCATGGCA
 AGCCAAGATCTCAGTCATT
 CGCCCTTCAAAGGGACACGAGAGCTGTATGGGGGCTGTGGTGTCTGAGTACT
 TTGTGCTGACAGCAGCAC
 ACTGTTTCACTGTGGATGACAAGGAACACTCAATCAAGGTCAGCGTAGGAGG
 GGAGAAGCGGGACCTGGA
 GATAGAAGTAGTCCTATTTACCCCAACTACAACATTAATGGGAAAAAAGCA
 GCAGGAATTCCTGAATTT
 TATGACTATGACGTTGCCCTGATCAAGCTCAAGAATAAGCTGAAATATGGCC
 AGACTATCAGGCCCATTT
 GTCTCCCCTGCACCGAGGGAACAACCTCGAGCTTTGAGGCTTCCTCCAACCTACC
 ACTTGCCAGCAACAAAA
 GGAAGAGCTGCTCCCTGCACAGGATATCAAAGCTCTGTTTGTGTCTGAGGAG
 GAGAAAAAGCTGACTCGG
 AAGGAGGTCTACATCAAGAATGGGGATAAGAAAGGCAGCTGTGAGAGAGAT
 GCTCAATATGCCCCAGGCT
 ATGACAAAGTCAAGGACATCTCAGAGGTGGTCACCCCTCGGTTTCCTTTGTACT
 GGAGGAGTGAGTCCCTA
 TGCTGACCCCAATACTTGCAGAGGTGATTCTGGCGGCCCTTGATAGTTCACA
 AAAGAAGTCGTTTCATT
 CAAGTTGGTGTAAATCAGCTGGGGAGTAGTGGATGTCTGCAAAAACCAGAAGC
 GGCAAAAGCAGGTACCTG
 CTCACGCCCGAGACTTTCACATCAACCTCTTTCAAGTGCTGCCCTGGCTGAAG
 GAGAAACTCCAAGATGA
 GGATTTGGGTTTTCTATAAGGGGT

SEQ ID NO:6 - *Macaca fascicularis*, фактор комплемента B

>ENSMUP00000000985 [МФНК] локус=scaffold3881:47830:53620:-

ATGGGGAGCAGTCTCAGCCCCAGCTCTACCTGATGCCCTTCATCTTGGG
 CCTCTTATCTGCAGGTGTGACCACCACTCCATTGTCTTCGGCCCAGCCTC
 AAGGATCCTGCTCTCTGGAGGGGGTAGAGATCAAAGGTGGCTCCTTCCGA
 CTCTCCAAGAGGGCCAGGCACTGGAATACGTGTGTCCTTCTGGCTTCTA
 CCCGTACCCTGTGCAGACACGTACCTGCAGATCCACGGGGTCCTGGAGCA
 CCCTGCAGACTCAAGATCGAAAACTGTCAAGAAGGCAGAGTGCAGAGCA
 ATCCGCTGTCCACGACCACAGGACTTCGAGAACGGGGAATACCGGCCCCG
 GTCTCCCTACTACAATGTGAGTGATGAGATCTTTTCCACTGCTATGACG
 GTTACACTCTCCGGGGCTCTGCCAATCGCACCTGCCAAGTGAATGGCCGG

TGGAGTGGGCAGACAGCGATCTGTGACAACGGAGCGGGGTACTGCTCCAA
 CCCAGGCATCCCCATTGGCACAAGGAAGGTGGGCAGCCGGTACCGCCTTG
 AAGACAGCGTCACCTACCACTGCAGCCGGGGGCTTACCCTGCGTGGCTCC
 CAGCGGCGAACATGTCAGGAAGGTGGCTCTTGGAGCGGGACGGAGCCTTC
 CTGCCAAGACTCCTTCATGTACGACACCCCTCAAGAGGTGGCCGAAGCTT
 TCCTGTCTTCCCTGACGGAGACCATAGAAGGAGTCGATGCCGAGGATGGG
 CACAGCCCAGGGGAACAACAGAAGCGGAGGATCATCCTAGACCCTTCAGG
 CTCCATGAACATCTACCTGGTGCTAGATGGATCAGACAGCATTGGGGCCG
 GCAACTTCACAGGAGCCAAAAAGTGTCTAGTCAACTTAATTGAGAAGGTG
 GCAAGTTATGGTGTGAAGCCAAGATATGCTCTAGTGACATATGCCACATA
 CCCCAGAATTTGGGTCAAAGTGTCTGACCAAGAGAGCAGCAATGCAGACT
 GGGTCACGAAGAAGCTCAGTGAAATCAATTATGAAGACCACAAGTTGAAG
 TCAGGGACTAACACCAAGAGGGCCCTCCAGGCAGTGTACAGCATGATGAG
 TTGGCCAGAGGACATCCCTCCTGAAGGCTGGAACCGCACCCGCCATGTCA
 TCATCCTCATGACCGATGGATTGCACAACATGGGCGGGGACCCAATTACT
 GTCATTGATGAGATCCGGGACTTGTTATACATCGGCAAGGATCGTAAAAA
 CCCGAGGGAGGATTATCTGGATGTCTATGTGTTTGGGGTTGGACCTTTGG
 TGGACCAAGTGAACATCAATGCTTTGGCTTCCAAGAAAGACAATGAGCAA
 CATGTGTTCAAAGTCAAGGATATGGAAAACCTGGAAGACGTTTTTCTTCCA
 AATGATTGATGAAAGCCAGTCTCTGAGTCTCTGTGGCATGGTTTGGGAAC
 ACACGACGGGTACCGATTACCACAAGCAACCATGGCAGGCCAAGATCTCA
 GTCACTCGCCCTTCGAAGGGACATGAGAGCTGTATGGGGGCTGTGGTGTC
 TGAGTACTTTGTGCTGACAGCAGCACATTGTTTTACTGTGGACGACAAGG
 AACACTCGATCAAGGTCAGCGTGGGGAAGAAGCGGGACCTGGAGATAGAA
 AAAGTCCTATTTACCCCGACTACAACATTAGCGGGAAAAAAGAAGCAGG
 AATTCCTGAATTTTATGACTATGACGTTGCCCTGATCAAGCTCAAGAATA
 AGTTGAATTATGACCCGACTATCAGGCCATTTGTCTCCCTGCACCGAG
 GGAACAACCTCGAGCTTTGAGGCTTCCCTCCAACCTACCACTTGCCAGCAACA
 GAAGGAAGAGCTGCTCCCTGCACAGGATATCAAAGCTCTGTTTGTGTCTG
 AGGAGGAGAAGAAGCTGACTCGGAAGGAGGTCTACATCAAGAATGGGGAT
 AAGAAAGGCAGCTGTGAGAGAGATGCTCAATATGCCCCAGGCTATGACAA
 AGTCAAGGACATCTCCGAGGTGGTCACCCCTCGGTTCCCTTTGTAAGGAG
 GAGTGAGTCCCTATGCTGACCCCAATACTTGCAGAGGTGATTCTGGCGGC
 CCCTTGATAGTTCACAAGAGAAGTCGTTTTATTCAAGTTGGTGTTCATCAG
 CTGGGGAGTAGTGGATGTCTGCAAAAACCAGAAGCGGCAAAAGCAGGTAC
 CTGCTCACGCCCGAGACTTTCACGTCAACCTCTTCCAAGTGCTGCCCTGG
 CTGAAGGAGAACTCCAAGATGAGGATTTGGGTTTTTCTC

SEQ ID NO:7

>gi|544428919|ref|XM_005553440.1| ПРОГНОЗИРОВАНО: *Macaca fascicularis*,
 фактор комплемента В (CFB), вариант X1 транскрипта, мРНК

ATTTCTGGTCCCTAAGTGGGTGGTCTGGGCTTGTTGGGGAGGAGCTGAGGCC
AGAAGGAGGTACTGAAGG
GGAGAGTCCTGGACCTTGGGCAGCAAAGGGTGGGACTTCTGCAGTTTCTGCT
TCCTTGACTGGCAGCTCA
GCGGGGCCCTCCCGCTTGGATGTTCCGGGAAAGTGATGAGGGTAGGACAGGC
GGGGCAAGCTGCAGGTGC
CAGAACACAGATTGCATAAAAGGCCGGGAGCTGGTGGGGGGCAGGGGAAGG
GAATGTGACCAGGTCTAGG
TCTGGAGTTTCAGCTTGGACACTGAGCTAAGTAGACAAGCAAAACAAGCCAG
GACACGCCATCCTGCCCC
AGGCCAGCTTCTCTCCTGCCTTCTAACGCCATGGGGAGCAGTCTCAGCCCC
AGCTCTACCTGATGCC
TTCATCTTGGGCCTCTTATCTGCAGGTGTGACCACCACTCCATTGTCTTCGGC
CCAGCCTCAAGGATCCT
GCTCTCTGGAGGGGGTAGAGATCAAAGGTGGCTCCTTCCGACTTCTCCAAGA
GGGCCAGGCACTGGAATA
CGTGTGTCCTTCTGGCTTCTACCCGTACCCTGTGCAGACACGTACCTGCAGAT
CCACGGGGTCCTGGAGC
ACCCTGCAGACTCAAGATCGAAAACTGTCAAGAAGGCAGAGTGCAGAGCA
ATCCGCTGTCCACGACCAC
AGGACTTCGAGAACGGGGAATAACCGGCCCCCGGTCTCCCTACTACAATGTGAG
TGATGAGATCTCTTTCCA
CTGCTATGACGGTTACACTCTCCGGGGCTCTGCCAATCGCACCTGCCAAGTGA
ATGGCCGGTGGAGTGGG
CAGACAGCGATCTGTGACAACGGAGCGGGGTACTGCTCCAACCCAGGCATCC
CCATTGGCACAAGGAAGG
TGGGCAGCCGGTACCGCCTTGAAGACAGCGTCACCTACCACTGCAGCCGGGG
GCTTACCCTGCGTGGCTC
CCAGCGGCGAACGTGTCAGGAAGGTGGCTCTTGGAGCGGGACGGAGCCTTCC
TGCCAAGACTCCTTCATG
TACGACACCCCTCAAGAGGTGGCCGAAGCTTTCCTGTCTTCCCTGACGGAGA
CCATAGAAGGAGTCGATG
CCGAGGATGGGCACAGCCCAGGGGAACAACAGAAGCGGAGGATCATCCTAG
ACCCTTCAGGCTCCATGAA
CATCTACCTGGTGTAGATGGATCAGACAGCATTGGGGCCGGCAACTTCACA
GGAGCCAAAAAGTGTCTA
GTCAACTTAATTGAGAAGGTGGCAAGTTATGGTGTGAAGCCAAGATATGCTC
TAGTGACATATGCCACAT
ACCCAGAATTTGGGTCAAAGTGTCTGACCAAGAGAGCAGCAATGCAGACTG
GGTCACGAAGAAGCTCAG

