

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201991369 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.12.30

(51) Int. Cl. C12N 15/113 (2010.01)

(22) Дата подачи заявки
2017.12.08

(54) МОДИФИЦИРОВАННЫЕ НАПРАВЛЯЮЩИЕ РНК

(31) 62/431,756

(32) 2016.12.08

(33) US

(86) PCT/US2017/065306

(87) WO 2018/107028 2018.06.14

(71) Заявитель:
ИНТЕЛЛИА ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
Смит Эми Мэдисон Роден, Моррисси
Дэвид В., Стрэппс Уолтер (US)

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

(57) Настоящее изобретение имеет отношение к модифицированным одиночным и двойным направляющим РНК, обладающим улучшенной активностью in vitro и in vivo в способах редактирования генов.

A1

201991369

201991369

A1

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ НАПРАВЛЯЮЩИЕ РНК**ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ**

[0000] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, представленный в электронном виде в формате ASCII и полностью включенный в настоящий документ посредством ссылки. Имя указанной ASCII-копии, созданной 7 декабря 2017 г., – 01155-0004-00PCT_SeqList.txt, а ее размер составляет 118 877 байт.

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки США № 62/431756, поданной 8 декабря 2016 года, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

[0002] Настоящее изобретение относится к области редактирования генов с использованием системы CRISPR/Cas, входящей в состав иммунной системы прокариот, распознающей и разрезающей экзогенные генетические элементы. Система CRISPR/Cas основана на единственной нуклеазе, называемой CRISPR-ассоциированным белком 9 (Cas9), индуцирующей сайт-специфические разрывы в ДНК. Cas9 оказывает воздействие на специфические ДНК-последовательности за счет малых молекул РНК, называемых направляющими РНК (gРНК). Направляющая РНК содержит trРНК (также известные как tracrРНК) и crisprРНК (crРНК). trРНК и crРНК могут содержаться в одиночной направляющей РНК (sgРНК) или в двух различных молекулах РНК двойной направляющей РНК (dgРНК). Cas9 в комбинации с trРНК и crРНК или sgРНК называют рибонуклеопротеиновым (РНП) комплексом Cas9.

[0003] Олигонуклеотиды и, в частности РНК, иногда разрушаются в клетках и сыворотке за счет эндонуклеазного или экзонуклеазного гидролиза. Усовершенствованные способы и композиции для предотвращения такого разрушения, повышения стабильности gРНК и эффективности редактирования генов являются желательными, особенно для терапевтического применения.

РАСКРЫТИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] В некоторых вариантах воплощения предложены терапевтические инструменты для редактирования генома, включающие модифицированные направляющие РНК. Модифицированные направляющие РНК, описанные в настоящем документе, могут улучшить стабильность направляющей РНК и комплекса направляющая

РНК/Cas9, а также активность Cas9 (например, SpyCas9 и ее эквивалентов) при расщеплении ДНК-мишени. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК является sgРНК. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК является dgРНК. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК является tracrРНК. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК является crРНК.

[0005] Направляющие РНК, описанные в настоящем документе, содержат по меньшей мере один модифицированный нуклеотид. Модификации могут включать 2'-О-метил (2'-О-Me), 2'-О-(2-метоксиэтил) (2'-О-моe), 2'-фтор (2'-F), фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами, заместители G-C и инвертированные связи, не содержащие оснований, между нуклеотидами и их эквиваленты. Варианты воплощения настоящего изобретения включают:

[0006] Некоторые варианты воплощения включают одиночную направляющую РНК (sgРНК), содержащую модификацию по 5'-концу и одну или более из модификаций в одной или более из: области верхнего стебля; области шпильки 1; и области шпильки 2, причем модификация по 5'-концу включает по меньшей мере две фосфоротиоатных связи в пределах первых семи нуклеотидов на 5'-конце 5'-концевой области. В некоторых случаях указанная модификация является 2'-О-метил (2'-О-Me)-модифицированным нуклеотидом. В некоторых вариантах воплощения указанная модификация является 2'-фтор (2'-F)-модифицированным нуклеотидом.

[0007] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификации в положениях US1 - US12 и/или модификацию в положении H1-1 и/или модификацию в положении H2-1. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификации в положениях H1-1 - H1-12 и/или H2-1 - H2-15. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит одну или более модификации в каждой из области верхнего стебля, области шпильки 1 и области шпильки 2. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модифицированный нуклеотид между областями шпильки 1 и шпильки 2. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификацию в области нижнего стебля.

[0008] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификацию в 5'-концевой области и/или 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит 3'-концевую

модификацию в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификации в по меньшей мере двух из последних четырех нуклеотидов на 3'-конце 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит 5'-концевую модификацию в 5'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификации в по меньшей мере двух из первых четырех нуклеотидов на 5'-конце 5'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит 3'-концевую модификацию в 3'-концевой области и 5'-концевую модификацию в 5'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификации в по меньшей мере двух из последних четырех нуклеотидов на 3'-конце 3'-концевой области и в по меньшей мере двух из первых четырех нуклеотидов на 5'-конце 5'-концевой области. В некоторых случаях эти модификации являются 2'-O-Me, 2'-F, 2'-O-мие или фосфоротиоатными (PS) связями, соединяющими нуклеотиды. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит PS-связи между по меньшей мере двумя из последних четырех нуклеотидов на 3'-конце 3'-концевой области и/или по меньшей мере двумя из первых четырех нуклеотидов на 5'-конце 5'-концевой области. В некоторых случаях sgРНК содержит 5'-концевую область и 3'-концевую область с более чем одной модификацией, описанной в настоящем документе, например, с PS-связями и 2'-O-Me модификациями.

[0009] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификацию в области расширения. В некоторых вариантах воплощения 50% нуклеотидов в области расширения являются модифицированными, причем модификация является 2'-O-Me или 2'-F.

[0010] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификацию в области связки. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификации в положениях N15, N16, N17 и/или N18 в области связи, причем указанные модификации являются 2'-O-Me или 2'-F. В некоторых случаях N16, N17 и N18 связаны PS-связями.

[0011] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит по меньшей мере первые три нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области, которые являются модифицированными.

[0012] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификации в 3'-концевой области и/или 5'-концевой области. В некоторых случаях первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-

концевой области связаны фосфоротиоатными (PS) связями. В некоторых вариантах воплощения 5'- и 3'-модификации содержат 2'-O-Me или 2'-O-мие. В некоторых вариантах воплощения 5'- и 3'-модификации содержат 2'-F. В некоторых вариантах воплощения 5'- и/или 3'-модификации содержат PS связи между нуклеотидами. В некоторых вариантах воплощения 5'- и/или 3'-модификации содержат один или более из 2'-O-Me, 2'-O-мие, 2'-F и PS связей между нуклеотидами.

[0013] В некоторых вариантах воплощения sgPHK содержит модификации в первых четырех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области и последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области. В некоторых случаях эти модификации являются соединяющими PS-связями (т.е. PS-связи, соединяющие первые четыре и последние четыре нуклеотида). В некоторых вариантах воплощения sgPHK дополнительно содержит 2'-O-Me модификации в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области и последних трех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

[0014] В некоторых вариантах воплощения sgPHK содержит модификации в первых четырех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области и последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области, причем указанные модификации являются по меньшей мере PS-связями, соединяющими указанные четыре нуклеотида, и, кроме того, первые три нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области содержат 2'-O-Me, 2'-O-мие или 2'-F модификации.

[0015] В некоторых вариантах воплощения sgPHK содержит модификации LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12, причем указанная модификация является 2'-O-Me или 2'-F.

[0016] В некоторых вариантах воплощения sgPHK содержит модификации в каждом из нуклеотидов области расширения, причем указанная модификация является 2'-O-Me или 2'-F.

[0017] В некоторых вариантах воплощения sgPHK содержит модификации в каждом из нуклеотидов в области верхнего стебля, причем указанная модификация является 2'-O-Me или 2'-F.

[0018] В некоторых вариантах воплощения sgPHK содержит модификации в каждом из нуклеотидов в области шпильки 1, причем указанная модификация является 2'-O-Me или 2'-F.

[0019] В некоторых вариантах воплощения sgPHK содержит модификации в каждом из нуклеотидов в области шпильки 2, причем указанная модификация является 2'-O-Me или 2'-F.

[0020] Некоторые варианты воплощения включают sgРНК, содержащую 2'-О-Ме-модифицированные нуклеотиды в следующих положениях:

первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;
 LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и/или LS12 в области нижнего стебля;
 B1 и/или B2 в области расширения;
 каждом нуклеотиде в области верхнего стебля;
 N16, N17 и/или N18 в области связки;
 каждом нуклеотиде в области шпильки 1;
 каждом нуклеотиде в области шпильки 2; и
 последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

В некоторых вариантах воплощения B3-B6 модифицированы 2'-О-Ме. В некоторых случаях sgРНК дополнительно содержит три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит 2'-F модификации в положениях LS9 и LS10. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит 2'-F модификации в положениях N15, N16, N17 и N18. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит 2'-F модификации в положениях H2-9, H2-10, H2-11, H2-12, H2-13, H2-14 и H2-15. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит 2'-F модификации в положениях со второго по последний, с третьего по последний и с четвертого по последний нуклеотид на 3'-конце 3'-концевой области.

[0021] Некоторые варианты воплощения включают sgРНК, содержащую 2'-F модифицированные нуклеотиды в следующих положениях:

LS9 и LS10 в области нижнего стебля;
 N15, N16, N17 и N18 в области связки; и
 H2-9, H2-10, H2-11, H2-12, H2-13, H2-14 и H2-15 в области шпильки 2.

В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях со второго по последний, с третьего по последний и с четвертого по последний нуклеотиды 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три

PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит 2'-О-Ме или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области и 2'-О-Ме или 2'-F модифицированные нуклеотиды в трех из последних четырех нуклеотидов на 3'-конце 3'-концевой области.

[0022] Некоторые варианты воплощения включают sgРНК, содержащую

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

Необязательные 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS1 и/или LS6;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

Необязательный 2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области; и необязательно

дополнительно содержащую три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

[0023] Некоторые варианты воплощения включают sgРНК, содержащую:

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS1-LS6;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области; и необязательно

дополнительно содержащую три фосфотриоатные (PS) связи,

соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

[0024] Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую:

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS2-LS5;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS1 и LS6;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области и необязательно

дополнительно содержащую три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

[0025] Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую:

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS8, LS11 и LS12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области,

и необязательно дополнительно содержащую три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие

последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

[0026] Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую:

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS8, LS11 и LS12;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS9 и LS10;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области,

и необязательно дополнительно содержащую три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

[0027] Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую:

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS8, LS10 и LS12;

2'-О-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS9 и LS11;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области, и необязательно

дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой

области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

[0028] Некоторые варианты воплощения включают sgPHK, содержащую:

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области, и необязательно

дополнительно содержащую три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

[0029] Некоторые варианты воплощения включают sgPHK, содержащую:

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS9 и LS10;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области, и необязательно

дополнительно содержащую три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида

на 3'-конце 3'-концевой области.

[0030] Некоторые варианты воплощения включают sgРНК, содержащую:

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-8;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H2-9 - H2-15;

2'-F модифицированные нуклеотиды во втором от последнего, в третьем от последнего и в четвертом от последнего нуклеотиде 3'-концевой области; и

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид в последнем нуклеотиде 3'-концевой области, и необязательно

дополнительно содержащую три фосфотиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

[0031] Некоторые варианты воплощения включают sgРНК, содержащую:

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-2, H1-4, H1-6, H1-8, H1-10 и H1-12;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1, H1-3, H1-5, H1-7, H1-9 и H1-11;

2'-F модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H2-2, H2-4, H2-6, H2-8, H2-10, H2-12; и H2-14;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1, H2-3, H2-5, H2-7, H2-9, H2-11; H2-13 и H2-15;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях во втором от последнего и в четвертом от последнего нуклеотиде 3'-концевой области; и

2'-O-Me модифицированный нуклеотид в третьем от последнего и последнем нуклеотиде на 3'-конце 3'-концевой области,

и необязательно дополнительно содержащую три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

[0032] Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую:

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды LS8, LS10, LS12, H1-2, H1-4, H1-6, H1-8, H1-10, H1-12, H2-1, H2-3, H2-5, H2-7, H2-9, H2-11, H2-13 и H2-15; и

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS9, LS11; H1-1, H1-3, H1-5, H1-7, H1-9, H1-11, H1-13, H2-2, H2-4, H2-6, H2-8, H2-10, H2-12 и H2-14 и необязательно

дополнительно содержащую три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области; и необязательно дополнительно содержащую:

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последнем и с третьего по последний нуклеотиде на 3'-конце 3'-концевой области; и/или

2'-F модифицированные нуклеотиды со второго по последний, с четвертого по последний и/или в последнем нуклеотиде на 3'-конце 3'-концевой области.

[0033] Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую нуклеиновые кислоты в соответствии с любой из SEQ ID No: 228-353, включая модификации, перечисленные в таблице 4. Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую любую из SEQ ID No: 228-332, включая модификации, перечисленные в таблице 4. Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую любую из SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329, включая модификации, перечисленные в таблице 4. Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую SEQ ID No: 240. Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую SEQ ID No. 240, включая модификации, перечисленные в таблице 4. Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую SEQ ID No: 242. Некоторые варианты воплощения включают sgPНК, содержащую SEQ ID No: 358. В дополнительных вариантах воплощения sgPНК содержит нуклеиновые кислоты, обладающие по меньшей мере

99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеиновым кислотам согласно любой из SEQ ID No: 235–240, 265–285 и 309–329, причем модификация каждого нуклеотида sgРНК, соответствующего нуклеотиду идентификатора эталонной последовательности в таблице 4, идентична или эквивалентна модификации, показанной в идентификаторе эталонной последовательности в таблице 4, и необязательно дополнительно содержащие три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит по меньшей мере три PS связи, связывающие нуклеотиды в области шпильки 1. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит по меньшей мере три PS связи, связывающие нуклеотиды в области шпильки 2. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит по меньшей мере три PS связи, связывающие нуклеотиды в области верхнего стебля. В некоторых вариантах воплощения sgРНК образует рибонуклеопротеиновый комплекс с Cas9 *S. pyogenes*.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[0034] На фиг. 1 показано процентное редактирование гена транстиретина (TTR) мыши после трансфекции клеток Neuro2A за счет модифицированных crРНК совместно с мРНК Cas9 и немодифицированной trРНК (TR000002), измеренное с помощью секвенирования нового поколения (NGS).

[0035] На фиг. 2 показано процентное редактирование гена TTR мыши после трансфекции клеток Neuro2A за счет модифицированных trРНК совместно с немодифицированной crРНК (CR000686) и мРНК Cas9, измеренное с помощью NGS.

[0036] На фиг. 3 показано процентное редактирование гена TTR мыши после трансфекции клеток Neuro2A за счет мРНК Cas9 и crРНК и trРНК с парами G–C, не встречающимися в исходных последовательностях, измеренное с помощью NGS.

[0037] На фиг. 4 показано процентное редактирование гена TTR мыши после трансфекции клеток Neuro2A за счет модифицированных crРНК и trРНК совместно с мРНК Cas9, измеренное с помощью NGS. После значения приведены стандартные отклонения.

[0038] На фиг. 5 показано процентное редактирование гена TTR мыши после трансфекции клеток Neuro2A модифицированными sgРНК совместно с мРНК Cas9, измеренное с помощью NGS.

[0039] На фиг. 6 показано процентное редактирование гена TTR мыши после трансфекции клеток Neuro2A модифицированными crPНК и немодифицированной trPНК (TR000002) совместно с мPНК Cas9, измеренное с помощью NGS. Звездочкой обозначена двойная направляющая PНК, которая по техническим причинам не демонстрировала активности в данном эксперименте. Эту двойную направляющую PНК повторно протестировали в эксперименте, представленном на фигуре 9, в котором она демонстрировала редактирующую активность.

[0040] На фиг. 7 показано процентное редактирование гена TTR мыши после трансфекции клеток Neuro2A немодифицированной crPНК (CR000686) и модифицированными trPНК совместно с мPНК Cas9, измеренное с помощью NGS.

[0041] На фиг. 8 показано процентное редактирование гена TTR мыши после трансфекции клеток Neuro2A мPНК Cas9 и crPНК и trPНК с парами G-C или несовпадениями G-U, не встречающимися в исходных последовательностях, измеренное с помощью NGS.

[0042] На фиг. 9 показано процентное редактирование гена TTR мыши после трансфекции клеток Neuro2A модифицированными crPНК и модифицированными trPНК совместно с мPНК Cas9, измеренное с помощью NGS. После значения приведены стандартные отклонения.

[0043] На фиг. 10 показано процентное редактирование гена TTR мыши после трансфекции клеток Neuro2A модифицированными sgPНК совместно с мPНК Cas9, измеренное с помощью NGS.