TGAAATCAATTATGAAGACCACAAGTTGAAGTCAGGGACTAACACCAAGAG
GGCCCTCCAGGCAGTGTAC
AGCATGATGAGTTGGCCAGAGGACATCCCTCCTGAAGGCTGGAACCGCACCC
GCCATGTCATCATCCTCA
TGACCGATGGATTGCACAACATGGGCGGGGACCCAATTACTGTCATTGATGA
GATCCGGGACTTGTTATA
CATCGGCAAGGATCGCAAAAACCCGAGGGAGGATTATCTGGATGTCTATGTG
TTTGGGGTTGGACCTTTG
GTGGACCAAGTGAACATCAATGCTTTGGCTTCCAAGAAAGACAATGAGCAAC
ATGTGTTCAAAGTCAAGG
ATATGGAAAACCTGGAAGACGTTTTTCTTCCAATGATTGATGAAAGCCAGTC
TCTGAGTCTCTGTGGCAT
GGTTTGGGAACACACGACGGGTACCGATTACCACAAGCAACCATGGCAGGCC
AAGATCTCAGTCACTCGC
CCTTCGAAGGGACATGAGAGCTGTATGGGGGCTGTGGTGTCTGAGTACTTTG
TGCTGACAGCAGCACATT
GTTTTACTGTGGACGACAAGGAACACTCGATCAAGGTCAGCGTGGGGAAGAA
GCGGGACCTGGAGATAGA
AAAAGTCCTATTTACCCCGACTACAACATTAGCGGGAAAAAAGAAGCAGG
AATTCCTGAATTTTATGAC
TATGACGTTGCCCTGATCAAGCTCAAGAAAAAGTTGAATTATGACCCGACTA
TCAGGCCCATTTGTCTCC
CCTGTACCGAGGGAACAACACTCGAGCTTTGAGGCTTCCTCCAACACTACCACTTGC
CAGCAACAGAAGGAAGA
GCTGCTCCCTGCACAGGATATCAAAGCTCTGTTTGTGTCTGAGGAGGAGAAG
AAGCTGACTCGGAAGGAG
GTCTACATCAAGAATGGGGATAAGAAAGGCAGCTGTGAGAGAGATGCTCAA
TATGCCCCAGGCTATGACA
AAGTCAAGGACATCTCGGAGGTGGTCACCCCTCGGTTCTTTGTACTGGAGG
AGTGAGTCCCTATGCTGA
CCCCAATACTTGCAGAGGTGATTCTGGCGGCCCTTGATAGTTCACAAGAGA
AGTCGTTTCATTCAAGTT
GGTGTTCATCAGCTGGGGAGTAGTGGATGTCTGCAAAAACCAGAAGCGGCAA
AAGCAGGTACCTGCTCACG
CCCGAGACTTTCACGTCAACCTCTTCCAAGTGCTGCCCTGGCTGAAGGAGAA
ACTCCAAGATGAGGATTT
GGGTTTTCTCTAAGGGGTTTCTTGCTGGACAGGGGCGCGGGATTGAATTAAA
ACAGCTGCGACAACA

SEQ ID NO:8

Последовательность, обратно комплементарная SEQ ID NO:1

TGTTGTCGCAGCTGTTTTAATTCAATCCCACGCCCTGTCCAGCAGGAAACCC
CTTATAGAAAACCCAAATCCTCATCTTGGAGTTTCTCCTTCAGCCAGGGCAGCACTT
GAAAGAGGTTGATGTGAAAGTCTCGGGCGTGAGCAGGTACCTGCTTTTGCCGCTTCT
GGTTTTTGCAGACATCCACTACTCCCCAGCTGATTACACCAACTTGAATGAAACGAC
TTCTCTTGTGAACTATCAAGGGGCCGAGAAATCACCTCTGCAAGTATTGGGGTCAG
CATAGGGACTCACTCCTCCAGTACAAAGGAACCGAGGGGTGACCACCTCTGAGATG
TCCTTGACTTTGTGCATAGCCTGGGGCATATTGAGCATCTCTCTCACAGCTGCCTTTCT
TATCCCCATTCTTGATGTAGACCTCCTTCCGAGTCAGCTTTTTCTCCTCCTCAGACAC
AAACAGAGCTTTGATATCCTGTGCAGGGAGCAGCTCTTCCTTTTGTGCTGGCAAGT
GGTAGTTGGAGGAAGCCTCAAAGCTCGAGTTGTTCCCTCGGTGCAGGGGAGACAAA
TGGGCCTGATAGTCTGGCCATATTTAGCTTATTCTTGAGCTTGATCAGGGCAACGT
CATAGTCATAAAATTCAGGAATTCCTGCTTCTTTTTTCCATTAATGTTGTAGTTGGG
GTGAAATAGGACTACTTCTATCTCCAGGTCCCGCTTCTCCCTCCTACGCTGACCTTG
ATTGAGTGTTCCCTTGTGCATCCACAGTGAAACAATGTGCTGCTGTCAGCACAAAGTAC
TCAGACACCACAGCCCCATACAGCTCTCGTGTCCCTTTGAAGGGCGAATGACTGAG
ATCTTGGCCTGCCATGGTTGCTTGTGGTAATCGGTACCCTTCCCTGTGTTCCCAAACCA
TGCCACAGAGACTCAGAGACTGGCTTTCATCGATCATTTGGTAGAAAACATCTTCCA
GGTTTTCCATATCCTTGACTTTGAACACATGTTGCTCATTGTCTTTCTTGGAAGCCAA
AGCATTGATGTTCACTTGGTTCACCAAAGGCCCGACCCCAAACACATAGACATCCAG
ATAATCCTCCCTTGGGTTTTTGCATCCTTGCCAATGTATAGCAAGTCCCGGATCTCA
TCAATGACAGTAATTGGGTCCCCGCCATGTTGTGCAATCCATCAGTCATGAGGATG
ATGACATGGCGGGTGCAGTTCCAGCCTTCAGGAGGGACGTCATCTGGCCAGCTCATC
ATGCTGTACACTGCCTGGAGGGCCTTCTTGGTGTTAGTCCCTGACTTCAACTTGTGGT
CTTCATAATTGATTTCAATTGAGCTGCTTCGTGACCCAGTCTGCATTACTGCTGTCTGC
TTCAGACACTTTGACCCAAATTTTGGGGTATGTGGCATATGTCACTAGACCATATCT
TGGCTTCACACCATAACTTGCCACCTTCTCAATTAAGTTGACTAGACACTTTTTGGCT
CCTGTGAAGTTGCTGGCCCCAATGCTGTCTGATCCATCTAGCACCAGGTAGATGTTT
ATGGAGCCTGAAGGGTCCAGGACGATCTTCCGCTTCTGTTGTTCCCTGGGCCGTGC
CCATCCTCAGCATCGACTCCTTCTATGGTCTCTGTCAGGGAAGACAGGAAAGCTTCG
GCCACCTCTTGAGGGGTGTCGTACATGAAGGAGTCTTGGCAGGAAGGCTCCGTCCC
GCTCCAAGAGCCACCTTCCCTGACACGTTCCGCCCTGGGAGCCACGCAGGGTAAGCC
CCCGGCTGCAGTGGTAGGTGACGCTGTCTTCAAGGCGGTACTGGCTGCCACCTTCC
TTGTGCCAATGGGGATGCCCGGGTTGGAGCAGTACCCCGCTCCGTTGTCACAGATCG
CTGTCTGCCACTCCATCGGCCATTCATTGGCAGGTGCGATTGGCAGAGCCCCGGA
GAGTGTAACCGTCATAGCAGTGGAAGAGATCTCATCACTCACATTGTAGTAGGGA
GACCGGGGCCAGTATTTCCCGTTCTCGAAGTCGTGTGGTCTTGGACAGTGGATTGCT
CTGCACTCTGCCTTCCCTGACAGTCTTTTGGTCTTGGAGTCTTCAAGGGTGTCCAGGACC
CCGTAGATCTGCAGGTACGTGTCTGCACAGGGTACGGGTAGAAGCCAGAAGGACAC
ACGTAATCCAGTGCCTGGCCCTCTTGGAGAAGTCGGAAGGAGCCGCCTTTGATCTCT
ACCCCTCCAGAGAGCAGGATCCCTGGGGCCGGGCCAAAGACCATGGAGTGGTGGT

CACACCTCCAGACAAGAGGCCCAAGATAAAGGGCATCAGGCAGAGTTGGGGGCTG
 AGATTGCTCCCCATGGCGTTGGAAGGCAGGAGAGAAGCTGGGCCTGGGGCAGGATG
 GTGTGTCCTGGCTTGCTTTGCTTGTCTGCTTGGCTCAGTGTCCAAGCTGAAACTCCAG
 ACCTAGACCTGGTCACATTCCTTCCC

SEQ ID NO:9

Последовательность, обратно комплементарная SEQ ID NO:2

TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGTTATTGTAAGTCTTAACTGTCTTACACTC
 TCCCTGCAGGAAGCTCTTTATAGAAAACCCAAATCCTCATCTTTGAGCTTGTCTTTA
 GCCAGGGCAGCACCTGGAAGAGGTTGATGTGGAAGTCCCGGGCATAAGAGGGTACC
 AGCTGTTGCCGCCTCTGGTCTCTGCAGACATCTACTACTCCCCAGCTAATCACACCA
 ACTTGAATGAAGCGGCTTCTCTTGTGAACAATGAGAGGGCCCCCGGAATCTCCTTTG
 CATGTGTTGGGGTCAGCATAGGGATCCACCCCTCCTGTGCAGAGGAACCGTGGAGT
 GACCACCTCAGAGGCATCTTTGACCTTCTCATAGCCTTGGGCCTTTGTAGCATCTCTC
 TCACAACCTGGCTTTCTTGTCCCCATTCTTGATGTACACCTCCTTCCGAGTCAGGCTCT
 TCCCTTGCTCAGATACAAACAGAGCTTTGACATCCTTCACAGGGAGCAACTGTTCCCT
 TGTGCTGCTTGCAGGTGGCTGTCTGAGGAAGCCTCAAGGCTCGTGTGGTTCCCTCCG
 TGCAGGGGAGACAGATGGGCCTGAGAGTCTGGCCATACTTGAGCTTGTCTTGAGCT
 TGACTAGGGCCACATCATAATCATAGAACTCAGGGATCCCTTCTGCCTTTTTCCATT
 AATATTGTATTTGGGGTGAACAGGACCTCTCAATCTCCAGGTCCCGCCTCTGACC
 CCCCACGCTGACCTTGATGGAATGTTTCTGATCATCCACCATGAAGCAGTGCCTGTC
 TGTCAGCACGAAGTACTCAGACACCACGGCCCCCATAACAGGTCTCATGTCCTTTCAG
 AGGGCGAGTGACTGAGATCTTGGCTTGCCATGGTTGCTTATGATAATCGTTGCCTTT
 TTTATGCTCCCACACCATGCCACAGAGACTCAGAGATTTGGTTTCATCAATCATTTG
 GTAGAAAACATTCTCCAGGTCTTCCATATCCTTGACTTTAAACACATGATGCTCATT
 GTCCTTTTTGGAAGCTAAGGCATTGATGTTACGGAGTCCACCAGAGGCCCGACCCC
 AAACACATACACATCCAGGTAATCCTCCCTGGGATTTTTGGGATCCCTGCCGATGTC
 CAGCAAGGCTCGGATGTCCTGAATGACAGTGACAGGGTTTCCACCCATGTTGTGCAA
 GCCATCAGTCATAATGATGATGACATGGCGGGTCTATTCCAGCCTTCAGGCGGGGC
 ATCCCCTGCCAGCTCATCATGCTATACACAGCCTGGAGAGCCCTCTTGGTGTGGT
 CCCTGACTTCAGCTTGTGGTCTTCATAACTGATTTGGTTGAGCTTCTCTGTGACCCAG
 TCGGCATCGCTACTCCTCTCATCAGACACTCTGACCAACACTTTGGGGACTGTAGCA
 TATGTCAGGAGACCATATCGTGGCCTCACCCCGTAACTCGCCACCTTCTCAATCAAG
 TTGGTGAGGCACCGCTTAGCCCCTGTGAAGTTGCTGCTTCCGATGCTGTCTGATCCA
 TCTAGCACCAGGTAGATATTCATGGAGCCCGAGGGGTCTAGGACAATCTTCTCTTC
 TGCTGTTCTCCTGGGCTGTGCCCATCCTCAGCATCGGCTCCTTCGATGGTCTCTGTCA
 GGGAGGATAGGAATGCTTCGGCCACTTCTTGAGGGCTGTCATACATGAAGGAATCTT
 GGCAGGAAGGCTCTGTCCCACTCCATGAGCCACCTTCTTGACACTTTCGCTTCTGGG
 AGCCACGCAGGACAAGTCCCCGGCTGCAGTGGTAAGTAACAATGTCTTCAAGGCGG
 TATTGGCTACCCACCTTCTTGTCCCAATAGGAATACCGGGATTGGGACAGTATCCA
 GCTCCATCATCACAATTGCTGTTTGCCCATCCACCGGCCATTCTCTTGGCAGGTGC

GATTAGCAGAGCCCCGGAGAACGTAACCATCATAGCATTGAAAAGAAATCTGGTCA
 CTCAGGTTGTAGAAGGGGGACCGGGGCCAGAATTCCCCATTTTCAAAGTCCTGCGGT
 CGTGGGCAGCGTATTGCTCTGCATTCCGCCTTCTGGACAATCTTTTGGTCTCGGGTCT
 GCAGGTCGCTCCAGGAGCCTGTGGATCTGCAGGTTTCGAGTCTGCACGGGGTATGGG
 TAGAAGCCAGAGGGACATAGGTACTCCAGGGCCTGACCGCCTTGGAGAAGTTGAAA
 GGAGCCGCCTTTGATCTCTACTCCCTCCAGAGAGCAGGAGACTTGGGGCCGGGCCTC
 AAGCACTGGAGTTGCGCTCACACCTCCAGAGGAGAAGCCTAAGACCAAGAGGACGA
 GGCAGAGCTGGGGGCTCTCCATTGTCATGGAAAGCACCAGAGAGTCCAGTGGCCCA
 AAGCCCTCTCCAGGTCCTCTGGGTGCCTATTTGACCTCCTGTCCAAACTGAAACCC
 AAATGCTGGATCTGGCTACACCCCTTTCCCACTGTCCCCTAACCTTTTATGCAATCTG
 CTCTGGCATCTGCAGCCTGGCCAGCCTACCCTGCGCACGCAGCCACTGCTTCCCGGA
 ACATTCATGAAGGAGGGCCCCAGCTGAACTGCCAACTGAGGAAACAGAAACTATGT
 GAGCCCCACCCTTGACTGACCAAGGGCCAGAACTTCCCTTTCAAAGCTCCCTCTTAG
 CCCCCAGACCCCTCCTAACAAGCACAGACCACCACCTCCACTACCCCAATTTAAAA
 GATCAGTCTTTCCATGGACTGTGTGATGGAGC

SEQ ID NO:10

Последовательность, обратно комплементарная SEQ ID NO:3

TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGTATTGTAAGTCTTTAATCTGTCTCACACTC
 TCCCTGCAGGAAGCTCTTTATAGAAAACCCAAATCCTCATCTTTGAGCTTGTCTTTA
 GCCAGGGCAGCACCTGGAAGAGGTTGATGTGGAAGTCCCGGGCATAAGAGGGTACC
 AGCTGTTGCCGCCTCTGGTCTCTGCAGACATCTACTACTCCCCAGCTAATCACACCA
 ACTTGAATGAAGCGGCTTCTCTTGTGAACAATGAGAGGGCCCCCGGAATCTCCTTTG
 CATGTGTTGGGGTCAGCATAGGGATCCACCCCTCCTGTGCAGAGGAACCGTGGAGT
 GACCACCTCAGAGGCATCTTTGACCTTCTCATAGCCTTGGGCCTTTGTAGCATCTCTC
 TCACAACCTGGCTTGTCCCCATTCTTGATGTACACCTCCTTCCGAGTCAGGCTCTTCCC
 TTGCTCAGATACAAACAGAGCTTTGACATCCTTACAGGGAGCAACTGTTCTTGTG
 CTGCTTGCAGGTGGCTGTCTGAGGAAGCCTCAAGGCTCGTGTGGTTCCCTCCGTGCA
 GGGGAGACAGATGGGCCTGAGAGTCTGGCCATACTTGAAGCTTGTCTTGAAGCTTGA
 TAGGGCCACATCATAATCATAGAACTCAGGGATCCCTTCTGCCTTTTCCCATAAT
 ATTGTATTTGGGGTGGAAACAGGACCTCTTCAATCTCCAGGTCCCGCCTCTGACCCCC
 CACGCTGACCTTGATGGAATGTTTCTGATCATCCACCATGAAGCAGTGCCTGTGT
 CAGCACGAAGTACTCAGACACCACGGCCCCCATAAGGTCTCATGTCCTTTCAGAGG
 GCGAGTGACTGAGATCTTGGCTTGCATGGTTGCTTATGATAATCGTTGCCTTTTTTA
 TGCTCCCACACCATGCCACAGAGACTCAGAGATTTGGTTTCATCAATCATTTGGTAG
 AAAACATTCTCCAGGTCTTCCATATCCTTGACTTTAAACACATGATGCTCATTGTCCT
 TTTTGGAAAGCTAAGGCATTGATGTTACGGAGTCCACCAGAGGCCCGACCCCAAAC
 ACATACACATCCAGGTAATCCTCCCTGGGATTTTTTGGGATCCCTGCCGATGTCCAGC
 AAGGCTCGGATGTCCTGAATGACAGTGACAGGGTTTCCACCCATGTTGTGCAAGCCA
 TCAGTCATAATGATGATGACATGGCGGGTTCTATTCCAGCCTTCAGGCGGGGCATCC
 CCTGCCAGCTCATCATGCTATACACAGCCTGGAGAGCCCTCTTGGTGTGGTCCCT