[0044] На фиг. 11 показано процентное редактирование гена фактора VII (FVII) мыши после трансфекции клеток Neuro2A модифицированными sgPНК совместно с мPНК Cas9, измеренное с помощью NGS.

[0045] На фиг. 12A и 12B показано процентное редактирование гена TTR мыши (фиг. 12A) или FVII (фиг. 12B) после трансфекции клеток Neuro2A модифицированными crPНК и немодифицированной trPНК совместно с мPНК Cas9, измеренное с помощью NGS.

[0046] На фиг. 13A и 13B показано процентное редактирование гена TTR мыши (фиг. 13A) или FVII (фиг. 13B) после трансфекции клеток Neuro2A модифицированными trPНК и немодифицированной crPНК совместно с мPНК Cas9, измеренное с помощью NGS.

[0047] На фиг. 14A, 14B, 14C и 14D показаны уровни интерферона-альфа (ИФН-альфа, 14A), интерлейкина-6 (ИЛ-6, 14B), белка 1 хемотаксиса моноцитов (MCP-1, 14C) и фактора некроза

опухолей-альфа (ФНО-альфа, 14D) в сыворотке после введения *in vivo* LNP, содержащих мРНК Cas9 и sgРНК.

[0048] На фиг. 15A, 15B и 15C показаны результаты, полученные *in vivo* после введения LNP, содержащих мРНК Cas9 и sgРНК. На фиг. 15A показан процент общего редактирования в печени. На фиг. 15B показан уровень TTR в сыворотке. На фиг. 15C показано среднее значение и стандартное отклонение для результатов, показанных на фиг. 15A. На фиг. 15D приведена сводная информация по модификациям sgРНК G000209 (SEQ ID NO: 228). На фиг. 15E приведена сводная информация по модификациям sgРНК G000267 (SEQ ID NO: 234). На фиг. 15D и 15E нуклеотиды, выделенные полужирным шрифтом, являются 2'-O-Me модифицированными.

[0049] На фиг. 16A, 16B, 16C и 16D показаны уровни интерферона-альфа (ИФН-альфа, 16A), фактора некроза опухолей-альфа (ФНО-альфа, 16B), интерлейкина-6 (ИЛ-6, 16C) и белка 1 хемотаксиса моноцитов (MCP-1, 16D) в сыворотке после введения *in vivo* LNP, содержащих мРНК Cas9 и sgРНК.

[0050] На фиг. 17A, 17B, 17C и 17D показаны результаты, полученные *in vivo* после введения LNP, содержащих мРНК Cas9 и sgРНК. На фиг. 17A показан процент общего редактирования в печени. На фиг. 17B показано среднее значение и стандартное отклонение для результатов, показанных на фиг. 17A. На фиг. 17C показан уровень TTR в сыворотке. На фиг. 17D показано среднее значение и стандартное отклонение для результатов, показанных на фиг. 17B.

[0051] На фиг. 18A, 18B и 18C показаны результаты, полученные *in vivo* после введения LNP, содержащих мРНК Cas9 и sgРНК. На фиг. 18A показан процент общего редактирования в печени. На фиг. 18B приведены сводные данные по редактированию в печени. На фиг. 18C показан уровень TTR в сыворотке. МРК=миллиграммов на килограмм; BLOD=ниже уровня обнаружения.

[0052] На фиг. 19A, 19B, 19C и 19D показаны уровни интерферона-альфа (ИФН-альфа, 19A), белка-1 хемотаксиса моноцитов (MCP-1, 19B), интерлейкина-6 (ИЛ-6, 19C) и фактора некроза опухолей-альфа (ФНО-альфа, 19D) в сыворотке после введения *in vivo* LNP, содержащих мРНК Cas9 и sgРНК.

[0053] На фиг. 20A и 20B показано редактирование локуса FVII (фиг. 20A) и локуса TTR (фиг. 20B) в печени после введения *in vivo* LNP, содержащих мРНК Cas9 и sgРНК.

[0054] На фиг. 21A, 21B и 21C показаны схемы аннотированной sgPНК (SEQ ID NO: 341) (фиг. 21A), неаннотированной dgPНК CR000686 (SEQ ID NO: 1) и TR000002 (SEQ ID NO: 188) (фиг. 21B) и аннотированной dgPНК CR000686 (SEQ ID NO: 1) и TR000002 (SEQ ID NO: 188) (фиг. 21C).

[0055] На фиг. 22A, 22B и 22C показаны результаты, полученные *in vivo* после введения LNP, содержащих мPНК Cas9 и sgPНК. На фиг. 22A показан процент общего редактирования локуса TTR в печени. На фиг. 22B приведены сводные данные по редактированию в печени. На фиг. 22C показан уровень TTR в сыворотке.

[0056] На фиг. 23A, 23B и 23C показаны результаты, полученные *in vivo* после введения LNP, содержащих мPНК Cas9 и sgPНК. На фиг. 23A показан процент общего редактирования локуса TTR в печени. На фиг. 23B приведены сводные данные по редактированию в печени. На фиг. 23C показан уровень TTR в сыворотке.

[0057] На фиг. 24A, 24B и 24C показано редактирование в первичных гепатоцитах мыши после введения LNP, содержащих мPНК Cas9 и sgPНК. На фиг. 24A показан процент общего редактирования локуса TTR в печени. На фиг. 24B показаны нормированные преобразования процента редактирования в зависимости от дозы иPНК, использованные для расчета EC50. На фиг. 24C показаны значения EC50 для протестированных LNP.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0058] В настоящем документе предложены модифицированные направляющие PНК, в том числе двойные и одиночные направляющие PНК для применения в способах редактирования генов. Модифицированные направляющие PНК более стабильны и демонстрируют эффективность *in vitro* и *in vivo*, сопоставимую с их немодифицированными аналогами. Последовательности сконструированных и протестированных направляющих PНК показаны в таблице 4.

Таблица 4:

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	сrPHK			
1	CR000686		немодифицированная	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
2	CR003393	CR686-1	верхний стебель	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
3	CR003394	CR686-2	частичная модификация верхний стебель	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAGCUAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
4	CR003395	CR686-3	частичная модификация верхний стебель	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAGCUAUGCmUmGmUmUmUmUmG
5	CR003396	CR686-4	частичная модификация верхний стебель	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAGCUAUGCUGUmUmUmUmG
6	CR003397	CR686-5	нижний стебель	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGmGmUmUmUmUmAGAGCUAUGCUGUUUUUG
7	CR003398	CR686-6	прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGmGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
8	CR003399	CR686-7	прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGmUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
9	CR003400	CR686-8	прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUmUUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
10	CR003401	CR686-9	прогулка по	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUmUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
			нижнему стеблю	
11	CR003402	CR686-10	прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUmUAGAGCUAUGCUGUUUUG
12	CR003403	CR686-11	прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
13	CR003404	CR686-12	частичная модификация нижний стебель	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGmUmUmUAGAGCUAUGCUGUUUUG
14	CR003405	CR686-13	частичная модификация нижний стебель	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUmUmUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
15	CR003406	CR686-GC1	нижний стебель GC	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGGCGCAGAGCUAUGCUGUUUUG
16	CR003407	CR686-GC3	верхний стебель GC	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAGCUAUGCUGGCGCG
17	CR003408	CR686-GC5	нижний стебель и верхний стебель GC	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGGCGCAGAGCUAUGCUGGCGCG
18	CR003409	CR686 все OMe		mCmCmAmGmUmCmCmAmGmCmGmAmGmCmAmAmAmGmGmGmUmUmUmUm AmGmAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
19	CR003393 – только модифицирован ные		верхний стебель	GUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
20	CR003394 – только модифицирован ные		частичный верхний	GUUUUAGAGCUAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
21	CR003395 – только модифицирован ные		частичная модификация верхний стебель	GUUUUAGAGCUAUGCmUmGmUmUmUmUmG
22	CR003396 – только модифицирован ные		частичный верхний	GUUUUAGAGCUAUGCUGUmUmUmUmG
23	CR003397 – только модифицирован ные		нижний	mGmUmUmUmUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
24	CR003398 – только модифицирован ные		прогулка по нижнему стержню	mGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
25	CR003399 – только модифицирован		прогулка по нижнему стеблю	GmUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	ные			
26	CR003400 – только модифицирован ные		прогулка по нижнему стеблю	GUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
27	CR003401 – только модифицирован ные		прогулка по нижнему стеблю	GUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
28	CR003402 – только модифицирован ные		прогулка по нижнему стеблю	GUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
29	CR003403 – только модифицирован ные		прогулка по нижнему стеблю	GUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
30	CR003404 – только модифицирован ные		частичная модификация нижний стебель	GmUmUmUmUAGAGCUAUGCUGUUUUG
31	CR003405 – только		частичная модификация	GUUmUUAGAGCUAUGCUGUUUUG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	модифицирован ные		нижний стебель	
32	CR003721	CR686-14	верхний стебель и нижний стебель	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGmGUUUUmUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
33	CR003722	CR686-15	нижний стебель комбинированная модификация	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGmGUUUUmUmAGAGCUAUGCUGUUUUUG
34	CR003723	CR686-16	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGmGUUUUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
35	CR003724	CR686-17	нижний стебель комбинированная модификация	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGmGUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUUG
36	CR003725	CR686-18	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGmGUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
37	CR003726	CR686-19	прогулка по связке	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAmGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
38	CR003727	CR686-20	прогулка по связке	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGmAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
39	CR003728	CR686-21	прогулка по	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAfGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
			связке	mUmUmG
40	CR003729	CR686-22	прогулка по связке	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUAGfAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmU mUmUmG
41	CR003730	CR686-23	2'F прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGfUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmU mUmUmG
42	CR003731	CR686-24	2'F прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUfUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmU mUmUmG
43	CR003732	CR686-25	2'F прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUfUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmU mUmUmG
44	CR003733	CR686-26	2'F прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUfUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmU mUmUmG
45	CR003734	CR686-27	2'F нижний стебель комбинированная модификация	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUm GmUmUmUmUmG
46	CR003735	CR686-28	нижний стебель альтернативная модификация	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGfGmUfUmUfUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUm GmUmUmUmUmG
47	CR003736	CR686-29	нижний стебель альтернативная модификация	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGmGfUmUfUmUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUm GmUmUmUmUmG
48	CR003737	CR686-GC6	нижний стебель GC	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUCUCAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUm UmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
49	CR003738	CR686-GC7	С прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGCUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUm UmUmG
50	CR003739	CR686-GC8	С прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUCUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUm UmUmG
51	CR003740	CR686-GC9	С прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUCUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUm UmUmG
52	CR003741	CR686-GC10	С прогулка по нижнему стеблю	CCAGUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUCAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUm UmUmG
53	CR003721- только модифицирован ные	CR686-14-только модифицированные	верхний стебель и нижний стебель	mGUUUmUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
54	CR003722- только модифицирован ные	CR686-15-только модифицированные	нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUmUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
55	CR003723- только модифицирован ные	CR686-16-только модифицированные	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
56	CR003724- только модифицирован	CR686-17-только модифицированные	нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	ные			
57	CR003725– только модифицирован ные	CR686–18–только модифицированные	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
58	CR003726– только модифицирован ные	CR686–19–только модифицированные	прогулка по связке	GUUUUAmGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
59	CR003727– только модифицирован ные	CR686–20–только модифицированные	прогулка по связке	GUUUUAGmAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
60	CR003728– только модифицирован ные	CR686–21–только модифицированные	прогулка по связке	GUUUUAfGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
61	CR003729– только модифицирован ные	CR686–22–только модифицированные	прогулка по связке	GUUUUAGfAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
62	CR003730– только	CR686–23–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GfUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	модифицирован ные			
63	CR003731– только модифицирован ные	CR686–24–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GUfUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
64	CR003732– только модифицирован ные	CR686–25–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GUUfUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
65	CR003733– только модифицирован ные	CR686–26–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GUUUfUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
66	CR003734– только модифицирован ные	CR686–27–только модифицированные	2'F нижний стебель комбинированная модификация	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
67	CR003735– только модифицирован ные	CR686–28–только модифицированные	нижний стебель альтернативная модификация	fGmUfUmUfUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
68	CR003736–	CR686–29–только	нижний стебель	mGfUmUfUmUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	только модифицирован ные	модифицированные	альтернативная модификация	
69	CR003737– только модифицирован ные	CR686–GC6–только модифицированные	нижний стебель GC	GUCUCAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
70	CR003738– только модифицирован ные	CR686–GC7–только модифицированные	С прогулка по нижнему стеблю	GCUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
71	CR003739– только модифицирован ные	CR686–GC8–только модифицированные	С прогулка по нижнему стеблю	GUCUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
72	CR003740– только модифицирован ные	CR686–GC9–только модифицированные	С прогулка по нижнему стеблю	GUUCUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
73	CR003741– только модифицирован ные	CR686–GC10– только модифицированные	С прогулка по нижнему стеблю	GUUUCAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
74	CR000705		немодифицированная	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
75	CR004188	CR705-1	верхний стебель	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
76	CR004189	CR705-2	частичная модификация верхний стебель	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAGCUAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
77	CR004190	CR705-3	частичная модификация верхний стебель	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAGCUAUGCmUmGmUmUmUmUmG
78	CR004191	CR705-4	частичная модификация верхний стебель	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAGCUAUGCUGUmUmUmUmG
79	CR004192	CR705-5	нижний стебель	UUACAGCCACGUCUACAGCAmGmUmUmUmUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
80	CR004193	CR705-6	прогулка по нижнему стеблю	UUACAGCCACGUCUACAGCAmGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
81	CR004194	CR705-7	прогулка по нижнему стеблю	UUACAGCCACGUCUACAGCAGmUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
82	CR004195	CR705-8	прогулка по нижнему стеблю	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUmUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
83	CR004196	CR705-9	прогулка по нижнему стеблю	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUmUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
84	CR004197	CR705-10	прогулка по	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUmUAGAGCUAUGCUGUUUUG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
			нижнему стеблю	
85	CR004198	CR705-11	прогулка по нижнему стеблю	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
86	CR004199	CR705-14	верхний стебель и нижний стебель	UUACAGCCACGUCUACAGCAmGUUUmUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmG
87	CR004200	CR705-15	нижний стебель комбинированная модификация	UUACAGCCACGUCUACAGCAmGUUUmUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
88	CR004201	CR705-16	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	UUACAGCCACGUCUACAGCAmGUUUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
89	CR004202	CR705-17	нижний стебель комбинированная модификация	UUACAGCCACGUCUACAGCAmGUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
90	CR004203	CR705-18	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	UUACAGCCACGUCUACAGCAmGUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
91	CR004204	CR705-19	прогулка по связке	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAmGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
92	CR004205	CR705-20	прогулка по связке	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGmAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
93	CR004206	CR705-21	прогулка по связке	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAfGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
94	CR004207	CR705-22	прогулка по связке	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGfAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
95	CR004208	CR705-23	2' F прогулка по нижнему стеблю	UUACAGCCACGUCUACAGCAGfUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
96	CR004209	CR705-24	2' F прогулка по нижнему стеблю	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUfUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
97	CR004210	CR705-25	2' F прогулка по нижнему стеблю	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUFUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
98	CR004211	CR705-26	2' F прогулка по нижнему стеблю	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUFUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
99	CR004212	CR705-27	2' F нижний стебель комбинированная модификация	UUACAGCCACGUCUACAGCAfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
100	CR004213	CR705-28	нижний стебель альтернативная модификация	UUACAGCCACGUCUACAGCAfGmUfUmUfUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
101	CR004214	CR705-29	нижний стебель альтернативная модификация	UUACAGCCACGUCUACAGCAmGfUmUfUmUfUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
102	CR004215	CR705-GC1	нижний стебель GC	UUACAGCCACGUCUACAGCAGGCGCAGAGCUAUGCUGUUUUG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
103	CR004216	CR705-GC3	верхний стебель GC	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAGCUAUGCUGGCGCG
104	CR004188- только модифицирован ные	CR705-1-только модифицированные	верхний стебель	GUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
105	CR004189- только модифицирован ные	CR705-2-только модифицированные	частичная модификация верхний стебель	GUUUUAGAGCUAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
106	CR004190- только модифицирован ные	CR705-3-только модифицированные	частичная модификация верхний стебель	GUUUUAGAGCUAUGCmUmGmUmUmUmUmG
107	CR004191- только модифицирован ные	CR705-4-только модифицированные	частичная модификация верхний стебель	GUUUUAGAGCUAUGCUGUmUmUmUmG
108	CR004192- только модифицирован ные	CR705-5-только модифицированные	нижний стебель	mGmUmUmUmUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
109	CR004193-	CR705-6-только	прогулка по	mGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	только модифицирован ные	модифицированные	нижнему стеблю	
110	CR004194– только модифицирован ные	CR705–7–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	GmUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
111	CR004195– только модифицирован ные–только модифицирован ные	CR705–8–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	GUUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
112	CR004196– только модифицирован ные	CR705–9–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	GUUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
113	CR004197– только модифицирован ные	CR705–10–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	GUUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
114	CR004198– только	CR705–11–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	GUUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	модифицирован ные			
115	CR004199– только модифицирован ные	CR705–14–только модифицированные	верхний стебель и нижний стебель	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
116	CR004200– только модифицирован ные	CR705–15–только модифицированные	нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
117	CR004201– только модифицирован ные	CR705–16–только модифицированные	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
118	CR004202– только модифицирован ные	CR705–17–только модифицированные	нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
119	CR004203– только модифицирован ные	CR705–18–только модифицированные	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
120	CR004204–	CR705–19–только	прогулка по	GUUUUAmGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	только модифицирован ные	модифицированные	связке	
121	CR004205– только модифицирован ные	CR705–20–только модифицированные	прогулка по связке	GUUUUAGmAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
122	CR004206– только модифицирован ные	CR705–21–только модифицированные	прогулка по связке	GAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
123	CR004207– только модифицирован ные	CR705–22–только модифицированные	прогулка по связке	GfAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
124	CR004208– только модифицирован ные	CR705–23–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GfUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
125	CR004209– только модифицирован ные	CR705–24–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GUfUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
126	CR004210– только модифицирован ные	CR705–25–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GUUfUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
127	CR004211– только модифицирован ные	CR705–26–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GUUUfUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
128	CR004212– только модифицирован ные	CR705–27–только модифицированные	2'F нижний стебель комбинированная модификация	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
129	CR004213– только модифицирован ные	CR705–28–только модифицированные	нижний стебель альтернативная модификация	fGmUfUmUfUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
130	CR004214– только модифицирован ные	CR705–29–только модифицированные	нижний стебель альтернативная модификация	mGfUmUfUmUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
131	CR000657		немодифицированна я	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG
132	CR004218	CR657–1	верхний стебель	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUm

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
				UmUmG
133	CR004219	CR657-2	частичная модификация верхний стебель	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAGCUAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
134	CR004220	CR657-3	частичная модификация верхний стебель	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAGCUAUGCmUmGmUmUmUmUmG
135	CR004221	CR657-4	частичная модификация верхний стебель	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAGCUAUGCUGUmUmUmUmG
136	CR004222	CR657-5	нижний стебель	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCmGmUmUmUmUmAGAGCUAUGCUGUUUUUG
137	CR004223	CR657-6	прогулка по нижнему стеблю	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCmGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
138	CR004224	CR657-7	прогулка по нижнему стеблю	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGmUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
139	CR004225	CR657-8	прогулка по нижнему стеблю	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUmUUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
140	CR004226	CR657-9	прогулка по нижнему стеблю	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUmUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
141	CR004227	CR657-10	прогулка по нижнему стеблю	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUmUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
142	CR004228	CR657-11	прогулка по нижнему стеблю	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUUG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
143	CR004229	CR657-14	верхний стебель и нижний стебель	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCmGUUUUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
144	CR004230	CR657-15	нижний стебель комбинированная модификация	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCmGUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUUG
145	CR004231	CR657-16	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCmGUUUUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
146	CR004232	CR657-17	нижний стебель комбинированная модификация	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCmGUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUUG
147	CR004233	CR657-18	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCmGUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
148	CR004234	CR657-19	прогулка по связке	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAmGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
149	CR004235	CR657-20	прогулка по связке	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGmAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
150	CR004236	CR657-21	прогулка по связке	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAfGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
151	CR004237	CR657-22	прогулка по	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGfAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
			связке	mUmUmG
152	CR004238	CR657-23	2' F прогулка по нижнему стеблю	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGfUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmU mUmUmG
153	CR004239	CR657-24	2' F прогулка по нижнему стеблю	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUfUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmU mUmUmG
154	CR004240	CR657-25	2' F прогулка по нижнему стеблю	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUfUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmU mUmUmG
155	CR004241	CR657-26	2' F прогулка по нижнему стеблю	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUfUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmU mUmUmG
156	CR004242	CR657-27	2' F нижний стебель комбинированная модификация	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUm GmUmUmUmUmG
157	CR004243	CR657-28	нижний стебель альтернативная модификация	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCfGmUfUmUfUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUm GmUmUmUmUmG
158	CR004244	CR657-29	нижний стебель альтернативная модификация	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCmGfUmUfUmUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUm GmUmUmUmUmG
159	CR004245	CR657-GC1	нижний стебель GC	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGGCGCAGAGCUAUGCUGUUUUG
160	CR004246	CR657-GC3	верхний стебель GC	CAGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAGCUAUGCUGGCGCG
161	CR004218-	CR657-1-только	верхний стебель	GUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	только модифицирован ные	модифицированные		
162	CR004219– только модифицирован ные	CR657–2–только модифицированные	частичная модификация верхний стебель	GUUUUAGAGCUAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
163	CR004220– только модифицирован ные	CR657–3–только модифицированные	частичная модификация верхний стебель	GUUUUAGAGCUAUGCmUmGmUmUmUmUmG
164	CR004221– только модифицирован ные	CR657–4–только модифицированные	частичная модификация верхний стебель	GUUUUAGAGCUAUGCUGUmUmUmUmG
165	CR004222– только модифицирован ные	CR657–5–только модифицированные	нижний стебель	mGmUmUmUmUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
166	CR004223– только модифицирован ные	CR657–6–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	mGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
167	CR004224– только модифицирован ные	CR657–7–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	GmUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
168	CR004225– только модифицирован ные	CR657–8–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	GUmUUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
169	CR004226– только модифицирован ные	CR657–9–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	GUUmUUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
170	CR004227– только модифицирован ные	CR657–10–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	GUUUmUAGAGCUAUGCUGUUUUUG
171	CR004228– только модифицирован ные	CR657–11–только модифицированные	прогулка по нижнему стеблю	GUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUUG
172	CR004229– только модифицирован	CR657–14–только модифицированные	верхний стебель и нижний стебель	mGUUUmUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	ные			
173	CR004230– только модифицирован ные	CR657–15–только модифицированные	нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUmUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
174	CR004231– только модифицирован ные	CR657–16–только модифицированные	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
175	CR004232– только модифицирован ные	CR657–17–только модифицированные	нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUUmAGAGCUAUGCUGUUUUG
176	CR004233– только модифицирован ные	CR657–18–только модифицированные	верхний стебель, нижний стебель комбинированная модификация	mGUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
177	CR004234– только модифицирован ные	CR657–19–только модифицированные	прогулка по связке	GUUUUAmGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
178	CR004235– только	CR657–20–только модифицированные	прогулка по связке	GUUUUAGmAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	модифицирован ные			
179	CR004236– только модифицирован ные	CR657–21–только модифицированные	прогулка по связке	GUUUUAfGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
180	CR004237– только модифицирован ные	CR657–22–только модифицированные	прогулка по связке	GUUUUAGfAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
181	CR004238– только модифицирован ные	CR657–23–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GfUUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
182	CR004239– только модифицирован ные	CR657–24–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GUfUUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
183	CR004240– только модифицирован ные	CR657–25–только модифицированные	2'F прогулка по нижнему стеблю	GUUfUUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
184	CR004241–	CR657–26–только	2'F прогулка по	GUUUfUAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	только модифицированные	модифицированные	нижнему стеблю	
185	CR004242– только модифицированные	CR657–27–только модифицированные	2' F нижний стебель комбинированная модификация	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
186	CR004243– только модифицированные	CR657–28–только модифицированные	нижний стебель альтернативная модификация	fGmUfUmUfUmAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
187	CR004244– только модифицированные	CR657–29–только модифицированные	нижний стебель альтернативная модификация	mGfUmUfUmUfAGAmGmCmUmAmUmGmCmUmGmUmUmUmUmG
	trPHK			
188	TR000002		немодифицированная	AACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU GGCACCGAGUCGGUGCUUUUUUU
189	TR000110	TR2–v2–1	укороченный хвост	AACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU GGCACCGAGUCGGUGCUUUU
190	TR000111	TR2–v2–2	верхний стебель, шпильки	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAm AmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmU mGmCmUmUmUmU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
191	TR000112	TR2-v2-3	только верхний стебель	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
192	TR000113	TR2-v2-4	шпилька 1	AACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmA mAmAmAmAmGmUmGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
193	TR000114	TR2-v2-5	шпилька 2	AACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU GmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmU
194	TR000115	TR2-v2-6	верхний стебель, шпилька 2	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmU
195	TR000116	TR2-v2-7	обе шпильки	AACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmA mAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmUmUm U
196	TR000117	TR2-v2-8	прогулка по нижнему стеблю	AACAGCAUAGCAAGUmUmAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAA GUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
197	TR000118	TR2-v2-9	прогулка по нижнему стеблю	AACAGCAUAGCAAGUUAmAmAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAA GUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
198	TR000119	TR2-v2-10	прогулка по нижнему стеблю	AACAGCAUAGCAAGUUAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAA GUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
199	TR000120	TR2-v2-11	частичная модификация связка	AACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGmUmUmAUCAACUUGAAAA AGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
200	TR000121	TR2-v2-12	частичная модификация связка	AACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAmUmCmAACUUGAAAA AGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
201	TR000122	TR2-GC1	нижний стебель GC	AACAGCAUAGCAAGUUGCGCUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU GGCACCGAGUCGGUGCUUUU
202	TR000123	TR2-GC3	верхний стебель GC	GCCAGCAUAGCAAGUUAUAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU GGCACCGAGUCGGUGCUUUU
203	TR000124	TR2-GC5	нижний стебель и верхний стебель GC	GCCAGCAUAGCAAGUUGCGCUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU GGCACCGAGUCGGUGCUUUU
204	TR000125	TR2 все OMe		mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCmAmAmGmUmUmAmAmAmAmUmAmAmGmGm CmUmAmGmUmCmCmGmUmUmAmUmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmU mGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmUmUmUmU
205	TR000126	TR2-v2-13	нижний стебель	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUmUmAmAmAmAmUAAGGCUAGUCCGU UAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmUmUmUmU
206	TR000127	TR2-v2-14	нижний стебель	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUA UCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmG mGmUmGmCmUmUmUmU
207	TR000128	TR2-v2-15	нижний стебель	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGU UAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmUmUmUmU
208	TR000129	TR2-v2-16	нижний стебель альтернативная модификация	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUmUfAmAfAmAfUAAGGCUAGUCCGU UAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmUmUmUmU
209	TR000130	TR2-v2-17	нижний стебель	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
			альтернативная модификация	UAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmUmUmUmU
210	TR000131	TR2-v2-18	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCmA mAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGm UmGmCmUmUmUmU
211	TR000132	TR2-v2-19	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUmCA mAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGm UmGmCmUmUmUmU
212	TR000133	TR2-v2-20	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUmUCA mAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGm UmGmCmUmUmUmU
213	TR000134	TR2-v2-21	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUmAUCA mAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGm UmGmCmUmUmUmU
214	TR000135	TR2-v2-22	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCA mAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGm UmGmCmUmUmUmU
215	TR000136	TR2-v2-23	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGmUUAUCA mAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGm UmGmCmUmUmUmU
216	TR000137	TR2-v2-24	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUfCf AmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmG mUmGmCmUmUmUmU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
217	TR000138	TR2-v2-25	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUfAfUC AmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmG mUmGmCmUmUmUmU
218	TR000139	TR2-v2-26	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGfUfUAUC AmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmG mUmGmCmUmUmUmU
219	TR000140	TR2-v2-27	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAmGmGmCUAGUCCGUUAU CAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGm GmUmGmCmUmUmUmU
220	TR000141	TR2-v2-28	прогулка по связке	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUmCmCmGUUAU CAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGm GmUmGmCmUmUmUmU
221	TR000142	TR2-v2-29	прогулка по расширению	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCmAmAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmG mUmGmCmUmUmUmU
222	TR000143	TR2-v2-30	прогулка по расширению	mAmAmCmAmGmCmAmUmAmGmCAAmGmUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmG mUmGmCmUmUmUmU
223	TR000144	TR2-GC6	нижний стебель GC	AACAGCAUAGCAAGUUGAGAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU GGCACCGAGUCGGUGCUUUU
224	TR000145	TR2-GC7	GC прогулка по нижнему стеблю	AACAGCAUAGCAAGUUAAGUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU GGCACCGAGUCGGUGCUUUU
225	TR000146	TR2-GC8	GC прогулка по	AACAGCAUAGCAAGUUAAGAUAAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
			нижнему стеблю	GGCACCGAGUCGGUGCUUUU
226	TR000147	TR2-GC9	GC прогулка по нижнему стеблю	AACAGCAUAGCAAGUUAGAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU GGCACCGAGUCGGUGCUUUU
227	TR000148	TR2-GC10	GC прогулка по нижнему стеблю	AACAGCAUAGCAAGUUGAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGU GGCACCGAGUCGGUGCUUUU
	sgPHK			
228	G000209			mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC mU*mU*mU*U
229	G000262	G209-1	шпилька 2	mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUmGmGmCmAmCmCmGmA mGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
230	G000263	G209-2	шпильки	mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmG mCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
231	G000264	G209-3	петля из четырех нуклеотидов	mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAGCUAmGmAmAmAUAGCA AGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCG GUGCmU*mU*mU*U
232	G000265	G209-4	верхний стебель	mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAmGmCmUmAGAAAmUmAm GmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGA GUCGGUGCmU*mU*mU*U
233	G000266	G209-5	верхний стебель и петля	mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCA

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
				CCGAGUCGGUGCmU*mU*mU*U
234	G000267	G209-6	верхний стебель, петля, шпильки	mC*mC*mA*GUCCAGCGAGGCAAAGGGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmA mAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
235	G000262- только модифицирован ные	G209-1-только модифицированные	шпилька 2	GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACU UGAAAAAGUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*m U
236	G000263- только модифицирован ные	G209-2-только модифицированные	шпильки	GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAm CmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmG mCmU*mU*mU*mU
237	G000264- только модифицирован ные	G209-3-только модифицированные	петля из четырех нуклеотидов	GUUUUAGAGCUAmGmAmAmAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUC AACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCmU*mU*mU*U
238	G000265- только модифицирован ные	G209-4-только модифицированные	верхний стебель	GUUUUAGAmGmCmUmAGAAAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGU UAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCmU*mU*mU*U
239	G000266- только модифицирован	G209-5-только модифицированные	верхний стебель и петля	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCmU*mU*mU*U

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	ные			
240	G000267– только модифицирован ные	G209–6–только модифицированные	верхний стебель, петля, шпильки	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG mUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
241	G000211		концевая модификация	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC mU*mU*mU*U
242	G000282		мод. 6	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmA mAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
243	G000201		немод.	UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
244	G000331	G211–7	нижний стебель cr	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAm AmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU* mU
245	G000332	G211–8	нижний стебель cr	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGm AmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU *mU*mU
246	G000333	G211–9	нижний стебель cr	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGfUfUfUfUfUmAGAmGmCmUmAmGm AmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
				mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU *mU *mU*mU
247	G000334	G211-10	нижний стебель tr	mU*mU*mA *CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmA mAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU *mU *m U*mU
248	G000335	G211-11	нижний стебель tr	mU*mU*mA *CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU *mU *mU*mU
249	G000336	G211-12	нижний стебель tr	mU*mU*mA *CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU *mU *mU*mU
250	G000337	G211-13	нижний стебель все	mU*mU*mA *CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAm AmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU *mU *mU*mU
251	G000338	G211-14	нижний стебель все	mU*mU*mA *CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAm AmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmU mGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU * mU*mU*mU
252	G000339	G211-15	нижний стебель	mU*mU*mA *CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAm

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
			все	AmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
253	G000340	G211-16	нижний стебель все	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
254	G000341	G211-17	нижний стебель все	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
255	G000342	G211-18	нижний стебель все	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
256	G000343	G211-19	Расширение cr	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAmGmAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
257	G000344	G211-20	Расширение tr	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
258	G000345	G211-21	связка	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUfAfUfCfAmAmCmUmUmGmA mAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*m U*mU
259	G000346	G211-22	связка	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAmUmCmAmAmCmUmUmGmAm AmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU *mU
260	G000347	G211-23	нижний стебель все	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAfGfUfUfUfUfAmGmAmGmCmUmAm GmAmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAm UmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
261	G000348	G211-24	без PS	mUmUmACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmA mGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAm AmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmU
262	G000349	G211-25	2 OMe PS	mU*mU*ACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUm AmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmU*mU*mU
263	G000350	G211-26	2'F шпилька	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmA mAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGfUfCfGfGfUfGfCfU*fU*fU*mU
264	G000351	G211-27	Альтернативная модификация	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAfAmCfUmUfGmAfAmA

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
			шпилька	fAmAfGmUfGmGfCmAfCmCfGmAfGmUfCmGfGmUfGmCfU*mU*fU*mU
265	G000331- только модифицирован ные	G211-7-только модифицированные	нижний стебель cr	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUA GUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmA mGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
266	G000332- только модифицирован ные	G211-8-только модифицированные	нижний стебель cr	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAG GCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmC mGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
267	G000333- только модифицирован ные	G211-9-только модифицированные	нижний стебель cr	mGfUfUfUfUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAG GCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmC mGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
268	G000334- только модифицирован ные	G211-10-только модифицированные	нижний стебель tr	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGC UAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmG mAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
269	G000335- только модифицирован ные	G211-11-только модифицированные	нижний стебель tr	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAG GCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmC mGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
270	G000336- только	G211-12-только модифицированные	нижний стебель tr	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAG GCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmC

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	модифицирован ные			mGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
271	G000337– только модифицирован ные	G211–13–только модифицированные	нижний стебель все	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAG GCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmC mGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
272	G000338– только модифицирован ные	G211–14–только модифицированные	нижний стебель все	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUA AGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmC mCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
273	G000339– только модифицирован ные	G211–15–только модифицированные	нижний стебель все	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUA AGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmC mCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
274	G000340– только модифицирован ные	G211–16–только модифицированные	нижний стебель все	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAm UAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmA mCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
275	G000341– только модифицирован ные	G211–17–только модифицированные	нижний стебель все	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAm AmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmC mAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
276	G000342–	G211–18–только	нижний стебель	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAf

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	только модифицирован ные	модифицированные	все	AmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmC mAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
277	G000343– только модифицирован ные	G211–19–только модифицированные	Расширение cr	GUUUUAmGmAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUA GUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmA mGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
278	G000344– только модифицирован ные	G211–20–только модифицированные	Расширение tr	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUUAAAAUAAGGC UAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmG mAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
279	G000345– только модифицирован ные	G211–21–только модифицированные	связка	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUfAfUfCfAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmG mAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
280	G000346– только модифицирован ные	G211–22–только модифицированные	связка	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAmUmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGm AmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
281	G000347– только модифицирован ные	G211–23–только модифицированные	нижний стебель все	fGfUfUfUfUfAmGmAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUmUm AfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAmUmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAm GmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
282	G000348– только модифицирован ные	G211–24–только модифицированные	без PS	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG mUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmU
283	G000349– только модифицирован ные	G211–25–только модифицированные	2 OMe PS	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG mUmCmGmGmUmGmCmUmU*mU*mU
284	G000350– только модифицирован ные	G211–26–только модифицированные	2'F шпилька	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG fUfCfGfGfUfGfCfU*fU*fU*mU
285	G000351– только модифицирован ные	G211–27–только модифицированные	Альтернативная модификация шпилька	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAfAmCfUmUfGmAfAmAfAmAfGmUfGmGfCmAfCmCfGmAfG mUfCmGfGmUfGmCfU*mU*fU*mU
286	G000208		концевая модификация	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC mU*mU*mU*U
287	G000373		мод. 6	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmA mAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
288	G000352	G208–7	нижний стебель cr	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCmGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAm

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
				AmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU* mU
289	G000353	G208-8	нижний стебель cr	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGm AmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU *mU*mU
290	G000354	G208-9	нижний стебель cr	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCmGfUfUfUfUfUmAGAmGmCmUmAmGm AmAmAmUmAmGmCAAGUUA AAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU *mU*mU
291	G000355	G208-10	нижний стебель tr	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmA mAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*m U*mU
292	G000356	G208-11	нижний стебель tr	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU *mU*mU
293	G000357	G208-12	нижний стебель tr	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU *mU*mU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
294	G000358	G208-13	нижний стебель все	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCmGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAm AmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU *mU*mU
295	G000359	G208-14	нижний стебель все	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCmGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAm AmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmU mGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU* mU*mU*mU
296	G000360	G208-15	нижний стебель все	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCmGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAm AmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmU mGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU* mU*mU*mU
297	G000361	G208-16	нижний стебель все	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGm AmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmU mUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCm U*mU*mU*mU
298	G000362	G208-17	нижний стебель все	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGm AmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmC mUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGm CmU*mU*mU*mU
299	G000363	G208-18	нижний стебель все	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCfGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGm AmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAfAmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmC mUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGm

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
				CmU*mU*mU*mU
300	G000364	G208-19	Расширение cr	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAmGmAmGmCmUmAmGmAmAm AmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
301	G000365	G208-20	Расширение tr	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCmAmAmGmUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmA mAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU U*mU
302	G000366	G208-21	связка	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUfAfUfCfAmAmCmUmUmGmA mAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU U*mU
303	G000367	G208-22	связка	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAmUmCmAmAmCmUmUmGmAm AmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU *mU
304	G000368	G208-23	нижний стебель все	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCfGfUfUfUfUfAmGmAmGmCmUmAm GmAmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUmUmAfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAm UmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmC mGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
305	G000369	G208-24	без PS	mCmAmGGGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmA mGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAm

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
				AmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmU
306	G000370	G208-25	2 OMe PS	mC*mAG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUm AmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmA mAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmU*mU*mU
307	G000371	G208-26	2' F шпилька	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmA mAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGfUfCfGfGfUfGfCfU*fU*fU*mU
308	G000372	G208-27	Альтернативная модификация шпилька	mC*mA*mG*GGCUCUUGAAGAUCUCCGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAfAmCfUmUfGmAfAmA fAmAfGmUfGmGfCmAfCmCfGmAfGmUfCmGfGmUfGmCfU*mU*fU*mU
309	G000352- только модифицирован ные	G208-7-только модифицированные	нижний стебель cr	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUA GUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmA mGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
310	G000353- только модифицирован ные	G208-8-только модифицированные	нижний стебель cr	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAG GCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmC mGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
311	G000354- только модифицирован ные	G208-9-только модифицированные	нижний стебель cr	mGfUfUfUfUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAG GCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmC mGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
312	G000355-	G208-10-только	нижний стебель tr	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAGGC

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	только модифицирован ные	модифицированные		UAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmG mAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
313	G000356– только модифицирован ные	G208–11–только модифицированные	нижний стебель tr	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUAAG GCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmC mGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
314	G000357– только модифицирован ные	G208–12–только модифицированные	нижний стебель tr	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAfAmAmUAAG GCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmC mGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
315	G000358– только модифицирован ные	G208–13–только модифицированные	нижний стебель все	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAmUAAG GCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmC mGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
316	G000359– только модифицирован ные	G208–14–только модифицированные	нижний стебель все	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAmAmUA AGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmC mCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
317	G000360– только модифицирован ные	G208–15–только модифицированные	нижний стебель все	mGUUUUmAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAfAmAmUA AGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmC mCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
318	G000361– только модифицирован ные	G208–16–только модифицированные	нижний стебель все	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAAAmAm UAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmA mCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
319	G000362– только модифицирован ные	G208–17–только модифицированные	нижний стебель все	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUmUmAfAfAm AmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmC mAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
320	G000363– только модифицирован ные	G208–18–только модифицированные	нижний стебель все	fGfUfUfUfUfAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUfUmAfAmAf AmUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmC mAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
321	G000364– только модифицирован ные	G208–19–только модифицированные	Расширение cr	GUUUUAmGmAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUA GUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmA mGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
322	G000365– только модифицирован ные	G208–20–только модифицированные	Расширение tr	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUUAAAAUAAGGC UAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmG mAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
323	G000366– только модифицирован	G208–21–только модифицированные	связка	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUfAfUfCfAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmG mAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	ные			
324	G000367– только модифицирован ные	G208–22–только модифицированные	связка	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAmUmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGm AmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
325	G000368– только модифицирован ные	G208–23–только модифицированные	нижний стебель все	fGfUfUfUfUfAmGmAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCmAmAmGmUmUm AfAfAmAmUAAGGCUAGUCCGUUAmUmCmAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAm GmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
326	G000369– только модифицирован ные	G208–24–только модифицированные	без PS	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG mUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmU
327	G000370– только модифицирован ные	G208–25–только модифицированные	2 OMe PS	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG mUmCmGmGmUmGmCmUmU*mU*mU
328	G000371– только модифицирован ные	G208–26–только модифицированные	2' F шпилька	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmG fUfCfGfGfUfGfCfU*fU*fU*mU
329	G000372– только	G208–27–только модифицированные	Альтернативная модификация	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGU CCGUUAUCAfAmCfUmUfGmAfAmAfAmAfGmUfGmGfCmAfCmCfGmAfG

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
	модифицирован ные		шпилька	mUfCmGfGmUfGmCfU*mU*fU*mU
330	G000269		концевая модификация	mC*mC*mC*AUACUCCUACAGCACCAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUU AAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC mU*mU*mU*U
331	G000283		мод. 6	mC*mC*mC*AUACUCCUACAGCACCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAm UmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmA mAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
332	G000285		немод.	CCCAUACUCCUACAGCACCAGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUA AGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
342	G000537	G211-33	5'-конец 3xOMePS	mU*mU*mA*CAGCCAGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmA mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmU
343	G000538	G211-34	3'-конец 3xOMePS	mUmUmACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUm AmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAm AmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
344	G000539	G211-35	5xOMePS	mU*mU*mA*mC*mA*GCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmA mAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmG mAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmG*mC*mU *mU*mU*mU
345	G000541	G211-37	3xOMePS+2PS	mU*mU*mA*C*A*GCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAm AmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmG*mC*mU*mU*m

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
				U*mU
346	G000542	G211-38	3xOMePS+7PS	mU*mU*mA*C*A*G*C*C*A*C*GUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAm GmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUm UmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmU*mC*mG*mG*mU* mG*mC*mU*mU*mU*mU
347	G000543	G211-39	инв. удаленными основаниями	(invd) UUACAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmA mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmUmUmUmU (инв .)
348	G000544	G211-40	инв. удаленными основаниями+3xOMePS	(инв .) mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmG mAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmU mGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU *mU*mU*mU (инв .)
349	G000564	G211-42	3xMOE-PS	moeU*moeU*moeA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmG mAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmU mGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmo eU*moeU*moeU*mU
350	G000545	G211-43	US петля PS	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmA*mG*mA*m A*mA*mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUm GmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU* mU*mU*mU

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
351	G000546	G211-44	H1 петля PS	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmA mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmU*mG*mA *mA*mA*mAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU* mU*mU*mU
352	G000547	G211-45	H2 петля PS	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmA mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmG*mA*mG*mU*mCmGmGmUmGmCmU*m U*mU*mU
353	G000548	G211-46	все петли PS	mU*mU*mA*CAGCCACGUCUACAGCAGUUUUAGAmGmCmUmA*mG*mA*m A*mA*mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmU* mG*mA*mA*mA*mAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmG*mA*mG*mU*mCmGmG mUmGmCmU*mU*mU*mU
354			Мод. 6 (с модификациями, не показанными в списке последовательностей)	mN*mN*mN*NNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmA mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU *mU N=любой нуклеотид
355			Только невариабельная область	GUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAAC UUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
356			Паттерн мод. 6; только	GUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmAmUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAG UCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmAmAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmA

SEQ ID NO	Название	Альтернативное название	Описание	Последовательность
			невариабельная область	mGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU*mU
357			Вариабельная и невариабельная область	NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAU AAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGCUUUU
358			Мод. 6 с модификациями, показанными в списке последовательнос тей	mN*mN*mN*NNNNNNNNNNNNNNNNNNNGUUUUAGAmGmCmUmAmGmAmAmA mUmAmGmCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAmAmCmUmUmGmAmA mAmAmAmGmUmGmGmCmAmCmCmGmAmGmUmCmGmGmUmGmCmU*mU*mU *mU N=любой нуклеотид

[0059] Термины “направляющая РНК” и “gРНК” используются в настоящем документе на равных основаниях и совместно относятся к sgРНК, trРНК (также известной как tracrРНК) или crРНК (также известной как CRISPR РНК). crРНК и trРНК могут быть ассоциированы на одной молекуле РНК (одиночная направляющая РНК [sgРНК]) или в двух отдельных молекулах РНК (двойная направляющая РНК [dgРНК]). Термины «направляющая РНК» или «gРНК» относятся к каждому из этих типов.

[0060] Последовательности trРНК могут быть природными или последовательность trРНК может содержать модификации или изменения по сравнению с природными последовательностями.

[0061] “Эффективность редактирования” или “процентная доля редактирования” или “процент редактирования” в настоящем документе является общим количеством считанных фрагментов последовательности с инсерциями или делециями нуклеотидов в исследуемой области-мишени по отношению к общему количеству считанных фрагментов последовательности после расщепления РНП Cas.

[0062] “Шпилька” в настоящем документе обозначает петлю нуклеиновой кислоты, образованную при складывании нуклеотидной цепи и образовании пар оснований с другим фрагментом той же цепи. Шпилька может образовывать структуру, содержащую петлю или U-образную структуру. В некоторых вариантах воплощения шпилька может содержать петлю РНК. Шпильки могут быть образованы двумя комплементарными последовательностями одиночной молекулы нуклеиновой кислоты, связывающимися друг с другом при складывании или сморщивании молекулы. В некоторых вариантах воплощения шпильки образуют структуры типа «стебель» или «стебель-петля».

[0063] В настоящем документе термин «области» обозначает консервативные группы нуклеиновых кислот. Области также можно называть «модулями» или «доменами». Области gРНК могут выполнять конкретные функции, например, при определении специфичности эндонуклеазной активности РНП, например, как описано в статье *Briner AE et al., Molecular Cell 56:333–339 (2014)*. Области gРНК описаны в таблицах 1–3.

[0064] В настоящем документе термин «рибонуклеопротеин» (РНП) или «РНП-комплекс» описывает gРНК, например, вместе с нуклеазой, например, белком Cas. В некоторых вариантах воплощения РНП содержит Cas9 и gРНК.

[0065] Термин "стебель-петля" в настоящем документе описывает вторичную структуру нуклеотидов, образующих «стебель» из пар оснований, заканчивающийся петлей из неспаренных нуклеотидов. Стебель может быть образован при по меньшей мере частичной комплементарности двух областей одной и той же цепи нуклеиновой кислоты в последовательности при чтении в противоположных направлениях. Термин "петля" в настоящем документе описывает область из нуклеотидов, не образующих пар оснований (т.е. не комплементарных друг другу), которые могут находиться над стеблем. Термин «тетра-петля» описывает петлю из 4 нуклеотидов. В настоящем документе верхний стебель sgРНК может содержать петлю из 4 нуклеотидов.

[0066] В некоторых вариантах воплощения, включающих dgРНК, область «стебля» в настоящем документе означает вторичную структуру из нуклеотидов, образующих область спаренных оснований между некоторыми областями crРНК и trРНК (например, области нижнего и верхнего стебля каждой РНК). Область "стебля" в dgРНК в данной области техники также можно называть областью "флагштока".

[0067] "Лечение" в настоящем документе охватывает любое введение или нанесение терапевтического средства для лечения заболевания у субъекта и включает ингибирование заболевания, остановку его развития, облегчения одного или более из симптомов заболевания, излечивание заболевания или профилактику повторного возникновения одного или более из симптомов заболевания.

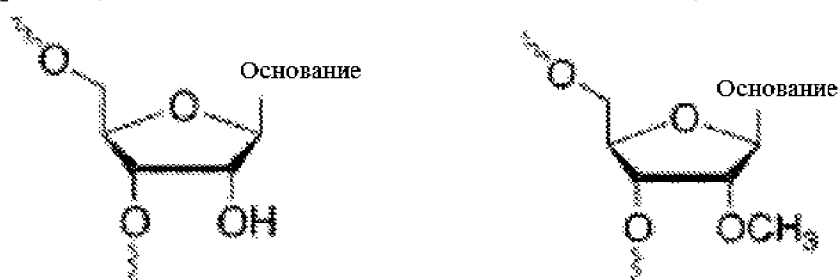
1. Типы модификаций

2'-O-метил-модификации

[0068] Считается, что модифицированные углеводы управляют сморщиванием углеводных колец нуклеотидов – физическим свойством, влияющим на сродство связывания олигонуклеотидов с комплементарными цепями, образование двуцепочечных структур и взаимодействие с нуклеазами. Поэтому заместитель углеводных колец может влиять на подтверждение и сморщивание этих углеводов. Например, 2'-O-метил (2'-O-Me) модификации могут повышать сродство связывания и нуклеазную стабильность олигонуклеотидов, хотя, как показано в примерах, влияние любой модификации в данном положении олигонуклеотида следует определять эмпирически.

[0069] Термины "mA," "mC," "mU" или "mG" можно использовать для обозначения нуклеотида, модифицированного 2'-O-Me.