GACTTCAGCTTGTGGTCTTCATAACTGATTTGGTTGAGCTTCTCTGTGACCCAGTCGG
CATCGCTACTCCTCTCATCAGACACTCTGACCAACACTTTGGGGACTGTAGCATATG
TCAGGAGACCATATCGTGGCCTCACCCCGTAACTCGCCACCTTCTCAATCAAGTTGG
TGAGGCACCGCTTAGCCCCTGTGAAGTTGCTGCTTCCGATGCTGTCTGATCCATCTA
GCACCAGGTAGATATTCATGGAGCCCAGGGGTCTAGGACAATCTTCTCTTCTGCT
GTTCTCCTGGGCTGTGCCATCCTCAGCATCGGCTCCTTCGATGGTCTCTGTCAGGGA
GGATAGGAATGCTTCGGCCACTTCTTGAGGGCTGTCATACATGAAGGAATCTTGGCA
GGAAGGCTCTGTCCCACTCCATGAGCCACCTTCTTGACACTTTCGCTTCTGGGAGCC
ACGCAGGACAAGTCCCCGGCTGCAGTGGTAAGTAACAATGTCTTCAAGGCGGTATT
GGCTACCCACCTTCTTGTCCCAATAGGAATACCGGGATTGGGACAGTATCCAGCTC
CATCATCACA AATTGCTGTTTGCCCATCCCACCGGCCATTCTCTTGGCAGGTGCGATT
AGCAGAGCCCCGGAGAACGTAACCATCATAGCATTGAAAAGAAATCTGGTCACTCA
GGTTGTAGAAGGGGGACCGGGGCCAGAATTCCCCATTTTCAAAGTCTGCGGTCTG
GGGCAGCGTATTGCTCTGCATTCCGCCTTCTGGACAATCTTTTGGTCTCGGGTCTGCA
GGTCGCTCCAGGAGCCTGTGGATCTGCAGGTTGAGTCTGCACGGGGTATGGGTAG
AAGCCAGAGGGACATAGGTACTCCAGGGCCTGACCGCCTTGGAGAAGTTGAAAGGA
GCCGCCTTTGATCTCTACTCCCTCCAGAGAGCAGGAGACTTGGGGCCGGGCCTCAAG
CACTGGAGTTGCGCTCACACCTCCAGAGGAGAAGCCTAAGACCAAGAGGACGAGGC
AGAGCTGGGGGCTCTCCATTGTCATGGAAAGCACCAGAGAGTCCAGTGGCCCAAAG
CCCTCTCCAGGTCACTCTGGGTGCCTATTTGACCTCCTGTCCAAACTGAAACCCAAA
TGCTGGATCTGGCTACACCCCTTTCCCACTGTCCCCTAACCTTTTATGCAATCTGCTC
TGGCATCTGCAGCCTGGCCAGCCTACCCTGCGCACGCAGCCACTGCTTCCCGGAACA
TTCATGAAGGAGGGCCCCAGCTGAACTGCCAACTGAGGAAACAGAACTATGTGAG
CCCCACCCTTGACTGACCAAGGGCCAGA ACTTCCCTTTCAAAGCTCCCTCTTAGCCC
CCAGACCCCTCCTAACAAAGCACAGACCACCACCTCCACTACCCCAATTTAAAAGAT
CAGTCTTTCCATGGACTGTGTGATGGAGC

SEQ ID NO:11

Последовательность, обратно комплементарная SEQ ID NO:4

TTTTTTTTTTTTTTTTTTGTATTTGTATTGTAGCTGCTTTAATCTGCCCTCACCTC
CCAGCAGGAAGCTCCTTATAAGAAACCAAGTCCTCGTCTTTGAGCTTCTCCTTTAG
CCAGGGCAGCACCTGGAAGAGATTGATGTGGAAGTCCCGGGCATAGGAGGGCACCA
ACTGTTGCCGCCTCGGGTCTTTGCAGACATCCACTACTCCCCAGCTGATCACACCAA
CTTGAATGAAGCGGCTTCTCTTGTGAACAATGAGAGGGCCCCCGGAGTCTCCTTTGC
ATGTGTTGGGGTCAGCATAGGGATCTACCCCTCCGGTGCACAGGAACCTGGGGGTG
ACCACCTCAGAGGCAACTTTGACCTTCTCATAGCCTTGGGCCTTTGTAGCATCTCTCT
CACA ACTGGCTTTCTTTTCCCCATTCTTGATGTACACCTCCTTCCGGGTCAGCTTCTT
CCCTTCTCGGATACAAACAGAGCTTTGACGTCCTTCATAGGGAGCAACTCTTCCTT
GTGCTGTTTGCAGGTGGCTGTCTGAGGAAGCCGCAAGGCTCGGGTGGTTCCCTCTGT
GCAGGGGAGACAGATGGGCCTGAGAGTCTGGCTGTACTTCAGCTTGGTCTTGAGCTT
GATGAGGGCAACATCATAGTCATAGA ACTCAGAGATTCTTCTGCCTTTTTCCATT

GATGTCGTAATTAGGGTGGAAACAGGACCTCTTCAATCTCCAGGTCCCGCCTTTTCCC
 CTCCACGTTGACCTTGATGGAGTGTTTCTGATCTTCCACTGTGAAGCAATGCGCTGCT
 GTCAGCACGAAGTACTCGGACACCACGGCCCCATAACAGTTCTCATGTCCTTTTTCAGA
 GGACGAGTGACTGAGATCTTGGCTTGCCATGGTTGCTTGTAAATAATCACCGCCTTTC
 TGATGCTCCCACACCATGCCACAGAGACCCAGAGATTTGGTTTCATCGATCATTTTG
 TAGAAGACGTTCTCCAGATCCTCCATGTCCTTGACCTTGAACACATGCTGCTCATTGT
 TCTTTTTGGAAGCCAAGGCATTGATGTTACAGGGTCCACCAGAGGCCCGACCCCAA
 ACACATACACATCCAAATAATCCTCCCAGGGATTTTTGCGATCCCTGCCAATATCCA
 GCAAGTCTCGGATGTCCTCAATGACAGTGACAGGGTCTCCACCCATGTTGTGCAAGC
 CATCAGTCATGATGATGATGACGTGGCGGGTTCGATTCCAGCCTTCAGGCGGAGCAT
 CCCCTGGCCAGCTCATCATGCTGTATACAGCCTGGAGAGCCTTCTTGGTGTGGTCC
 CTGACTTCAGCTTGTGGTCTTCATAACTGATTTGGTTGAGCTTCTCTGTGACCCAGTC
 GGCATCACTACTCCTCTCCTCAGACACTCTGACCAAGACTTTGGGGACTGTGGCATA
 TGTCACTAGACCGTATCTTGGCTTCACCCATAACTCGCCACCTTCTCAATCAAGTTG
 GCGAGACACCGCTTGGCCCCTGTGAAGTTGCTGGCCCCGATGCTGTGCGGATCCATCC
 AGCACCATGTAGATATTCATGGAGCCCGAGGGGTCCAGGATAATCTTCCTCTTCTGC
 TGTTCCCCTGGGCTGTGCCATCCTCCGCATCTGCTCCTTCGATGGTCTCTGTCAGGG
 AGGATAGAAATGCTTCGGCCACCTCTTGAGGGCTGTCGTACATGAAGGAATCTTGGC
 AGGAAGGCTCTGTCCACTCCACGAGCCACCTTCCTGGCACCTTCGCTGCTGGGAGC
 CACGTAGGACAAGTCCCCGACTACAGTGGTAAGTGACAGTGTCTTCAAGACGGTAC
 TGGCTTCCCACCTTCCTTGTCCCAATAGGAATACCCGGGTTGGGACAGTATCCCGCT
 CCATCATCACAGATTGCTGTTTGCCATCCCACCGGCCATTCTCTTGGCAGGTGCGA
 TTAGCAGAGCCCCGGAGAGTGTAGCCATCATAGCATTGAAAAGAAATCTGATCACT
 CAGGTTGTAGTAGGGGGACCGGGGCCAGAACTCCCCATTTTCAAAGTCCTGTGGTCCG
 TGGGCAGCGTATTGCTCTGCATTCTGCCTTCTTGACAATCTTTTGGTCCCAGGGTCTGG
 AGGACACTCCAGGAGCCTGTGGATTTGCAGGTTTCGAGTCTGCACAGGGTATGGGTA
 GAAGCCAGAGGGACACAGGTAAGTCCAGGGCCTGACCGTCTTGGAGAAGTTGGAAGG
 AGCCGCCTTTGATCTCTACTCCCTCCAGAGAGCAAGAGACCTGGGGCCGGGCCTCAA
 GCACTGGAGTTGCGCTCACACCTCCGGAGGAGAGGCCTAAGACCAAGAGGACTAAG
 CAGAGCTGGGGACCCTCCATTGTCATGGAAAGCCCGTGGCCAAAAGCCCTTTCCAGT
 TCACTCTGGGTGGCTACTTGACTIONGCTGTCCAGACTGAAACTCCAGTGTGGATCTG
 GCTACACCCTTTCCCACCGGCCCTAACCTTTTATGCAATCTGCTCTGGCACCTGCA
 GCCTGGCCAACTACCCTGCACAGACGCTGCTTCCCAGAACATTCATGAAGGAGGG
 CCCCTGCTG

SEQ ID NO:12

Последовательность, обратно комплементарная SEQ ID NO:5

ACCCCTTATAGAAAACCCAAATCCTCATCTTGGAGTTTCTCCTTCAGCCAGGG
 CAGCACTTGAAAGAGGTTGATGTGAAAGTCTCGGGCGTGAGCAGGTACCTGCTTTTG
 CCGCTTCTGGTTTTTGCAGACATCCACTACTCCCAGCTGATTACACCAACTTGAATG
 AAACGACTTCTTTTGTGAACTATCAAGGGGCCGACAGAAATCACCTCTGCAAGTATTG