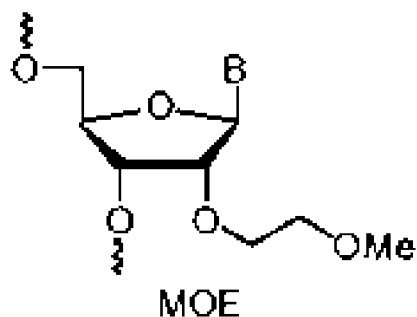
[0070] Модификацию рибонуклеотида как 2'-О-метилрибонуклеотида можно обозначить следующим образом:



РНК 2'-О-Ме

2'-О-(2-метоксиэтил) модификации

[0071] В некоторых вариантах воплощения модификация может быть 2'-О-(2-метоксиэтил) (2'-О-мое). Модификацию рибонуклеотида как а 2'-О-мое-рибонуклеотида можно обозначить следующим образом:



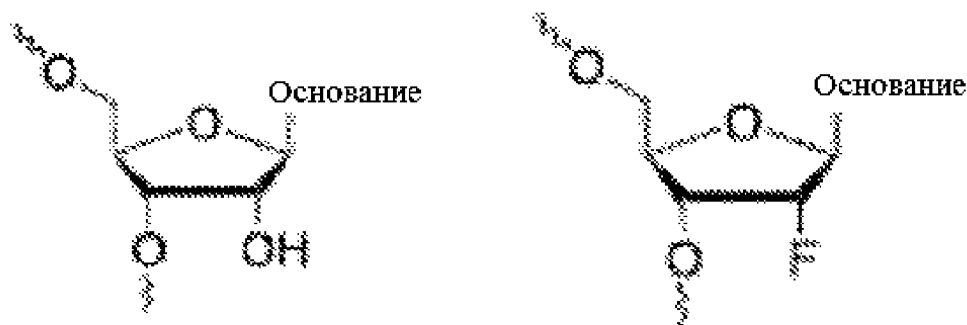
[0072] Термины "moeA," "moeC," "moeU" или "moeG" можно использовать для обозначения нуклеотида, модифицированного 2'-О-мое.

2'-фтор-модификации

[0073] Показано, что еще одна химическая модификация, влияющая на углеводные кольца нуклеотидов, является заместителем галогена. Например, 2'-фтор- (2'-F) заместитель в углеводных кольцах нуклеотида может увеличить сродство связывания и нуклеазную стабильность олигонуклеотида.

[0074] В настоящей заявке термины "fA," "fC," "fU" или "fG" можно использовать для обозначения нуклеотида, замещенного 2'-F.

[0075] Замену 2'-F можно обозначить следующим образом:



РНК 2'-F-РНК

Натуральная структура РНК 2'-F замещение

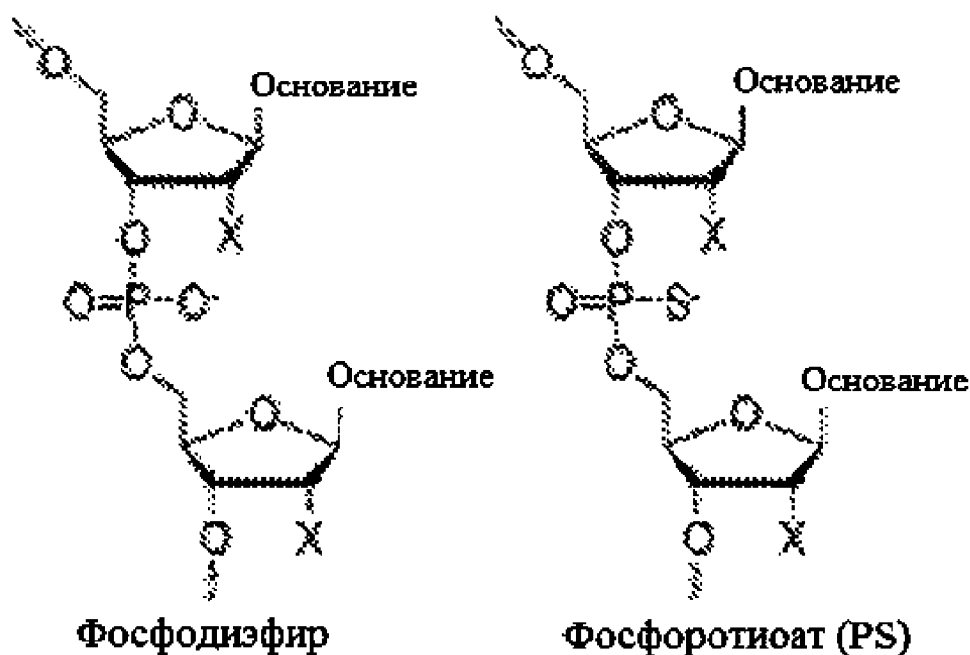
Фосфоротиоатные модификации

[0076] Фосфоротиоатная (PS) связь относится к связи, где немостиновый атом кислорода в составе фосфата, образующего фосфодиэфирную связь, например, в связях между основаниями нуклеотидов, замещен атомом серы. При использовании фосфоротиоатов для образования олигонуклеотидов модифицированные олигонуклеотиды также можно называть S-олигонуклеотидами.

[0077] Знак "*" можно использовать для обозначения PS-модификации. Например, термины A*, C*, U* или G* можно использовать для обозначения нуклеотида, соединенного со следующим (например, 3'-) нуклеотидом PS-связью.

[0078] В настоящей заявке термины "mA*," "mC*," "mU*" или "mG*" можно использовать для обозначения нуклеотида, замещенного 2'-O-Me и соединенного со следующим (например, 3'-) нуклеотидом PS-связью. Аналогичным образом, термины "fA*," "fC*," "fU*" или "fG*" можно использовать для обозначения нуклеотида, замещенного 2'-F и соединенного со следующим (например, 3'-) нуклеотидом PS-связью. Эквиваленты PS-соединения или связи входят в варианты воплощения, описанные в настоящем документе.

[0079] На приведенной ниже диаграмме показаны S-замены немостиновых атомов кислорода в составе фосфата с образованием PS-связи вместо фосфодиэфирной связи:



Природная фосфодиэфирная
связь РНК

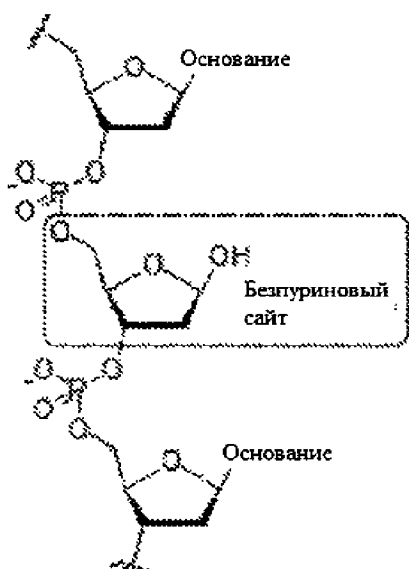
Модифицированная
фосфотиоатная (PS) связь

G-C-заместители

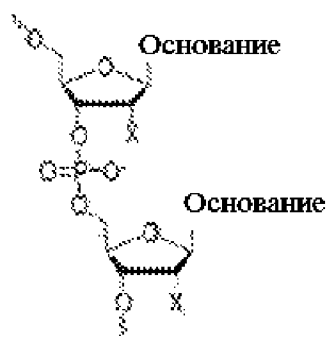
[0080] В некоторых вариантах воплощения gРНК модифицированы заместителями в составе последовательности, не содержащими химических модификаций. В некоторых вариантах воплощения сконструированы модифицированные gРНК с G-C парами (например, в областях нижнего и/или верхнего стебля), не встречающиеся в исходной последовательности gРНК. В некоторых вариантах воплощения сконструированы модифицированные gРНК с G-U несовпадениями ("прецессией GU" или образованием несоответствующих пар), не встречающиеся в исходной последовательности gРНК.

Инвертированные модификации без оснований

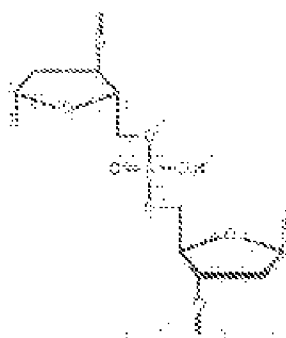
[0081] Нуклеотиды без оснований относятся к нуклеотидам, не содержащим азотистых оснований. Ниже на фигуре изображен олигонуклеотид с сайтом без основания (также называемым апуриновым сайтом), не содержащим азотистого основания.



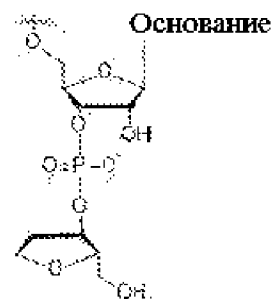
[0082] Инвертированные основания относятся к основаниям со связями, инвертированными по сравнению с обычной 5'-3'-связью (т.е. 5'-5'-связью или 3'-3'-связью). Например:



Нормальная
олигонуклеотидная
связь



Инвертированная
олигонуклеотидная
связь



3' инвертированный
абазический

[0083] Нуклеотид без основания можно присоединить инвертированной связью. Например, нуклеотид без основания можно присоединить к концевому 5'-нуклеотиду 5'-5'-связью, либо нуклеотид без основания можно присоединить к концевому 3'-нуклеотиду 3'-3'-связью. Инвертированный нуклеотид без основания в положении концевом 5'- или 3'-нуклеотида также можно называть инвертированным концевым кэпом без основания. В настоящей заявке термин "инв." означает инвертированную нуклеотидную связь без оснований.

[0084] Вышеприведенные модификации и их эквиваленты входят в рамки вариантов воплощения, описанных в настоящем документе.

2. Композиции направляющих РНК

[0085] Настоящее изобретение включает композиции, содержащие направляющую РНК. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК содержит trРНК. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК содержит crРНК. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК содержит crРНК и trРНК. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК содержит crРНК и trРНК в одной молекуле РНК, например, sgРНК. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК содержит crРНК и trРНК в двух молекулах РНК, например, dgРНК. В dgРНК две молекулы РНК могут связываться посредством образования пар оснований.

[0086] В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК содержит 5'-концевую область. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК не содержит 5'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая область содержит "спейсерную" область, описанную в статье *Briner AE et al., Molecular Cell 56:333-339 (2014)* для sgРНК (однако в настоящем документе применимую ко всем направляющим РНК). В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая область содержит 5'-концевую модификацию. 5'-концевая область со спейсерной областью или без нее может связываться с crРНК, trРНК, sgРНК и/или dgРНК. Спейсерную область в настоящем и других документах иногда называют "направляющей областью", "направляющим доменом" или "доменом, обеспечивающим адресное воздействие". Термин "последовательность-мишень" в настоящем документе относится к нуклеотидной последовательности, по отношению к которой направляющая область/домен обеспечивает адресное воздействие нуклеазного гидролиза. В некоторых вариантах воплощения направляющая область/домен может обеспечивать специфичность белка *spyCas9* по отношению к последовательности-мишени молекулы нуклеиновой кислоты-мишени за счет нуклеотидов, присутствующих в спейсерной области. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК не содержит спейсерной области.

[0087] В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК, описанная в настоящем документе, содержит или состоит из любой из последовательностей, показанных в таблице 4. В то же время следует учитывать, что если последовательность содержит направляющую/спейсерную область, композиция может содержать или не содержать эту область. Кроме того, настоящее изобретение включает направляющие РНК, содержащие модификации любой из последовательностей, показанных в таблице 4 и приведенных в

настоящем документе под идентификаторами SEQ ID No. Т.е. нуклеотиды могут быть такими же или другими, но показанный шаблон модификации может быть таким же, как шаблон модификации направляющей последовательности, приведенной в таблице 4, или аналогичным ему. Шаблон модификации включает относительное положение и идентификатор модификации gРНК или области gРНК (например, 5'-концевой области, области нижнего стебля, области расширения, области верхнего стебля, области связки, области шпильки 1, области шпильки 2, 3'-концевой области). В некоторых вариантах воплощения шаблон модификации содержит по меньшей мере 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99% модификаций любой из последовательностей, показанных в столбце последовательностей таблицы 4, или в одной или более из областей последовательности. В некоторых вариантах воплощения шаблон модификации по меньшей мере на 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99% идентичен шаблону модификации любой из последовательностей, показанных в столбце последовательностей таблицы 4. В некоторых вариантах воплощения шаблон модификации по меньшей мере на 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99% идентичен в одной или более из областей последовательности, представленной в таблице 4, например, 5'-концевой области, области нижнего стебля, области расширения, области верхнего стебля, области связки, области шпильки 1, области шпильки 2 и/или 3'-концевой области. Например, некоторые варианты воплощения включают направляющую РНК, в которой шаблон модификации по меньшей мере на 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99% идентичен шаблону модификации последовательности в 5'-концевой области. Некоторые варианты воплощения включают направляющую РНК, в которой шаблон модификации по меньшей мере на 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99% идентичен шаблону в области нижнего стебля. Некоторые варианты воплощения включают направляющую РНК, в которой шаблон модификации по меньшей мере на 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 9%, 98 и 99% идентичен шаблону в области расширения. Некоторые варианты воплощения включают направляющую РНК, в которой шаблон модификации по меньшей мере на 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99% идентичен шаблону в области верхнего стебля. Некоторые варианты воплощения включают направляющую РНК, в которой шаблон модификации по меньшей мере на 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99%

идентичен шаблону в области связи. Некоторые варианты воплощения включают направляющую РНК, в которой шаблон модификации по меньшей мере на 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99% идентичен шаблону в области шпильки 1. Некоторые варианты воплощения включают направляющую РНК, в которой шаблон модификации по меньшей мере на 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99% идентичен шаблону в области шпильки 2. Некоторые варианты воплощения включают направляющую РНК, причем шаблон модификации по меньшей мере на 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 и 99% идентичен шаблону в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения шаблон модификации отличается от шаблона модификации последовательности, приведенной в таблице 4, или области (например, 5'-концевой области, нижнего стебля, расширения, верхнего стебля, связи, шпильки 1, шпильки 2, 3'-концевой области) такой последовательности на 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения gРНК содержит модификации, отличающиеся от модификаций последовательности, приведенной в таблице 4, на 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения gРНК содержит модификации, отличающиеся от модификаций области (например, 5'-концевой области, нижнего стебля, расширения, верхнего стебля, связи, шпильки 1, шпильки 2, 3'-концевой области) последовательности, приведенной в таблице 4, на 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов.

[0088] В некоторых вариантах воплощения gРНК содержит 2'-О-метил (2'-О-Me) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения gРНК содержит 2'-О-(2-метоксиэтил) (2'-О-мое) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения gРНК содержит 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения gРНК содержит фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами.

[0089] В некоторых вариантах воплощения gРНК содержит а 5'-концевую модификацию, 3'-концевую модификацию или 5'- и 3'-концевые модификации. В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая модификация содержит фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами. В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая модификация содержит а 2'-О-метил (2'-О-Me), 2'-О-(2-метоксиэтил) (2'-О-мое) и/или 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая модификация содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную (PS)

связь и один или более из 2'-O-метил (2'-O-Me) , 2'-O-(2-метоксиэтил) (2'-O-moe) и/или 2'-фтор (2'-F) модифицированных нуклеотидов. Концевая модификация может включать фосфоротиоатную (PS), 2'-O-метил (2'-O-Me), 2'-O-(2-метоксиэтил) (2'-O-moe) и/или 2'-фтор (2'-F) модификацию. Эквивалентные концевые модификации также входят в варианты воплощения, описанные в настоящем документе. В некоторых вариантах воплощения gРНК содержит концевую модификацию в комбинации с модификацией одной или более областей gРНК.

Композиции sgРНК

[0090] В некоторых вариантах воплощения композиции и способы согласно настоящему изобретению включают gРНК, содержащую crРНК и trРНК, обеспечивающие специфичность нуклеазы, например, Cas9, по отношению к последовательности ДНК-мишени. В некоторых вариантах воплощения gРНК, описанные в настоящем документе, могут быть ассоциированы на одной молекуле РНК (одиночной направляющей РНК или sgРНК).

[0091] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает sgРНК, содержащую или состоящую из любой из последовательностей, описанных в SEQ ID No: 228-332.

[0092] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, содержащая любую одну из модифицированных последовательностей SEQ ID Nos: 235-240, 265-285 и 309-329. Некоторые варианты воплощения включают sgРНК, содержащую любую одну из модифицированных последовательностей SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329, причем sgРНК дополнительно содержит 5'-"спейсерную" последовательность ("направляющую последовательность"), комплементарную последовательности-мишени и обеспечивающую специфичность Cas9 по отношению к гидролизуемой мишени. В некоторых случаях настоящее изобретение включает sgРНК, содержащую нуклеиновые кислоты, характеризующиеся по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеиновым кислотам любой из SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329, в которой шаблон модификации идентичен шаблону модификации, представленному в эталонном идентификаторе последовательности.

1. Домены sgРНК

[0093] В статье *Briner AE et al., Molecular Cell* 56:333-339 (2014) описаны функциональные домены sgРНК, в настоящем документе называемые "доменами", включая "спейсерный" домен,

отвечающий за адресное воздействие, домены "нижний стебель", "расширение", "верхний стебель" (который может содержать петлю из 4 нуклеотидов), "связка" и "шпилька 1" и "шпилька 2". См. Briner et al. на странице 334, фигура 1A.

[0094] В **таблице 1** и на фиг. 21A представлено описание доменов sgРНК, используемое в настоящем документе. В таблице 1, "n" между областями является переменной количества нуклеотидов, например, от 0 до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более. В некоторых вариантах воплощения n равно 0. В некоторых вариантах воплощения n равно 1.

Таблица 1: Области sgРНК (линейный вид, от 5' к 3')

	LS1-6		B1-2		US1-12		B3-6	
5'-концевая область	Нижний стебель	n	Расширение	n	Верхний стебель	n	Расширение	n

(продолжение см. ниже)

LS7-12		N1-18		H1-1 по H1-12		H2-1 по H2-12	
Нижний стебель	n	Связь	n	Шпилька 1	n	Шпилька 2	3'-концевая область

5'-концевая область

[0095] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит нуклеотиды в 5'-концевой области, показанные в таблице 1. В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая область sgРНК содержит спейсерную или направляющую область, обеспечивающую специфичность белка Cas по отношению к нуклеотидной последовательности-мишени. В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая область не содержит спейсерной или направляющей области. В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая область содержит спейсер и дополнительные нуклеотиды, не обеспечивающие специфичности белка Cas по отношению к нуклеотидной области-мишени.

[0096] В некоторых вариантах воплощения направляющая область содержит первые 1-10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нуклеотидов на 5'-конце sgРНК. В некоторых вариантах воплощения направляющая область содержит 20 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения направляющая область может содержать 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения направляющая область может содержать 17 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения направляющая область может содержать 18 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения направляющая область может содержать 19 нуклеотидов.

[0097] В некоторых вариантах воплощения выбор направляющей области определяется последовательностями-мишенями в пределах генов, подлежащих редактированию. Например, в некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит направляющую область, комплементарную последовательностям-мишеням исследуемого гена.

[0098] В некоторых вариантах воплощения последовательность-мишень исследуемого гена может быть комплементарна направляющей области sgРНК. В некоторых вариантах воплощения степень комплементарности или идентичности между направляющей областью sgРНК и соответствующей последовательностью-мишенью исследуемого гена может составлять приблизительно 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%. В некоторых вариантах воплощения направляющая область sgРНК и область-мишень исследуемого гена могут быть на 100% комплементарны или идентичны. В других вариантах воплощения направляющая область sgРНК и последовательность-мишень исследуемого гена могут содержать по меньшей мере одно несовпадение. Например,

направляющая область sgРНК и последовательность-мишень исследуемого гена могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 несовпадений, причем общая длина последовательности-мишени составляет по меньшей мере приблизительно 17, 18, 19, 20 или более пар оснований. В других вариантах воплощения направляющая область sgРНК и последовательность-мишень исследуемого гена могут содержать 1-6 несовпадений, причем направляющая последовательность содержит по меньшей мере 17, 18, 19, 20 или более нуклеотидов. В других вариантах воплощения направляющая область sgРНК и последовательность-мишень исследуемого гена могут содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 несовпадений, причем направляющая последовательность содержит приблизительно 20 нуклеотидов. 5'-концевая область может содержать нуклеотиды, не считающиеся направляющими областями (например, не обеспечивающие специфичности белка cas9 по отношению к нуклеиновой кислоте-мишени).

Нижний стебель

[0099] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит область нижнего стебля (LS), которая при просмотре в линейном виде разделена областями расширения и верхнего стебля. См. таблицу 1.

[00100] В некоторых вариантах воплощения области нижнего стебля содержат 1-12 нуклеотидов, например, в одном варианте воплощения область нижнего стебля содержит LS1-LS12. В некоторых вариантах воплощения область нижнего стебля содержит меньшее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 1 и на фиг. 21A. В некоторых вариантах воплощения область нижнего стебля содержит большее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 1 и на фиг. 21A. Если область нижнего стебля содержит меньшее или большее количество нуклеотидов, чем показано на схеме в таблице 1 и на фиг. 21A, шаблон модификации, как очевидно для специалиста, должен соблюдаться.

[00101] В некоторых вариантах воплощения область нижнего стебля содержит нуклеотидные последовательности, комплементарные друг другу при просмотре в противоположных направлениях. В некоторых вариантах воплощения комплементарность нуклеотидной последовательности нижнего стебля приводит к образованию вторичной структуры типа «стебель» в sgРНК (например, области могут образовывать пары оснований друг с другом). В некоторых вариантах воплощения области нижнего стебля могут быть не

полностью комплементарны друг другу при просмотре в противоположных направлениях.

Расширение

[00102] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит область расширения, содержащую шесть нуклеотидов – В1–В6. При просмотре в линейном виде область расширения разделена на две области. См. таблицу 1. В некоторых вариантах воплощения область расширения содержит шесть нуклеотидов, причем после первых двух нуклеотидов располагается область верхнего стебля, после которой располагаются последние четыре нуклеотида расширения. В некоторых вариантах воплощения область расширения содержит меньшее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 1 и на фиг. 21А. В некоторых вариантах воплощения область расширения содержит большее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 1 и на фиг. 21А. Если область расширения содержит меньшее или большее количество нуклеотидов, чем показано на схеме в таблице 1 и на фиг. 21А, шаблон модификации, как очевидно для специалиста, должен соблюдаться.

[00103] В некоторых вариантах воплощения наличие расширения приводит к направленной связи между модулями верхнего и нижнего стебля в sgРНК.

Верхний стебель

[00104] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит область верхнего стебля, содержащую 12 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения область верхнего стебля содержит последовательность петли. В некоторых случаях указанная петля является петлей, состоящей из четырех нуклеотидов.

[00105] В некоторых вариантах воплощения область верхнего стебля содержит меньшее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 1 и на фиг. 21А. В некоторых вариантах воплощения область верхнего стебля содержит большее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 1 и на фиг. 21А. Если область верхнего стебля содержит меньшее или большее количество нуклеотидов, чем показано на схеме в таблице 1 и на фиг. 21А, шаблон модификации, как очевидно для специалиста, должен соблюдаться.

[00106] В некоторых вариантах воплощения область верхнего стебля содержит нуклеотидные последовательности, комплементарные друг другу при просмотре в противоположных направлениях. В некоторых вариантах воплощения комплементарность нуклеотидной последовательности верхнего стебля приводит к образованию

вторичной структуры типа «стебель» в sgРНК (например, области могут образовывать пары оснований друг с другом). В некоторых вариантах воплощения области верхнего стебля могут быть не полностью комплементарны друг другу при просмотре в противоположных направлениях.

Связка

[00107] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит область связки, расположенную между областью нижнего стебля и областью шпильки 1. В некоторых вариантах воплощения связка содержит 18 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения область связки содержит нуклеотиды N1 – N18, показанные в таблице 1 и на фиг. 21A.

[00108] В некоторых вариантах воплощения область связки содержит меньшее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 1 и на фиг. 21A. В некоторых вариантах воплощения область связки содержит большее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 1 и на фиг. 21A. Если область связки содержит меньшее или большее количество нуклеотидов, чем показано на схеме в таблице 1 и на фиг. 21A, шаблон модификации, как очевидно для специалиста, должен соблюдаться.

[00109] В некоторых вариантах воплощения область связки содержит нуклеотидные последовательности, комплементарные друг другу при просмотре в противоположных направлениях. В некоторых вариантах воплощения комплементарность нуклеотидной последовательности приводит к образованию вторичной структуры типа «стебель» и/или «стебель-петля» в sgРНК (например, некоторые нуклеотиды в области связки могут образовывать пары оснований друг с другом). В некоторых вариантах воплощения области связки могут быть не полностью комплементарны друг другу при просмотре в противоположных направлениях.

Шпилька

[00110] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит одну или более из областей шпильки. В некоторых вариантах воплощения область шпильки находится ниже (например, в 3'-направлении от) области связки. В некоторых вариантах воплощения область нуклеотидов непосредственно ниже области связки называют «шпилькой 1» или «N1». В некоторых вариантах воплощения область нуклеотидов в 3'-направлении от шпильки 1 называют «шпилькой 2» или «N2». В некоторых вариантах воплощения область шпильки

содержит шпильку 1 и шпильку 2. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит только шпильку 1 или шпильку 2.

[00111] В некоторых вариантах воплощения область шпильки 1 содержит 12 нуклеотидов непосредственно ниже области связки. В некоторых вариантах воплощения область шпильки 1 содержит нуклеотиды с Н1-1 по Н1-12, показанные в таблице 1 и на фиг. 21А.

[00112] В некоторых вариантах воплощения область шпильки 2 содержит 15 нуклеотидов непосредственно ниже области шпильки 1. В некоторых вариантах воплощения область шпильки 2 содержит нуклеотиды с Н2-1 по Н2-15, показанные в таблице 1 и на фиг. 21А.

[00113] В некоторых вариантах воплощения между областями шпильки 1 и шпильки 2 присутствует один или более из нуклеотидов. Один или более из нуклеотидов между областями шпильки 1 и шпильки 2 могут быть модифицированными или немодифицированными. В некоторых вариантах воплощения шпилька 1 и шпилька 2 разделены одним нуклеотидом. В некоторых вариантах воплощения области шпилек содержат меньшее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 1 и на фиг. 21А. В некоторых вариантах воплощения области шпилек содержат большее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 1 и на фиг. 21А. Если область шпильки содержит меньшее или большее количество нуклеотидов, чем показано на схеме в таблице 1 и на фиг. 21А, шаблон модификации, как очевидно для специалиста, должен соблюдаться.

[00114] В некоторых вариантах воплощения область шпильки содержит нуклеотидные последовательности, комплементарные друг другу при просмотре в противоположных направлениях. В некоторых вариантах воплощения области шпильки могут быть не полностью комплементарны друг другу при просмотре в противоположных направлениях (например, верхняя область или петля шпильки содержит неспаренные нуклеотиды).

[00115] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит заместитель шпильки 1 "n" нуклеотидами, причем "n" является целым числом между 1 и 50, 40, 30, 20, 15, 10, 5, 4, 3 и 2. В некоторых вариантах воплощения область шпильки 1 sgРНК замещена 2 нуклеотидами.

3'-концевая область

[00116] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит нуклеотиды после области(ей) шпильки. В некоторых вариантах воплощения 3'-концевая область содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 или 20 или более нуклеотидов, например, не ассоциированных со вторичной структурой шпильки. В некоторых вариантах воплощения 3'-концевая область содержит 1, 2, 3 или 4 нуклеотида, не ассоциированных со вторичной структурой шпильки. В некоторых вариантах воплощения 3'-концевая область содержит 4 нуклеотида, не ассоциированных со вторичной структурой шпильки. В некоторых вариантах воплощения 3'-концевая область содержит 1, 2 или 3 нуклеотида, не ассоциированных со вторичной структурой шпильки.

2. Модификации sgРНК

[00117] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает sgРНК, содержащую одну или более из модификаций в пределах одной или более из следующих областей: нуклеотидов в 5'-концевой области; области нижнего стебля; области расширения; области верхнего стебля; области связки; области шпильки 1; области шпильки 2; и нуклеотидов в 3'-концевой области.

[00118] В некоторых вариантах воплощения модификация содержит 2'-О-метил (2'-О-Me) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения модификация содержит а 2'-О-(2-метоксиэтил) (2'-О-moe) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения модификация содержит а 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения модификация содержит фосфоротриатную (PS) связь между нуклеотидами.

[00119] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификации в 1, 2, 3 или 4 из первых 4 нуклеотидов на 5'-конце. В некоторых вариантах воплощения первые три или четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние три или четыре нуклеотида в 3'-концевой области являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены фосфоротриатными (PS) связями. В некоторых вариантах воплощения модификация содержит 2'-О-Me. В некоторых вариантах воплощения модификация содержит 2'-F. В некоторых вариантах воплощения модификация содержит 2'-О-moe.

[00120] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификации в 1, 2, 3 или 4 из первых 4 нуклеотидов на 5'-конце. В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит модификации в 1, 2, 3 или 4 из первых 4 нуклеотидов на 3'-конце. В некоторых вариантах воплощения первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, а первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-O-Me или 2'-O-мие модификации.

[00121] В некоторых вариантах воплощения первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, а первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-F модификации.

[00122] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, в которой LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12 модифицированы 2'-O-Me. В некоторых вариантах воплощения каждый из нуклеотидов в области расширения sgРНК модифицирован 2'-O-Me. В некоторых вариантах воплощения каждый из нуклеотидов в области верхнего стебля sgРНК модифицирован 2'-O-Me. В некоторых вариантах воплощения N16, N17 и N18 в области связки sgРНК модифицированы 2'-O-Me. В некоторых вариантах воплощения каждый из нуклеотидов в области шпильки 1 sgРНК модифицирован 2'-O-Me. В некоторых вариантах воплощения каждый из нуклеотидов в области шпильки 2 sgРНК модифицирован 2'-O-Me.

[00123] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит следующие 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды: первые три нуклеотида в 5'-концевой области; LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12; B1 и B2 в области расширения; каждый из нуклеотидов в области верхнего стебля sgРНК; N16, N17 и N18 в области связки; каждый из нуклеотидов в области шпильки 1; каждый из нуклеотидов в области шпильки 2; и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00124] В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах в 5'-концевой области и 2'-

O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения LS9 и LS10 модифицированы 2'-F. В некоторых вариантах воплощения N15, N16, N17 и N18 модифицированы 2'-F. В некоторых вариантах воплощения H2-9, H2-10, H2-11, H2-12, H2-13, HS-14 и H2-15 модифицированы 2'-F. В некоторых вариантах воплощения со второго по последний, с третьего по последний и с четвертого по последний нуклеотиды в 3'-концевой области модифицированы 2'-F

[00125] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая следующие 2'-F модифицированные нуклеотиды: LS9 и LS10 в области нижнего стебля; N15, N16, N17 и N18 в области связки; и H2-9, H2-10, H2-11, H2-12, H2-13, HS-14 и H2-15 в области шпильки 2. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит 2'-F модифицированные нуклеотиды со второго по последнее, с третьего по последнее и с четвертого по последнее положение в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в трех из последних четырех нуклеотидов в 3'-концевой области.

[00126] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS1 и LS6; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12; 2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00127] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНЕ (sgРНК), содержащая 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области; 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS1-LS6; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12; 2'-О-Ме модифицированный нуклеотид в положении «n» между шпилькой 1 и шпилькой 2; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00128] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНЕ (sgРНК), содержащая 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области; 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS2-LS5; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS1 и LS6; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12; 2'-О-Ме модифицированный нуклеотид в положении «n» между шпилькой 1 и шпилькой 2; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00129] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНЕ (sgРНК), содержащая 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS8, LS11 и LS12; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12; 2'-О-Ме модифицированный нуклеотид в положении «n» между шпилькой 1 и шпилькой 2; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК

дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00130] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНЕ (sgРНК), содержащая 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS8, LS10 и LS12; 2'-О-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS9 и LS11; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12; 2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00131] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНЕ (sgРНК), содержащая 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12; 2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgРНК дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00132] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНЕ (sgРНК), содержащая 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области; 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12; 2'-F

модифицированные нуклеотиды в положениях LS9 и LS10; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12; 2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgPНК дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00133] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНЕ (sgPНК), содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 и H1-12; 2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-8; 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H2-9 - H2-15; 2'-F модифицированные нуклеотиды во втором с последнего, третьем с последнего и четвертом с последнего положениях в 3'-концевой области и 2'-O-Me модифицированный нуклеотид в последнем положении в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgPНК дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00134] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНЕ (sgPНК), содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-2, H1-4, H1-6, H1-8, H1-10 и H1-12; 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1, H1-3, H1-5, H1-7, H1-9 и H1-11; 2'-F модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2; 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H2-2, H2-4, H2-6, H2-8, H2-10, H2-12 и H2-14; 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1, H2-3, H2-5, H2-8, H2-9, H2-11, H2-13 и H2-15; 2'-F модифицированные нуклеотиды во втором с

последнего и четвертом с последнего положениях в 3'-концевой области; и 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в третьем с последнего и последнем положении в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgPHK дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00135] В настоящем документе в некоторых вариантах воплощения описана одиночная направляющая PHK (sgPHK), содержащая 2'-O-Me модификации в положениях LS8, LS10, LS12, H1-2, H1-4, H1-6, H1-8, H1-10, H1-12, H2-1, H2-3, H2-5, H2-7, H2-9, H2-11, H2-13 и H2-15; и 2'-F модификации в положениях LS7, LS9, LS11; H1-1, H1-3, H1-5, H1-7, H1-9, H1-11, H1-13, H2-2, H2-4, H2-6, H2-8, H2-10, H2-12 и H2-14. В некоторых вариантах воплощения sgPHK дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения sgPHK дополнительно содержит 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последнем и с третьего по последнее положениях в 3'-концевой области; и 2'-F модифицированные нуклеотиды со второго по последнее и с третьего по последнего положениях в 3'-концевой области.