GGGTCAGCATAGGGACTCACTCCTCCAGTACAAAGGAACCGAGGGGTGACCACCTC
TGAGATGTCCTTGACTTTGTCATAGCCTGGGGCATATTGAGCATCTCTCTCACAGCT
GCCTTTCTTATCCCCATTCTTGATGTAGACCTCCTTCCGAGTCAGCTTTTTCTCCTCCT
CAGACACAAACAGAGCTTTGATATCCTGTGCAGGGAGCAGCTCTTCCTTTTGTGCT
GGCAAGTGGTAGTTGGAGGAAGCCTCAAAGCTCGAGTTGTTCCCTCGGTGCAGGGG
AGACAAATGGGCCTGATAGTCTGGCCATATTTAGCTTATTCTTGAGCTTGATCAGG
GCAACGTCATAGTCATAAAATTCAGGAATTCCTGCTGCTTTTTTCCCATTAATGTTGT
AGTTGGGGTGAAATAGGACTACTTCTATCTCCAGGTCCCGCTTCTCCCCTCCTACGCT
GACCTTGATTGAGTGTTCCTTGTCATCCACAGTGAAACAGTGTGCTGCTGTCAGCAC
AAAGTACTCAGACACCACAGCCCCATACAGCTCTCGTGTCCCTTTGAAGGGCGAAT
GACTGAGATCTTGCTTGCCATGGTTGCTTGTGGTAATCGGTACCCTTCTGTGTTCC
CAAACCATGCCACAGAGACTCAGAGACTGGCTTTCATCAATCATTGGTAGAAAAC
ATCTTCCAGGTTTTCCATATCCTTGACTTTGAACACATGTTGCTCATTGTCTTTCTTGG
AAGCCAAAGCATTGATGTTCACTTGGTTCACCAAAGGCCCGACCCCAAACACATAG
ACATCCAGATAATCCTCCCTTGGGTTTTTGCATCCTTGCCAATGTATAGCAAGTCCC
GGATCTCATCAATGACAGTAATTGGGTCCCCGCCATGTTGTGCAATCCATCAGTCA
TGAGGATGATGACATGGCGGGTGCGGTCCAGCCTTCAGGAGGGATGTCATCTGGC
CAGCTCATCATGCTGTACACTGCCTGGAGGGCCTTCTTGGTGTTAGTCCCTGACTTCA
ACTTGTGGTCTTCATAATTGATTTCACTGAGCTGCTTCGTGACCCAGTCTGCATTACT
GCTGTCTGGATCAGACACTTTGACCCAAATTTTGGGGTGTGTGGCATATGTCACTAG
ACCATATCTTGGCTTCACACCATAACTTGCCACCTTCTCAATTAAGTTGACTAGACA
CTTTTTGGCTCCTGTGAAGTTGCTGGCCCCAATGCTGTCTGATCCATCTAGCACCAGG
TAGATGTTTATGGAGCCTGAAGGGTCCAGGACGATCTTCCGCTTCTGTTGTTCCCCT
GGGCCGTGCCATCCTCAGCATCGACTCCTTCTATGGTCTCTGTCAGGGAAGACAGG
AAAGCTTCGGCCACCTCTTGAGGGGTGTCGTACATGAAGGAGTCTTGGCAAGAAGG
CTCCGTCCCGCTCCAAGAGCCACCTTCTGACACGTTCCCGCTGGGAGCCACGCAG
GGTAAGCCCCGGCTGCAGTGGTAGGTGACGCTGTCTTCAAGGCGGTACTGGCTGCC
CACCTTCTTGTGCCAATGGGGATGCCCGGGTGGAGCAGTACCCCGCTCCGTTGTC
ACAGATCGCTGTCTGCCACTCCACCGGCCATTCACTTGGCAGGTGCGATTGGCAGA
GCCCCGGAGAGTGTAACCGTCATAGCAGTGGAAAGAGATCTCATCACTCACATTGT
AGTAGGGAGACCGGGGCCAGTATCCCCGTTCTCGAAGTCGTGTGGTCTTGGACAGT
GGATTGCTCTGCACTCTGCCTTCTGACAGTCTTTTGGACTTGAGTCTTCAGGGTGCT
CCAGGACCCCGTAGATCTGCAGGTACGTGTCTGCACAGGGTACGGGTAGAAGCCAG
AAGGACACACGTA CTCCAGTGCCTGGCCCTCTTGGAGAAGTCGGAAGGAGCCGCCT
TTGATCTTACCCCTCCAGAGAGCAGGATTCCTGGGGCTGGGCCAAAGGCCATGG
AGTGGTGGTCACACCTCCAGACAAGAGGCCCAAGATGAAGGGCATCAGGCAGAGTT
GGGGGCTGAGATTGCTCCCCATGGCGTTGGAAGGCAGGAGAGAAGCTGGGCCTGGG

SEQ ID NO:13

Последовательность, обратно комплементарная SEQ ID NO:6

GAGAAAACCCAAATCCTCATCTTGGAGTTTCTCCTTCAGCCAGGGCAGCACTT

GGAAGAGGTTGACGTGAAAGTCTCGGGCGTGAGCAGGTACCTGCTTTTGCCGCTTCT
GGTTTTTGCAGACATCCACTACTCCCCAGCTGATGACACCAACTTGAATAAAACGAC
TTCTCTTGTGAAGTATCAAGGGGCCGAGAAATCACCTCTGCAAGTATTGGGGTCAG
CATAGGGACTCACTCCTCCAGTACAAAGGAACCGAGGGGTGACCACCTCGGAGATG
TCCTTGACTTTGTGCATAGCCTGGGGCATATTGAGCATCTCTCTCACAGCTGCCTTTCT
TATCCCCATTCTTGATGTAGACCTCCTTCCGAGTCAGCTTCTTCTCCTCCTCAGACAC
AAACAGAGCTTTGATATCCTGTGCAGGGAGCAGCTCTTCTTCTGTTGCTGGCAAGT
GGTAGTTGGAGGAAGCCTCAAAGCTCGAGTTGTTCCCTCGGTGCAGGGGAGACAAA
TGGGCCTGATAGTCGGGTCATAATTCAACTTATTCTTGAGCTTGATCAGGGCAACGT
CATAGTCATAAAATTCAGGAATTCCTGCTTCTTTTTTCCCGCTAATGTTGTAGTCGGG
GTGAAATAGGACTTTTTCTATCTCCAGGTCCCGCTTCTTCCCCACGCTGACCTTGATC
GAGTGTTCCCTGTGCGTCCACAGTAAAACAATGTGCTGCTGTCAGCACAAAGTACTCA
GACACCACAGCCCCATAACAGCTCTCATGTCCCTTCGAAGGGCGAGTGACTGAGATC
TTGGCCTGCCATGGTTGCTTGTGGTAATCGGTACCCGTCGTGTGTTCCCAAACCATG
CCACAGAGACTCAGAGACTGGCTTTCATCAATCATTTGGAAGAAAACGTCTTCCAGG
TTTTCCATATCCTTGACTTTGAACACATGTTGCTCATTGTCTTTCTTGGAAGCCAAAG
CATTGATGTTCACTTGGTCCACCAAAGGTCCAACCCCAAACACATAGACATCCAGAT
AATCCTCCCTCGGGTTTTTACGATCCTTGCCGATGTATAACAAGTCCCGGATCTCATC
AATGACAGTAATTGGGTCCCCGCCCATGTTGTGCAATCCATCGGTTCATGAGGATGAT
GACATGGCGGGTGCAGTTCAGCCTTCAGGAGGGATGTCCTCTGGCCAACTCATCAT
GCTGTACACTGCCTGGAGGGCCCTCTTGGTGTAGTCCCTGACTTCAACTTGTGGTCT
TCATAATTGATTTCACTGAGCTTCTTCGTGACCCAGTCTGCATTGCTGCTCTTTGGT
CAGACACTTTGACCCAAATTCTGGGGTATGTGGCATATGTCACTAGAGCATATCTTG
GCTTCACACCATAACTTGCCACCTTCTCAATTAAGTTGACTAGACACTTTTTGGCTCC
TGTGAAGTTGCCGGCCCCAATGCTGTCTGATCCATCTAGCACCAGGTAGATGTTTCAT
GGAGCCTGAAGGGTCTAGGATGATCCTCCGCTTCTGTTGTTCCCTGGGCTGTGCC
ATCCTCGGCATCGACTCCTTCTATGGTCTCCGTCAGGGAAGACAGGAAAGCTTCGGC
CACCTCTTGAGGGGTGTCGTACATGAAGGAGTCTTGGCAGGAAGGCTCCGTCCCGCT
CCAAGAGCCACCTTCTGACATGTTCCGCGCTGGGAGCCACGCAGGGTAAGCCCC
GGCTGCAGTGGTAGGTGACGCTGTCTTCAAGGCGGTACCGGCTGCCACCTTCTTG
TGCCAATGGGGATGCCTGGGTTGGAGCAGTACCCCGCTCCGTTGTACAGATCGCTG
TCTGCCCACTCCACCGGCCATTCATTGGCAGGTGCGATTGGCAGAGCCCCGGAGAG
TGTAACCGTCATAGCAGTGGAAGAGATCTCATCACTCACATTGTAGTAGGGAGAC
CGGGGCCGGTATCCCCGTTCTCGAAGTCCTGTGGTTCGTGGACAGCGGATTGCTCTG
CACTCTGCCTTCTTGACAGTTTTTTCGATCTTGAGTCTGCAGGGTGTCCAGGACCCCCG
TGGATCTGCAGGTACGTGTCTGCACAGGGTACGGGTAGAAGCCAGAAGGACACACG
TATCCAGTGCCTGGCCCTCTTGAGAAAGTCGGAAGGAGCCACCTTTGATCTCTACC
CCCTCCAGAGAGCAGGATCCTTGAGGCTGGGCCGAAGACAATGGAGTGGTGGTCAC
ACCTGCAGATAAGAGGCCCAAGATGAAGGGCATCAGGTAGAGCTGGGGGCTGAGA
CTGCTCCCCAT