[00136] В настоящем документе в некоторых вариантах воплощения описана sgPHK, содержащая нуклеиновые кислоты согласно любой из SEQ ID No: 228-232. В настоящем документе в некоторых вариантах воплощения описана sgPHK, содержащая нуклеиновые кислоты согласно любой одной из SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329. В настоящем документе в некоторых вариантах воплощения описана sgPHK, содержащая нуклеиновые кислоты, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеиновым кислотам согласно любой одной из SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329, в которой шаблон модификации идентичен шаблону модификации, представленному в эталонном идентификаторе последовательности. В некоторых вариантах воплощения sgPHK дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00137] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, содержащая 5'-концевую модификацию и одну или более из модификаций в одной или более из: области верхнего стебля; области шпильки 1; и области шпильки 2, причем 5'-концевая модификация включает по меньшей мере две фосфоротиоатных связи в пределах первых семи нуклеотидов 5'-концевой области.

[00138] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, содержащая 5'-концевую модификацию и одну или более из модификаций в одной или более из: области верхнего стебля; области шпильки 1; и области шпильки 2, причем 5'-концевая модификация включает одну или более из фосфоротиоатных связей в 5'-концевой области РНК. В некоторых вариантах воплощения одна или более из фосфоротиоатных связей соединяет 5' концевые нуклеотиды.

[00139] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, содержащая 5'-концевую модификацию и одну или более из модификаций в одной или более из: области верхнего стебля; области шпильки 1; и области шпильки 2, причем 5'-концевая модификация включает одну или более из фосфоротиоатных связей в пределах первых семи нуклеотидов 5'-концевой области.

[00140] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, содержащая любую одну из модифицированных последовательностей sgРНК согласно SEQ ID No: 228-332.

[00141] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, содержащая или состоящая из любой одной из модифицированных последовательностей sgРНК согласно SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329.

[00142] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает sgРНК, содержащую любую одну из модифицированных последовательностей согласно SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329, причем sgРНК дополнительно содержит 5'-спейсерную последовательность, по меньшей мере частично комплементарную последовательности-мишени, обеспечивающую специфичность Cas9 по отношению к гидролизуемой мишени.

[00143] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает sgРНК, содержащую нуклеотиды, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеотидам согласно любой из SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329, в которой шаблон модификации идентичен шаблону модификации, представленному в

эталонном идентификаторе последовательности. Т.е. нуклеотиды А, U, С и G могут различаться на 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% по сравнению с нуклеотидами, показанными в последовательностях, однако модификации остаются неизменными.

[00144] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает sgРНК, содержащую одну или более из модификаций в пределах одной или более из следующих областей: нуклеотидов в 5'-концевой области; области нижнего стебля; области расширения; области верхнего стебля; области связки; области шпильки 1; области шпильки 2; и нуклеотидов в 3'-концевой области.

[00145] В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-О-метил (2'-О-Me) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения модификация включает фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами. В некоторых вариантах воплощения модификация включает инвертированный нуклеотид без основания.

[00146] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, содержащая следующие 2'-О-Me модифицированные нуклеотиды: первые три нуклеотида в 5'-концевой области; LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12 в нижнем стебле; B1 и B2 в области расширения; каждый из нуклеотидов в области верхнего стебля; N16, N17 и N18 в области связки; каждый из нуклеотидов в области шпильки 1; один нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2; каждый из нуклеотидов в области шпильки 2; и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области. В одном варианте воплощения sgРНК дополнительно содержит три PS связи между первыми четырьмя нуклеотидами в 5'-концевой области и три PS связи между последними четырьмя нуклеотидами в 3'-концевой области.

[00147] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, содержащая 2'-О-Me модифицированные нуклеотиды в: первых трех положениях в 5'-концевой области; LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12 в нижнем стебле; B1-B6 в области расширения; каждый из нуклеотидов в области верхнего стебля; N16, N17 и N18 в области связки; каждый из нуклеотидов в области шпильки 1; один нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2; каждый из нуклеотидов в области шпильки 2; и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области. В одном варианте воплощения sgРНК дополнительно

содержит три PS связи между первыми четырьмя нуклеотидами в 5'-концевой области и три PS связи между последними четырьмя нуклеотидами в 3'-концевой области.

[00148] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, содержащая 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях: LS9 и LS10 в нижнем стебле; 15-N18 в области связки; H2-9-HS-15 в области шпильки 2; во втором от последнего, в третьем от последнего и в четвертом от последнего нуклеотидах в 3'-концевой области.

[00149] В некоторых вариантах воплощения предложена sgРНК, содержащая 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях: каждом положении в нижнем стебле; 15-N18 в области связки; H2-9-HS-15 в области шпильки 2; и во втором от последнего, в третьем от последнего и в четвертом от последнего нуклеотидах в 3'-концевой области.

[00150] В некоторых вариантах воплощения предложена одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS8, LS10, LS12, H1-2, H1-4, H1-6, H1-8, H1-10, H1-12, H2-1, H2-3, H2-5, H2-7, H2-9, H2-11, H2-13, H2-15 и в последнем и в третьем от последнего нуклеотидах в 3'-концевой области; и 2'-F модификации в положениях LS7, LS9, LS11; H1-1, H1-3, H1-5, H1-7, H1-9, H1-11, H1-13, H2-2, H2-4, H2-6, H2-8, H2-10, H2-12, H2-14 и во втором от последнего и в четвертом от последнего нуклеотидах в 3'-концевой области.

[00151] Настоящее изобретение включает каждый из следующих вариантов воплощения:

Вариант воплощения 01. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая одну или более из модификаций в одной или более из следующих областей:

- 5'-концевой области;
- области нижнего стебля;
- области расширения;
- области верхнего стебля;
- области связки;
- области шпильки 1;
- области шпильки 2; и
- 3'-концевой области.

Вариант воплощения 02. sgРНК согласно варианту воплощения 1, в которой указанная модификация включает 2'-О-метил (2'-О-Me) модифицированный нуклеотид.

Вариант воплощения 03. sgРНК согласно варианту воплощения 1, в которой указанная модификация включает 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид.

Вариант воплощения 04. sgРНК согласно варианту воплощения 1, в которой указанная модификация включает фосфоротиаотную (PS) связь между нуклеотидами.

Вариант воплощения 05. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-3, в которой первые три или четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние три или четыре нуклеотида в 3'-концевой области являются модифицированными.

Вариант воплощения 06. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-5, в которой первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены фосфоротиаотными (PS) связями.

Вариант воплощения 07. sgРНК согласно варианту воплощения 5, в которой указанная модификация включает 2'-О-Me.

Вариант воплощения 08. sgРНК согласно варианту воплощения 5, в которой указанная модификация включает 2'-F.

Вариант воплощения 09. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-7, в которой первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, а первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-О-Me модификации.

Вариант воплощения 10. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-8, в которой первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, а первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-F модификации.

Вариант воплощения 11. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-10, в которой LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12 модифицированы 2'-О-Me.

Вариант воплощения 12. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-11, в которой каждый из нуклеотидов в области расширения модифицирован 2'-О-Me.

Вариант воплощения 13. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-12, в которой каждый из нуклеотидов в области верхнего стебля модифицирован 2'-О-Ме.

Вариант воплощения 14. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-13, в которой N16, N17 и N18 в области связи модифицированы 2'-О-Ме.

Вариант воплощения 15. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-14, в которой каждый из нуклеотидов в области шпильки 1 модифицирован 2'-О-Ме.

Вариант воплощения 16. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-15, в которой каждый из нуклеотидов в области шпильки 2 модифицирован 2'-О-Ме.

Вариант воплощения 17. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая 2'-О-Ме-модифицированные нуклеотиды в следующих положениях:

- первых трех нуклеотидах в 5'-концевой области;
- LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12 в области нижнего стебля;
- B1 и B2 в области расширения;
- каждом нуклеотиде в области верхнего стебля;
- N16, N17 и N18 в области связи;
- каждом нуклеотиде в области шпильки 1;
- каждом нуклеотиде в области шпильки 2; и
- последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области;

Вариант воплощения 18. sgРНК согласно варианту воплощения 17, в которой B3-B6 модифицированы 2'-О-Ме.

Вариант воплощения 19. sgРНК согласно варианту воплощения 17, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 20. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-10, в которой LS9 и LS10 модифицированы 2'-F.

Вариант воплощения 21. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-10 и 20, в которой N15, N16, N17 и N18 модифицированы 2'-F.

Вариант воплощения 22. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-10 и 20-21, в которой H2-9, H2-10, H2-11, H2-12, H2-13, H2-14 и H2-15 модифицированы 2'-F.

Вариант воплощения 23. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 1-10 и 21-22, в которой второй от последнего, третий

от последнего и четвертый от последнего нуклеотиды 3'-концевой области модифицированы 2'-F.

Вариант воплощения 24. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая 2'-F-модифицированные нуклеотиды в следующих положениях:

LS9 и LS10 в области нижнего стебля;

N15, N16, N17 и N18 в области связки; и

H2-9, H2-10, H2-11, H2-12, H2-13, H2-14 и H2-15 в области шпильки 2.

Вариант воплощения 25. sgРНК согласно варианту воплощения 24, дополнительно содержащая 2'-F модифицированные нуклеотиды во втором от последнего, в третьем от последнего и в четвертом от последнего нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 26. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 24 или 25, дополнительно содержащая три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 27. sgРНК согласно любому из вариантов воплощения 24-26, дополнительно содержащую 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в трех из последних четырех нуклеотидов в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 28. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS1 и LS6;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 29. sgРНК согласно варианту воплощения 28, дополнительно содержащая три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и

три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 30. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS1-LS6;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 31. sgРНК согласно варианту воплощения 30, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 32. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS2-LS5;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS1 и LS6;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 33. sgРНК согласно варианту воплощения 32, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и

три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 34. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS8, LS11 и LS12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 35. sgРНК согласно варианту воплощения 34, дополнительно содержащая три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 36. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS8, LS11 и LS12;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS9 и LS10;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 37. sgРНК согласно варианту воплощения 36, дополнительно содержащая три фосфотриоатные (PS) связи,

соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 38. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS8, LS10 и LS12;

2'-О-Ф модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS9 и LS11;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 39. sgРНК согласно варианту воплощения 32, содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 40. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 41. sgРНК согласно варианту воплощения 40, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 42. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS9 и LS10;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 43. sgРНК согласно варианту воплощения 43, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 44. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-О-Ме модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-8;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H2-9 - H2-15;

2'-F модифицированные нуклеотиды во втором от последнего, в третьем от последнего и в четвертом от последнего нуклеотиде 3'-концевой области; и

2'-O-Me модифицированный нуклеотид в последнем нуклеотиде 3'-концевой области.

Вариант воплощения 45. sgРНК согласно варианту воплощения 44, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 46. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-2, H1-4, H1-6, H1-8, H1-10 и H1-12;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1, H1-3, H1-5, H1-7, H1-9 и H1-11;

2'-F модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H2-2, H2-4, H2-6, H2-8, H2-10, H2-12; и H2-14;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1, H2-3, H2-5, H2-7, H2-9, H2-11; H2-13 и H2-15;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях во втором от последнего и в четвертом от последнего нуклеотиде 3'-концевой области; и

2'-O-Me модифицированный нуклеотид в третьем от последнего и последнем нуклеотиде в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 47. sgРНК согласно варианту воплощения 46, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 48. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды LS8, LS10, LS12, H1-2, H1-4, H1-6, H1-8, H1-10, H1-12, H2-1, H2-3, H2-5, H2-7, H2-9, H2-11, H2-13 и H2-15; и

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS9, LS11; H1-1, H1-3, H1-5, H1-7, H1-9, H1-11, H1-13, H2-2, H2-4, H2-6, H2-8, H2-10, H2-12 и H2-14.

Вариант воплощения 49. sgPНК согласно варианту воплощения 48, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 50. sgPНК согласно любому из вариантов воплощения 48-49, дополнительно содержащая

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последнем и в третьем от последнего положении в 3'-концевой области; и

2'-F модифицированные нуклеотиды во втором от последнего и в третьем от последнего нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 51. sgPНК, содержащая нуклеиновые кислоты согласно любой одной из SEQ ID No: 228-332.

Вариант воплощения 52. sgPНК, содержащая нуклеиновые кислоты согласно любой одной из SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329.

Вариант воплощения 53. sgPНК, содержащая нуклеиновые кислоты, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеиновым кислотам согласно любой из SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329, в которой шаблон модификации идентичен шаблону модификации, представленному в эталонном идентификаторе последовательности.

Вариант воплощения 54. sgPНК согласно любому из вариантов воплощения 51-53, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Композиции dgPНК

[00152] В некоторых вариантах воплощения композиции и способы согласно настоящему изобретению включают gPНК, содержащую crPНК и trPНК, обеспечивающие специфичность нуклеазы, например, Cas9, по отношению к последовательности ДНК-мишени. В некоторых вариантах воплощения gPНК ассоциированы, но находятся на двух отдельных молекулах PНК (двойная направляющая PНК или dgPНК).

[00153] В **таблице 2** и на **фиг. 21С** представлено описание доменов crРНК, используемое в настоящем документе. 5'-концевая область может содержать спейсерную область в 5'-концевой области сРНК или вблизи от нее, обеспечивающую специфичность Cas9 по отношению к области ДНК-мишени, например, описанной в настоящем документе. В таблице 2 «n» между областями является переменной количества нуклеотидов, например, от 0 до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более. В некоторых вариантах воплощения n равно 0. Любая из dgРНК, описанных в настоящем документе, может содержать «n» между любыми доменами.

[00154] В **таблице 3** и на **фиг. 21С** представлено описание доменов trРНК, используемое в настоящем документе. В таблице 3 «n» между областями является переменной количества нуклеотидов, например, от 0 до 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более. В некоторых вариантах воплощения n равно 0. Любая из dgРНК, описанных в настоящем документе, может содержать «n» между любыми доменами.

3. Домены dgРНК

[00155] Как описано в статье *Briner 2014*, dgРНК можно разработать на основе специфических функциональных доменов, в настоящем документе называемых «доменами», в том числе спейсера, отвечающего за адресное воздействие, доменов нижнего стебля, расширения, верхнего стебля, связки и шпильки. В dgРНК crРНК содержит некоторые компоненты gРНК и trРНК содержит некоторые компоненты gРНК.

[00156] Области crРНК представлены в **таблице 2** и на **фиг. 21С**. Области trРНК представлены в **таблице 3** и на **фиг. 21С**. На **фиг. 21С** показана схема типичной dgРНК.

Таблица 2: Области crРНК (линейный вид, от 5' к 3')

	LS1-6		B1-2		US1-14	
5'-концевая область	Нижний стебель	n	Расширение	n	Верхний стебель	3'-концевая область

Таблица 3: Области trРНК (линейный вид, от 5' к 3')

	US1-11		B1-4		LS1-6		N1-18		H1-1 по H1-12		H2-1 по H2-15	
5'-концевая область	Верхний стебель	n	Расширение	n	Нижний стебель	n	Связь	n	Шпилька 1	n	Шпилька 2	3'-концевая область

5'-концевая область

[00157] В некоторых вариантах воплощения dgРНК содержит нуклеотиды в 5'-концевой области crРНК и trРНК, показанные в таблице 2 -3 и на фиг. 21С.

[00158] В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая crРНК содержит спейсерную или направляющую область, обеспечивающую специфичность белка Cas по отношению к нуклеотидной последовательности-мишени. В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая область не содержит спейсерной или направляющей области. В некоторых вариантах воплощения 5'-концевая область содержит спейсер и дополнительные нуклеотиды, не обеспечивающие специфичности белка Cas по отношению к нуклеотидной области-мишени.

[00159] В некоторых вариантах воплощения направляющая область содержит первые 1-10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нуклеотидов в 5'-конце crРНК. В некоторых вариантах воплощения направляющая область содержит 20 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения направляющая область может содержать 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения направляющая область может содержать 17 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения направляющая область может содержать 18 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения направляющая область может содержать 19 нуклеотидов.

[00160] В некоторых вариантах воплощения выбор направляющей области определяется последовательностями-мишенями в пределах генов, подлежащих редактированию. В некоторых вариантах воплощения crРНК содержит направляющую область, комплементарную последовательностям-мишеням исследуемого гена.