SEQ ID NO:14

Последовательность, обратно комплементарная SEQ ID NO:7

TGTTGTCGCAGCTGTTTTAATTCAATCCCGCGCCCCTGTCCAGCAGGAAACCC
CTTAGAGAAAACCCAAATCCTCATCTTGGAGTTTCTCCTTCAGCCAGGGCAGCACTT
GGAAGAGGTTGACGTGAAAGTCTCGGGCGTGAGCAGGTACCTGCTTTTGCCGCTTCT
GGTTTTTGCAGACATCCACTACTCCCCAGCTGATGACACCAACTTGAATGAAACGAC
TTCTCTTGTGAACATCAAGGGGCCGAGAAATCACCTCTGCAAGTATTGGGGTCAG
CATAGGGACTCACTCCTCCAGTACAAAGGAACCGAGGGGTGACCACCTCCGAGATG
TCCTTGACTTTGTACATAGCCTGGGGCATATTGAGCATCTCTCTCACAGCTGCCTTTCT
TATCCCCATTCTTGATGTAGACCTCCTTCCGAGTCAGCTTCTTCTCCTCCTCAGACAC
AAACAGAGCTTTGATATCCTGTGCAGGGAGCAGCTCTTCCTTCTGTTGCTGGCAAGT
GGTAGTTGGAGGAAGCCTCAAAGCTCGAGTTGTTCCCTCGGTACAGGGGAGACAAA
TGGGCCTGATAGTCGGGTCATAATTCAACTTTTTCTTGAGCTTGATCAGGGCAACGT
CATAGTCATAAAATTCAGGAATTCCTGCTTCTTTTTTCCCGCTAATGTTGTAGTCGGG
GTGAAATAGGACTTTTTCTATCTCCAGGTCCCGCTTCTTCCCCACGCTGACCTTGATC
GAGTGTTCCCTGTGTCGTCACAGTAAAACAATGTGCTGCTGTCAGCACAAAGTACTCA
GACACCACAGCCCCATAACAGCTCTCATGTCCCTTCGAAGGGCGAGTGACTGAGATC
TTGGCCTGCCATGGTTGCTTGTGGTAATCGGTACCCGTCGTGTGTTCCCAAACCATG
CCACAGAGACTCAGAGACTGGCTTTCATCAATCATTTGGAAGAAAACGTCTTCCAGG
TTTTCCATATCCTTGACTTTGAACACATGTTGCTCATTGTCTTTCTTGGAAGCCAAAG
CATTGATGTTCACTTGGTCCACCAAAGGTCCAACCCCAAACACATAGACATCCAGAT
AATCCTCCCTCGGGTTTTTGCATCCTTGCCGATGTATAACAAGTCCCGGATCTCATC
AATGACAGTAATTGGGTCCCCGCCATGTTGTGCAATCCATCGGTTCATGAGGATGAT
GACATGGCGGGTGCGGTTCCAGCCTTCAGGAGGGATGTCCTCTGGCCAACTCATCAT
GCTGTACACTGCCTGGAGGGCCCTCTTGGTGTAGTCCCTGACTTCAACTTGTGGTCT
TCATAATTGATTTCACTGAGCTTCTTCGTGACCCAGTCTGCATTGCTGCTCTTTGGT
CAGACACTTTGACCCAAATTCTGGGGTATGTGGCATATGTCACTAGAGCATATCTTG
GCTTCACACCATAACTTGCCACCTTCTCAATTAAGTTGACTAGACACTTTTTGGCTCC
TGTGAAGTTGCCGGCCCCAATGCTGTCTGATCCATCTAGCACCAGGTAGATGTTTCAT
GGAGCCTGAAGGGTCTAGGATGATCCTCCGCTTCTGTTGTTCCCCTGGGCTGTGCC
ATCCTCGGCATCGACTCCTTCTATGGTCTCCGTCAGGGAAGACAGGAAAGCTTCGGC
CACCTCTTGAGGGGTGTCGTACATGAAGGAGTCTTGGCAGGAAGGCTCCGTCCCGCT
CCAAGAGCCACCTTCTGACACGTTCCGCGCTGGGAGCCACGCAGGGTAAGCCCC
GGCTGCAGTGGTAGGTGACGCTGTCTTCAAGGCGGTACCGGCTGCCACCTTCTTG
TGCCAATGGGGATGCCTGGGTTGGAGCAGTACCCCGCTCCGTTGTCACAGATCGCTG
TCTGCCCACTCCACCGGCCATTCCTTGGCAGGTGCGATTGGCAGAGCCCCGGAGAG
TGTAACCGTCATAGCAGTGGAAGAGATCTCATCACTCACATTGTAGTAGGGAGAC
CGGGGCCGGTATCCCCGTTCTCGAAGTCCTGTGGTTCGTGGACAGCGGATTGCTCTG
CACTCTGCCTTCTTGACAGTTTTTTCGATCTTGAGTCTGCAGGGTGTCCAGGACCCCCG
TGGATCTGCAGGTACGTGTCTGCACAGGGTACGGGTAGAAGCCAGAAGGACACACG

TATTCCAGTGCCTGGCCCTCTTGGAGAAGTCGGAAGGAGCCACCTTTGATCTCTACC
CCCTCCAGAGAGCAGGATCCTTGAGGCTGGGCGAAGACAATGGAGTGGTGGTCAC
ACCTGCAGATAAGAGGCCCAAGATGAAGGGCATCAGGTAGAGCTGGGGGCTGAGA
CTGCTCCCATGGCGTTAGAAGGCAGGAGAGAAGCTGGGCCTGGGGCAGGATGGCG
TGTCTGGCTTGTTTTGCTTGTCTACTTAGCTCAGTGTCCAAGCTGAAACTCCAGACC
TAGACCTGGTCACATTCCCTTCCCCTGCCCCCACCAGCTCCCGGCCTTTTATGCAAT
CTGTGTTCTGGCACCTGCAGCTTGCCCCGCCTGTCCTACCCTCATCACTTTCCCGGAA
CATCCAAGCGGGAGGGCCCCGCTGAGCTGCCAGTCAAGGAAGCAGAACTGCAGA
AGTCCCACCCTTTGCTGCCCAAGGTCCAGGACTCTCCCCTTCAGTACCTCCTTCTGGC
CTCAGCTCCTCCCCAACAAAGCCCAGACCACCCACTTAGGGACCAGAAAT

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Двухцепочечная рибонуклеиновая кислота (дцРНК) для ингибирования экспрессии фактора комплемента В (CFB) в клетке, где дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, формирующие двухцепочечную область, где антисмысловая цепь содержит область комплементарности мРНК, кодирующей CFB, и где область комплементарности содержит по меньшей мере 15 непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем 3 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

2. Средство на основе дцРНК по п.1, где средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую любую из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

3. Средство на основе дцРНК по п.1, где средство на основе дцРНК содержит антисмысловую цепь, содержащую любую из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

4. Средство на основе дцРНК по п.1, где средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую любую из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3, и антисмысловую цепь, содержащую любую из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

5. Средство на основе дцРНК по п.1, где средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 4 нуклеотида от любой из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3, и антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 4 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

6. Средство на основе дцРНК по п.1, где средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 3 нуклеотида от любой из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3, и антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 3 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

7. Средство на основе дцРНК по п.1, где средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 2 нуклеотида от любой из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3, и антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 2 нуклеотида от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

8. Средство на основе дцРНК по п.1, где средство на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая отличается на не более чем 1 нуклеотид от любой из смысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3, и антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную

последовательность, которая отличается на не более чем 1 нуклеотид от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из таблиц 2-3.

9. Двухцепочечная рибонуклеиновая кислота (дцРНК) для ингибирования экспрессии фактора комплемента В (CFB) в клетке, где дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, формирующие двухцепочечную область, где смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем три нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей из нуклеотидов 504-526, 640-662, 641-663, 995-1017, 997-1019, 1034-1056, 1141-1163, 1145-1167, 1389-1411, 1473-1495, 1826-1848, 1828-1850, 1842-1864, 2242-2264, 2391-2413, 2393-2415, 2438-2460 или 2453-2475 из SEQ ID NO: 1, и антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем три нуклеотида от соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:8.

10. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-9, где антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем четыре нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

11. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-10, где смысловая цепь и антисмысловая цепь содержат по меньшей мере 15 непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем четыре нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи и антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761

12. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-11, где смысловая цепь и антисмысловая цепь содержат по меньшей мере 15 непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем три нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи и антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

13. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-12, где смысловая цепь и антисмысловая цепь содержат по меньшей мере 15 непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем два нуклеотида от любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи и антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

14. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-13, где смысловая цепь и антисмысловая цепь содержат по меньшей мере 15 непрерывных нуклеотидов, отличающихся на не более чем один нуклеотид от любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи и антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

15. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-14, где смысловая цепь и антисмысловая цепь содержат нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

16. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-15, где смысловая цепь и антисмысловая цепь состоят из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи и антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1726057; AD-1725763; AD-1725777; AD-1725057; AD-1725096; AD-1728786; AD-1725059; AD-1728276; AD-1728278; AD-1726936; AD-1725472; AD-1724715; AD-1727292; AD-1730477; AD-1727288; AD-1730167; AD-1725408; и AD-1725761.

17. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-16, где средство на основе дцРНК содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид.

18. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-17, где в основном все из нуклеотидов смысловой цепи; в основном все из нуклеотидов антисмысловой цепи содержат модификацию; или в основном все из нуклеотидов смысловой цепи и в основном все из нуклеотидов антисмысловой цепи содержат модификацию.

19. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-18, где все из нуклеотидов смысловой цепи содержат модификацию; все из нуклеотидов антисмысловой цепи содержат модификацию; или все из нуклеотидов смысловой цепи и все из нуклеотидов антисмысловой цепи содержат модификацию.

20. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 17-19, где по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов выбрана из группы, состоящей из дезокси-модификации нуклеотида, модификации нуклеотида 3'-концевого дезокситимидина (dT), 2'-О-метил-модификации нуклеотида, 2'-фтор-модификации нуклеотида, 2'-дезокси-модификации нуклеотида, модификации запертого нуклеотида, модификации незапертого нуклеотида, модификации конформационно ограниченного нуклеотида, модификации конформационно ограниченного этилом нуклеотида, модификации лишнего азотистого основания нуклеотида, 2'-амино-модификации нуклеотида, 2'-О-аллил-модификации нуклеотида, 2'-С-алкил-модификации нуклеотида, 2'-метоксиэтил-модификации нуклеотида, 2'-О-алкил-модификации нуклеотида, морфолино-модификации нуклеотида, фосфорамидат-модификации нуклеотида, модификации содержащего неприродное

основание нуклеотида, тетрагидропиран-модификации нуклеотида, 1,5-ангидрогексит-модификации нуклеотида, циклогексенил-модификации нуклеотида, нуклеотида, содержащего модификацию фосфоротиоатной группы нуклеотида, нуклеотида, содержащего модификацию метилфосфонатной группы нуклеотида, нуклеотида, содержащего 2'-фосфат-модификацию нуклеотида, нуклеотида, содержащего 5'-фосфат-модификацию нуклеотида, нуклеотида, содержащего модификацию миметика 5'-фосфата нуклеотида, термически дестабилизирующей модификации нуклеотида, модификации нуклеотида гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA) и 2-O-(N-метилацетамид)-модификации нуклеотида; и их комбинаций.

21. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 17-19, где модификации нуклеотидов выбраны из группы, состоящей из LNA, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтила, 2'-О-алкила, 2'-О-аллила, 2'-С-аллила, 2'-фтора, 2'-дезоксид, 2'-гидроксила и гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA); и их комбинаций.

22. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 17-19, где по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов выбрана из группы, состоящей из дезоксинуклеотид-модификации нуклеотида, 2'-О-метил-модификации нуклеотида, 2'-фтор-модификации нуклеотида, 2'-дезоксид-модификации нуклеотида, гликоль-модификации нуклеотида (GNA), нуклеотида, содержащего 2'-фосфат-модификацию нуклеотида, винилфосфонат-модификации нуклеотида и 2'-О-гексадецил-модификация нуклеотида; и их комбинаций.

23. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 17-19, где по меньшей мере одна из модификаций нуклеотидов представляет собой термически дестабилизирующую модификацию нуклеотида.

24. Средство на основе дцРНК по п.23, где термически дестабилизирующая модификация нуклеотида выбрана из группы, состоящей из модификации лишения азотистого основания; несоответствия противоположному нуклеотиду в дуплексе; и дестабилизирующей модификации сахара, 2'-дезоксид-модификации, ациклического нуклеотида, незапертых нуклеиновых кислот (UNA) и гликоль-модифицированной нуклеиновой кислоты (GNA).

25. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-24, где двухцепочечная область имеет длину 19-30 пар нуклеотидов.

26. Средство на основе дцРНК по п.25, где двухцепочечная область имеет длину 19-25 пар нуклеотидов.

27. Средство на основе дцРНК по п.25, где двухцепочечная область имеет длину 19-23 пары нуклеотидов.

28. Средство на основе дцРНК по п.25, где двухцепочечная область имеет длину 23-27 пар нуклеотидов.

29. Средство на основе дцРНК по п.25, где двухцепочечная область имеет длину 21-23 пары нуклеотидов.

30. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-29, где каждая цепь независимо имеет длину не более, чем 30 нуклеотидов.

31. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-30, где смысловая цепь имеет длину 21 нуклеотид, и антисмысловая цепь имеет длину 23 нуклеотида.

32. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-31, где область комплементарности имеет длину по меньшей мере 17 нуклеотидов.

33. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-32, где область комплементарности имеет длину 19-23 нуклеотида.

34. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-33, где область комплементарности имеет длину 19-21 нуклеотид.

35. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-34, где по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 3'-конец из по меньшей мере 1 нуклеотида.

36. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-35, где по меньшей мере одна цепь содержит выступающий 3'-конец из по меньшей мере 2 нуклеотидов.

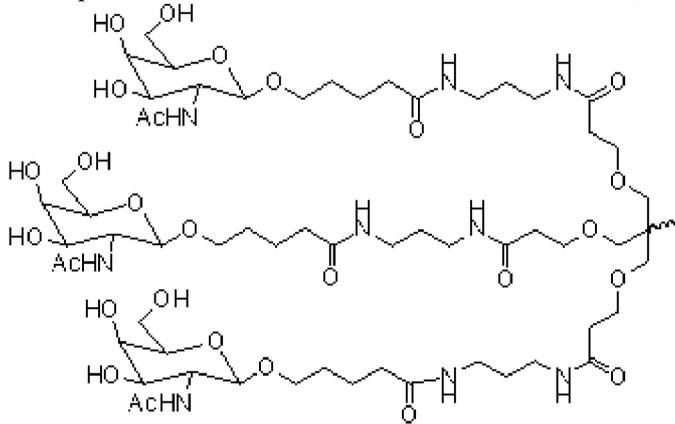
37. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-36, дополнительно содержащее лиганд.

38. Средство на основе дцРНК по п.37, где лиганд является конъюгированным с 3'-концом смысловой цепи средства на основе дцРНК.

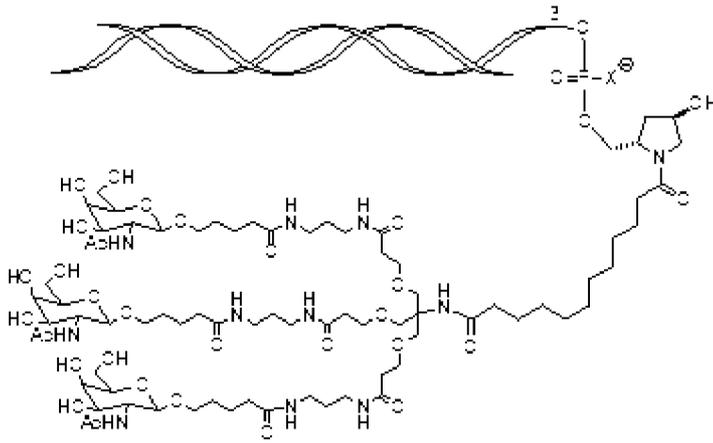
39. Средство на основе дцРНК по п.37 или 38, где лиганд представляет собой производное N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

40. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 37-39, где лиганд представляет собой одно или несколько производных GalNAc, присоединенных посредством одновалентного, двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера.

41. Средство на основе дцРНК по п.39 или 40, где лиганд представляет собой



42. Средство на основе дцРНК по п.41, где средство на основе дцРНК является конъюгированным с лигандом, как показано на следующей схеме



и где X представляет собой O или S.

43. Средство на основе дцРНК по п.42, где X представляет собой O.

44. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-43, где средство на основе дцРНК дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь.

45. Средство на основе дцРНК по п.44, где фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь присутствует на 3'-конце одной цепи.

46. Средство на основе дцРНК по п.45, где цепь представляет собой антисмысловую цепь.

47. Средство на основе дцРНК по п.45, где цепь представляет собой смысловую цепь.

48. Средство на основе дцРНК по п.44, где фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь присутствует на 5'-конце одной цепи.

49. Средство на основе дцРНК по п.48, где цепь представляет собой антисмысловую цепь.

50. Средство на основе дцРНК по п.48, где цепь представляет собой смысловую цепь.

51. Средство на основе дцРНК по п.42, где фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь присутствует на обоих 5'- и 3'-концах одной цепи.

52. Средство на основе дцРНК по п.50, где цепь представляет собой антисмысловую цепь.

53. Средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-52, где пара оснований в положении 1 5'-конца антисмысловой цепи дуплекса представляет собой пару оснований AU.

54. Клетка, содержащая средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-53.

55. Фармацевтическая композиция для ингибирования экспрессии гена, кодирующего фактор комплемента В (CFB), содержащая средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-53.

56. Фармацевтическая композиция по п.55, где средство на основе дцРНК находится в незабуференном растворе.

57. Фармацевтическая композиция по п.56, где незабуференный раствор представляет собой солевой раствор или воду.

58. Фармацевтическая композиция по п.55, где указанное средство на основе дцРНК находится в буферном растворе.

59. Фармацевтическая композиция по п.58, где буферный раствор содержит ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат, или любую их комбинацию.

60. Фармацевтическая композиция по п.59, где буферный раствор представляет собой фосфатно-солевой буфер (PBS).

61. Способ ингибирования экспрессии гена фактора комплемента В (CFB) в клетке, включающий приведение клетки в контакт со средством на основе дцРНК по любому из пунктов 1-53 или фармацевтической композицией по любому из пунктов 55-60, таким образом, ингибирование экспрессии гена CFB в клетке.

62. Способ по п.61, где клетка находится внутри организма субъекта.

63. Способ по п.62, где субъект представляет собой человека.

64. Способ по п.62, где субъект имеет ассоциированное с фактором комплемента В - (CFB) - нарушение.

65. Способ по любому из пунктов 61-64, где приведение клетки в контакт со средством на основе дцРНК ингибирует экспрессию фактора комплемента В на по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

66. Способ по любому из пунктов 61-65, где ингибирование экспрессии фактора комплемента В уменьшает уровень белка фактора комплемента В в сыворотке субъекта на по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

67. Способ лечения субъекта, имеющего нарушение, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии фактора комплемента В, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества средства на основе дцРНК по любому из пунктов 1-53 или фармацевтической композиции по любому из пунктов 55-60, таким образом, лечение субъекта, имеющего нарушение, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии фактора комплемента В.

68. Способ предотвращения по меньшей мере одного симптома у субъекта, имеющего нарушение, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии фактора комплемента В, включающий введение субъекту профилактически эффективного количества средства на основе дцРНК по любому из пунктов 1-53 или фармацевтической композиции по любому из пунктов 55-60, таким образом, предотвращение по меньшей мере одного симптома у субъекта, имеющего нарушение, при котором можно получать преимущество от уменьшения экспрессии фактора комплемента В.

69. Способ по п.67 или 68, где нарушение представляет собой ассоциированное с фактором комплемента В нарушение.

70. Способ по п.69, где ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из пароксизмальной ночной гемоглобинурии (PNH),

атипичного гемолитико-уремического синдрома (aHUS), астмы, ревматоидного артрита (RA); синдрома антифосфолипидных антител; волчаночного нефрита; ишемически-реперфузионного повреждения; типичного или инфекционного гемолитико-уремического синдрома (tHUS); болезни плотных депозитов (DDD); оптиконевромиелита (NMO); мультифокальной моторной невропатии (MMN); рассеянного склероза (MS); дегенерации желтого пятна (например, связанной с возрастом дегенерации желтого пятна (AMD)); синдрома гемолиза, увеличения активности печеночных ферментов и низкого количества тромбоцитов (HELLP); тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП); спонтанной потери плода; слабоиммунного васкулита; буллезного эпидермолиза; рецидивирующей потери плода; преэклампсии, травматического повреждения головного мозга, миастении гравис, болезни холодовых агглютининов, дерматомиозита, буллезного пемфигоида, связанного с токсином шига *E. coli* гемолитико-уремического синдрома, С3-невропатии, ассоциированного с антителами против цитоплазмы нейтрофилов васкулита (например, гранулематоза с полиангиитом (ранее известного как гранулематоз Вегенера), синдрома Черджа-Стросс и микроскопического полиангиита), гуморального и васкулярного отторжения трансплантата, дисфункции трансплантата, инфаркта миокарда (например, повреждения и ишемии ткани при инфаркте миокарда), аллогенного трансплантата, сепсиса (например, плохого исхода при сепсисе), болезни коронарных артерий, дерматомиозита, болезни Грэйвса, атеросклероза, болезни Альцгеймера, системного воспалительного ответа при сепсисе, септического шока, повреждения спинного мозга, гломерулонефрита, тиреоидита Хашимото, диабета I типа, псориаза, пемфигуса, аутоиммунной гемолитической анемии (АИНА), ИТР, синдрома Гудпасчера, болезни Дегоса, антифосфолипидного синдрома (APS), катастрофического APS (CAPS), сердечно-сосудистого нарушения, миокардита, цереброваскулярного нарушения, нарушения периферических (например, скелетно-мышечных) сосудов, реноваскулярного нарушения, мезентерального/энтерального сосудистого нарушения, васкулита, нефрита при пурпуре Геноха-Шенлейна, ассоциированного с системной красной волчанкой васкулита, ассоциированного с ревматоидным артритом васкулита, васкулита иммунных комплексов, болезни Такаюсу, дилатационной кардиомиопатии, диабетической ангиопатии, болезни (артериита) Кавасаки, венозной газовой эмболии (VGE) и рестеноза после стентирования, ротационной атерэктомии и чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики (РТСА).

71. Способ по п.69, где ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии, поликистоза почек, мембранозной нефропатии, связанной с возрастом дегенерации желтого пятна, атипичного гемолитико-уремического синдрома, тромботической микроангиопатии, миастении гравис, ишемического и реперфузионного повреждения, пароксизмальной ночной гемоглобинурии и ревматоидного артрита.

72. Способ по п.69, где ассоциированное с фактором комплемента В заболевание выбрано из группы, состоящей из С3-гломерулопатии, системной красной волчанки (SLE), например, волчаночного нефрита, IgA-нефропатии, диабетической нефропатии и поликистоза почек.

73. Способ по любому из пунктов 67-72, где субъект представляет собой человека.

74. Способ по любому из пунктов 67-73, где средство на основе дцРНК вводят субъекту в дозе от приблизительно 0,01 мг/кг до 50 мг/кг или в дозе приблизительно 5 мг или 1000 мг.

75. Способ по любому из пунктов 67-74, где средство на основе дцРНК вводят субъекту подкожно.

76. Способ по любому из пунктов 67-75, дополнительно включающий введение субъекту средства для лечения ассоциированного с СFB заболевания.

77. Способ по любому из пунктов 67-75, дополнительно включающий введение субъекту средства на основе иРНК нацеливающего на компонент комплемента С5, или средства на основе иРНК, нацеливающего на компонент комплемента С3.

78. Способ по любому из пунктов 59-69, дополнительно включающий определение уровня фактора комплемента В в образце(ах) от субъекта.

79. Способ по п.78, где уровень фактора комплемента В в образце(ах) от субъекта представляет собой уровень белка фактора комплемента В в образце(ах) крови или сыворотки.

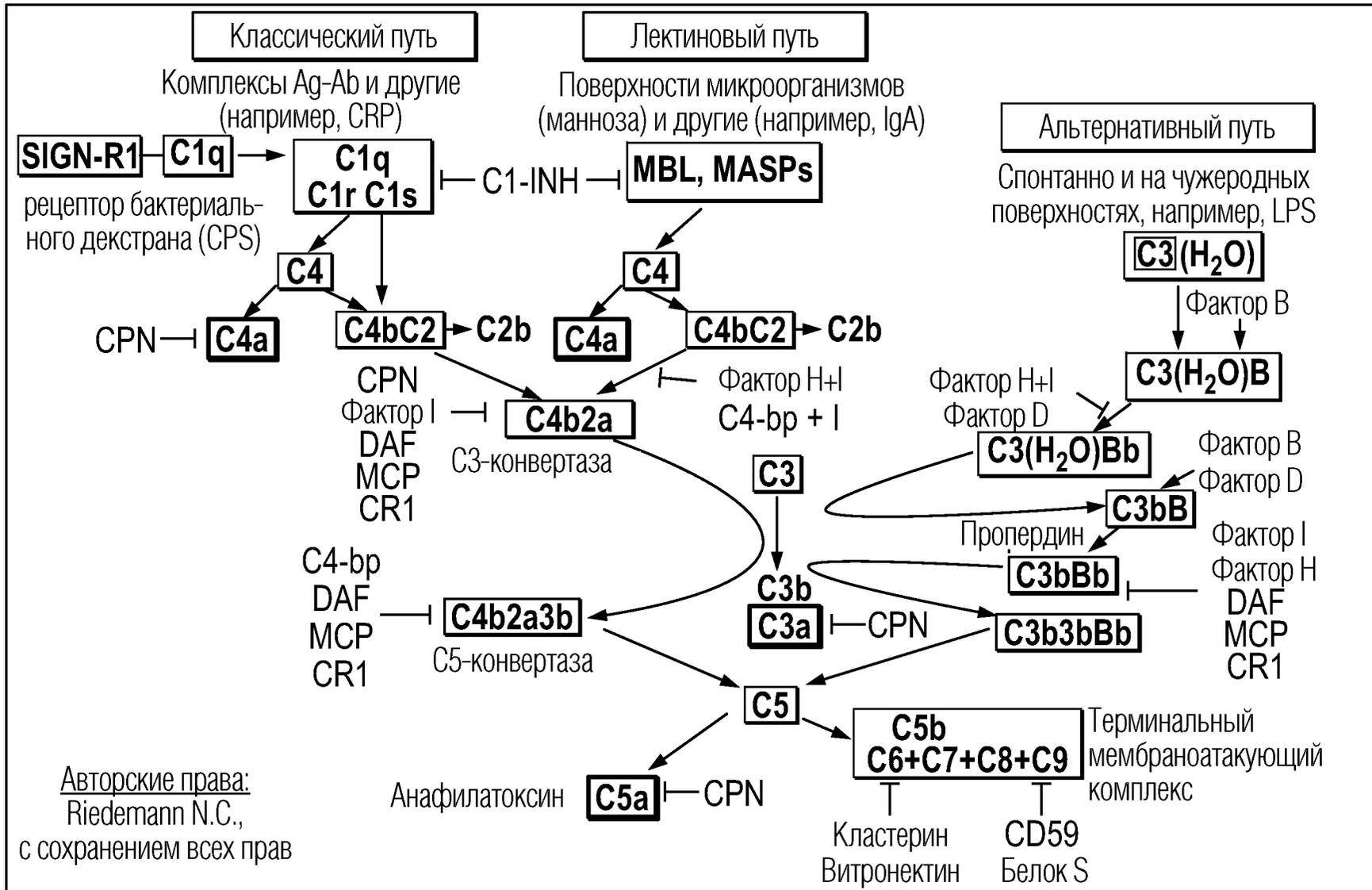
80. Набор, содержащий средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-53 или фармацевтическую композицию по любому из пунктов 55-60.

81. Флакон, содержащий средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-53 или фармацевтическую композицию по любому из пунктов 55-60.

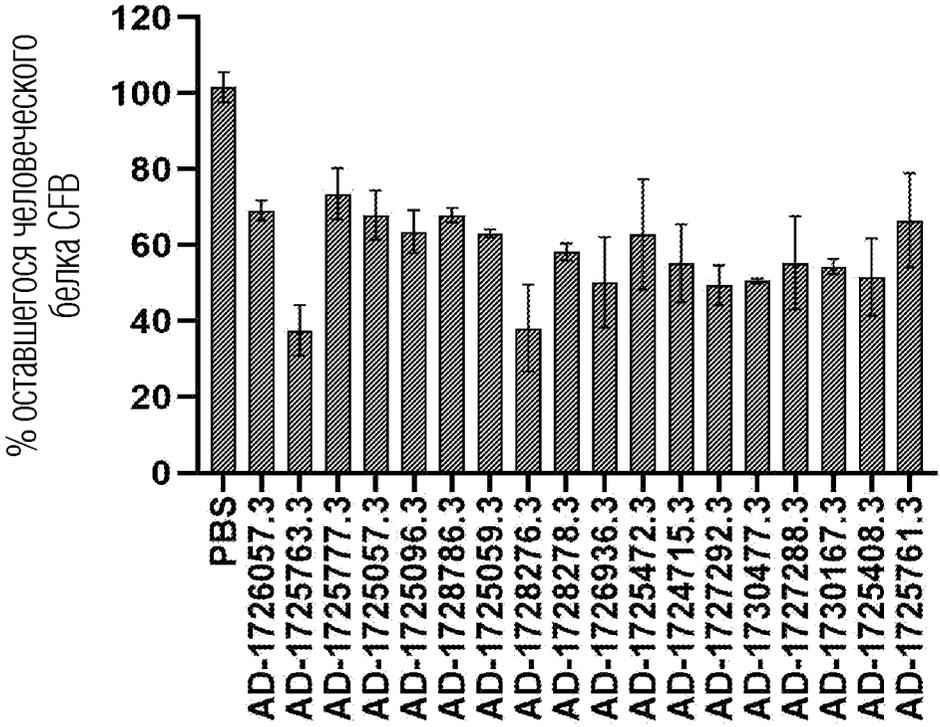
82. Шприц, содержащий средство на основе дцРНК по любому из пунктов 1-53 или фармацевтическую композицию по любому из пунктов 55-60.

83. Индуцированный РНК комплекс сайленсинга (RISC), содержащий антисмысловую цепь из любого из средств на основе дцРНК по любому из пунктов 1-53.

ФИГ. 1



CFB AAV In Vivo



ФИГ. 2