[00161] В некоторых вариантах воплощения последовательность-мишень исследуемого гена может быть комплементарна направляющей области crРНК. В некоторых вариантах воплощения степень комплементарности или идентичности между направляющей областью crРНК и соответствующей последовательностью-мишенью исследуемого гена может составлять приблизительно 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%. В некоторых вариантах воплощения направляющая область crРНК и область-мишень исследуемого гена могут быть на 100% комплементарны или идентичны. В других вариантах воплощения направляющая область crРНК и последовательность-мишень

исследуемого гена могут содержать по меньшей мере одно несовпадение. Например, направляющая область crРНК и последовательность-мишень исследуемого гена могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 несовпадений, причем общая длина последовательности-мишени составляет по меньшей мере приблизительно 17, 18, 19, 20 или более пар оснований. В некоторых вариантах воплощения направляющая область crРНК и последовательность-мишень исследуемого гена могут содержать 1–6 несовпадений, причем направляющая последовательность содержит по меньшей мере приблизительно 17, 18, 19, 20 или более нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения направляющая область crРНК и область-мишень исследуемого гена может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 несовпадений, причем направляющая последовательность содержит приблизительно 20 нуклеотидов.

[00162] В некоторых вариантах воплощения trРНК содержит 5'-концевую область. В некоторых вариантах воплощения trРНК содержит 5'-концевую область, которая образует, в частности, верхний стебель dgРНК. 5'-концевая область trРНК не комплементарна области гена-мишени.

Нижний стебель

[00163] В некоторых вариантах воплощения dgРНК содержит область нижнего стебля (LS). Область нижнего стебля содержит область нижнего стебля crРНК и область нижнего стебля trРНК, ассоциированные согласно изображению на фиг. 21C. В некоторых вариантах воплощения область нижнего стебля crРНК по меньшей мере частично комплементарна области нижнего стебля trРНК. В некоторых вариантах воплощения область нижнего стебля crРНК полностью комплементарна области нижнего стебля trРНК.

[00164] В некоторых вариантах воплощения каждая из областей нижнего стебля crРНК и trРНК содержит по 6 нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения каждая из областей нижнего стебля crРНК и trРНК содержит меньшее количество нуклеотидов, чем показано в таблицах 2 и 3 и на фиг. 21C. В некоторых вариантах воплощения область нижнего стебля содержит большее количество нуклеотидов, чем показано в таблицах 2 и 3 и на фиг. 21C. Если область нижнего стебля содержит меньшее или большее количество нуклеотидов, чем показано на схемах в таблицах 2 и 3 и на фиг. 21C, шаблоны модификации, как очевидно для специалиста, соблюдаются. В некоторых вариантах воплощения количество

нуклеотидов в нижнем стебле crРНК отличается от количества нуклеотидов в нижнем стебле trРНК.

Расширение

[00165] В некоторых вариантах воплощения dgРНК содержит область расширения (В). В некоторых вариантах воплощения crРНК содержит одну область расширения и trРНК содержит одну область расширения. В некоторых вариантах воплощения каждая область расширения содержит 1-4 нуклеотида. В некоторых вариантах воплощения область расширения crРНК содержит два нуклеотида, а область расширения trРНК содержит четыре нуклеотида.

[00166] В некоторых вариантах воплощения область расширения crРНК расположена между областью нижнего стебля и областью верхнего стебля crРНК. В некоторых вариантах воплощения область расширения crРНК содержит два нуклеотида. В некоторых вариантах воплощения область расширения crРНК содержит нуклеотиды В1 и В2, показанные в таблице 2 и на фиг. 21С.

[00167] В некоторых вариантах воплощения область расширения trРНК расположена между областью верхнего стебля и областью нижнего стебля trРНК. В некоторых вариантах воплощения область расширения trРНК содержит четыре нуклеотида. В некоторых вариантах воплощения область расширения trРНК содержит нуклеотиды В1-В4, показанные в таблице 3 и на фиг. 21С.

[00168] В некоторых вариантах воплощения наличие расширения приводит к образованию направленного изгиба между модулями верхнего и нижнего стебля в dgРНК. Расширение crРНК и расширение trРНК могут быть частично комплементарны. Расширение crРНК и расширение trРНК могут не обладать комплементарностью.

[00169] В некоторых вариантах воплощения области расширения crРНК и trРНК содержат большее количество нуклеотидов, чем показано в таблицах 2 и 3 и на фиг. 21С. Если область расширения содержит меньшее или большее количество нуклеотидов, чем показано на схеме в таблицах 2 и 3 и на фиг. 21С, шаблоны модификации, как очевидно для специалиста, соблюдаются. В некоторых вариантах воплощения количество нуклеотидов в расширении crРНК отличается от количества нуклеотидов в расширении trРНК.

Верхний стебель

[00170] В некоторых вариантах воплощения dgРНК содержит область верхнего стебля (US). Область верхнего стебля содержит область верхнего стебля crРНК и область верхнего стебля trРНК,

ассоциированные согласно изображению на фиг. 21C. В некоторых вариантах воплощения область верхнего стебля crРНК по меньшей мере частично комплементарна области верхнего стебля trРНК. В некоторых вариантах воплощения область верхнего стебля crРНК полностью комплементарна области верхнего стебля trРНК.

[00171] В некоторых вариантах воплощения область верхнего стебля crРНК содержит четырнадцать нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения область верхнего стебля trРНК содержит одиннадцать нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения каждая из областей верхнего стебля crРНК и trРНК содержит меньшее количество нуклеотидов, чем показано в таблицах 2 и 3 и на фиг. 21C. В некоторых вариантах воплощения области верхнего стебля crРНК и trРНК содержат большее количество нуклеотидов, чем показано в таблицах 2 и 3 и на фиг. 21C. Если область верхнего стебля содержит меньшее или большее количество нуклеотидов, чем показано на схемах в таблицах 2 и 3 и на фиг. 21C, шаблоны модификации, как очевидно для специалиста, соблюдаются.

[00172] В некоторых вариантах воплощения верхний стебель crРНК содержит нуклеотиды US1 – US14, показанные в таблице 2 и на фиг. 21C.

[00173] В некоторых вариантах воплощения верхний стебель trРНК содержит нуклеотиды US1 – US11, показанные в таблице 3 и на фиг. 21C.

Связка

[00174] В некоторых вариантах воплощения sgРНК содержит trРНК, содержащую область связки. В некоторых вариантах воплощения область связки располагается между областью нижнего стебля и областью шпильки 1 trРНК. В некоторых вариантах воплощения связка располагается непосредственно ниже нижнего стебля trРНК. В некоторых вариантах воплощения связка содержит восемнадцать нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения область связки trРНК содержит нуклеотиды N1–N18, показанные в таблице 3 и на фиг. 21C. В некоторых вариантах воплощения область связки содержит меньшее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 3 и на фиг. 21C. В некоторых вариантах воплощения область связки trРНК содержит большее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 3 и на фиг. 21C. Если область связки содержит меньшее или большее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 3 и на фиг. 21C, шаблоны модификации, как очевидно для специалиста, соблюдаются.

[00175] В некоторых вариантах воплощения область связки содержит нуклеотидные последовательности, комплементарные друг другу при просмотре в противоположных направлениях. В некоторых вариантах воплощения комплементарность нуклеотидной последовательности приводит к образованию вторичной структуры типа «стебель» и/или «стебель-петля» в sgРНК (например, некоторые нуклеотиды в области связки могут образовывать пары оснований друг с другом). В некоторых вариантах воплощения области связки могут быть не полностью комплементарны друг другу при просмотре в противоположных направлениях.

Шпилька

[00176] В некоторых вариантах воплощения область шпильки trРНК располагается ниже области связки. В некоторых вариантах воплощения область нуклеотидов непосредственно ниже области связки называют «шпилькой 1». В некоторых вариантах воплощения область нуклеотидов непосредственно ниже области шпильки 1 называют «шпилькой 2». В некоторых вариантах воплощения область шпильки содержит шпильку 1 и шпильку 2. В некоторых вариантах воплощения шпилька 1 и шпилька 2 разделены одним или более нуклеотидом «n.» В некоторых вариантах воплощения n=1. В некоторых вариантах воплощения trРНК содержит только шпильку 1 или шпильку 2.

[00177] Показано, что замещение области шпильки 1 trРНК 2 нуклеотидами обеспечивает редактирующую активность РНП Cas (см. US20150376586, фиг. 16). В некоторых вариантах воплощения trРНК содержит заместитель шпильки 1 нуклеотидами «n», причем «n» является целым числом между 1 и 50, 40, 30, 20, 15, 10, 5, 4, 3 и 2. В некоторых вариантах воплощения область шпильки 1 trРНК замещена 2 нуклеотидами.

[00178] В некоторых вариантах воплощения шпилька 1 trРНК содержит двенадцать нуклеотидов непосредственно ниже области связки. В некоторых вариантах воплощения область шпильки 1 trРНК содержит нуклеотиды H1-1 – H1-12, показанные в таблице 3 и на фиг. 21C.

[00179] В некоторых вариантах воплощения между областями шпильки 1 и шпильки 2 trРНК присутствуют нуклеотиды, не относящиеся к шпильке. В некоторых вариантах воплощения между шпилькой 1 и шпилькой 2 находятся от одного до двух нуклеотидов, не относящихся к шпильке.

[00180] В некоторых вариантах воплощения шпилька 2 trРНК содержит пятнадцать нуклеотидов после (в направлении 3') шпильки 1. В некоторых вариантах воплощения область шпильки 2 trРНК содержит нуклеотиды Н2-1 – Н2-15, показанные в таблице 3 и на фиг. 21С. В некоторых вариантах воплощения область шпильки 2 trРНК содержит нуклеотиды Н2-1 – Н2-15, показанные в таблице 3, и «n» между шпилькой 1 и шпилькой 2 составляет 1 или 2.

[00181] В некоторых вариантах воплощения область шпильки trРНК содержит большее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 3 и на фиг. 21С. Если область шпильки содержит меньшее или большее количество нуклеотидов, чем показано в таблице 3 и на фиг. 21С, шаблоны модификации, как очевидно для специалиста, соблюдаются.

[00182] В некоторых вариантах воплощения область шпильки содержит нуклеотидные последовательности, комплементарные друг другу при просмотре в противоположных направлениях. В некоторых вариантах воплощения области шпильки могут быть не полностью комплементарны друг другу при просмотре в противоположных направлениях (например, верхняя область или петля шпильки содержит неспаренные нуклеотиды).

[00183] В некоторых вариантах воплощения trРНК содержит заместитель шпильки 1 нуклеотидами «n», причем «n» является целым числом между 1 и 50, 40, 30, 20, 15, 10, 5, 4, 3 и 2. В некоторых вариантах воплощения область шпильки 1 trРНК замещена 2 нуклеотидами.

3'-концевая область

[00184] В некоторых вариантах воплощения dgРНК содержит trРНК, содержащую 3'-концевую область, содержащую дополнительные нуклеотиды после (в направлении 3') области(ей) шпильки. В некоторых вариантах воплощения 3'-концевая область содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 или 20 или более нуклеотидов, не ассоциированных со вторичной структурой шпильки. В некоторых вариантах воплощения 3'-концевая область содержит 1, 2, 3 или 4 нуклеотида, не ассоциированных со вторичной структурой шпильки. В некоторых вариантах воплощения 3'-концевая область содержит 4 нуклеотида, не ассоциированных со вторичной структурой шпильки. В некоторых вариантах воплощения 3'-концевая область содержит 1, 2 или 3 нуклеотида, не ассоциированных со вторичной структурой шпильки.

4. Модификации dgРНК

[00185] В некоторых вариантах воплощения dgРНК содержит модифицированную crРНК и немодифицированную trРНК. В некоторых вариантах воплощения dgРНК содержит немодифицированную crРНК и модифицированную trРНК. В некоторых вариантах воплощения как crРНК, так и trРНК dgРНК содержат модификации.

[00186] В некоторых вариантах воплощения gРНК, описанные в настоящем документе, находятся на двух различных молекулах РНК (двойная направляющая или dgРНК). См. таблицы 2, 3 и фиг. 21С.

[00187] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает dgРНК, содержащую или состоящую из а) любой из последовательностей crРНК согласно SEQ ID No: 1-187; и б) любой из последовательностей trРНК, описанных в SEQ ID No: 188-227.

[00188] В некоторых вариантах воплощения предложена dgРНК, содержащая любую одну из модифицированных последовательностей crРНК 1-187.

[00189] В некоторых вариантах воплощения предложена dgРНК, содержащая любую одну из модифицированных последовательностей trРНК 188-227.

[00190] В некоторых вариантах воплощения предложена dgРНК, содержащая любую одну из модифицированных последовательностей crРНК согласно SEQ ID No: 19-31, 53-73 и 104-130. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает dgРНК, содержащую любую одну из модифицированных последовательностей согласно SEQ ID No: 19-31, 53-73 и 104-130, причем crРНК дополнительно содержит 5'-спейсерную последовательность, по меньшей мере частично комплементарную последовательности-мишени, обеспечивающую специфичность Cas9 по отношению к гидролизуемой мишени.

[00191] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает crРНК, содержащую любую одну из последовательностей, описанных в SEQ ID No: 1-187. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает crРНК, содержащую или состоящую из любой одной из последовательностей, описанных в SEQ ID No: 19-31, 53-73 и 104-130. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает crРНК, содержащую любую одну из последовательностей, описанных в SEQ ID No: 19-31, 53-73 и 104-130, и спейсерную область.

[00192] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает trРНК, содержащую или состоящую из любой одной из последовательностей, описанных в SEQ ID No: 188-277.

[00193] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает crРНК, содержащую нуклеотиды, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеотидам любой из SEQ ID No: 1-187, в которой шаблон модификации идентичен шаблону модификации, представленному в эталонном идентификаторе последовательности. Т.е. нуклеотиды А, U, С и G могут различаться на 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% по сравнению с нуклеотидами, показанными в последовательностях, однако модификации остаются неизменными.

[00194] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает trРНК, содержащую нуклеотиды, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеотидам согласно любой одной из SEQ ID No: 188-277, в которой шаблон модификации идентичен шаблону модификации, представленному в эталонном идентификаторе последовательности. Т.е. нуклеотиды А, U, С и G могут различаться на 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% по сравнению с нуклеотидами, показанными в последовательностях, однако модификации каждого нуклеотида остаются неизменными.

5. crРНК, trРНК и dgРНК с модификациями

[00195] В некоторых вариантах воплощения crРНК содержит один или более из модифицированных нуклеотидов в пределах одного или более из доменов 5'-концевой области, нижнего стебля, расширения, верхнего стебля и 3'-концевой области.

[00196] В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-O-Me.

[00197] В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-F.

[00198] В некоторых вариантах воплощения модификация включает фосфоротиоатную (PS) связь, соединяющую один или более из нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения модификация является тремя PS связями соединяющими первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и тремя PS связями, соединяющими последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00199] В некоторых вариантах воплощения модификация включает инвертированный нуклеотид без основания.

[00200] В некоторых вариантах воплощения предложена crPHK, содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в каждом нуклеотиде в верхнем стебле. В некоторых вариантах воплощения каждый из нуклеотидов US-1 - US-14 crPHK модифицирован 2'-O-Me. В некоторых вариантах воплощения LS1 и LS6 crPHK модифицированы 2'-O-Me. В некоторых вариантах воплощения LS5 crPHK модифицирован 2'-O-Me.

[00201] В некоторых вариантах воплощения предложена crPHK, содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в каждом нуклеотиде в верхнем стебле и LS1 и LS6 в нижнем стебле. В некоторых вариантах воплощения crPHK дополнительно содержит один или более из 2'-O-Me или 2'-O-мoe модифицированных нуклеотидов в 5'- и/или 3'-концевой области, например, в виде 5'- и/или 3'-концевой модификации.

[00202] В некоторых вариантах воплощения предложена crPHK, содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в каждом нуклеотиде в верхнем стебле, LS1, LS5 и LS6 в нижнем стебле. В некоторых вариантах воплощения crPHK дополнительно содержит один или более из 2'-O-Me или 2'-O-мoe модифицированных нуклеотидов в 5'- и/или 3'-концевой области, например, в виде 5'- и/или 3'-концевой модификации.

[00203] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает crPHK, содержащую 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS2 и LS6 в нижнем стебле. В некоторых вариантах воплощения crPHK дополнительно содержит 2'-F модифицированные нуклеотиды в каждом из положений B1 и B2 в области расширения. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает crPHK, содержащую 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS2 и LS6 в нижнем стебле и каждом из положений B1 и B2 в области расширения. В некоторых вариантах воплощения crPHK дополнительно содержит один или более из 2'-O-Me или 2'-O-мoe модифицированных нуклеотидов в 5'- и/или 3'-концевой области, например, в виде 5'- и/или 3'-концевой модификации.

[00204] В некоторых вариантах воплощения crPHK содержит 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS1 и LS6 в области нижнего стебля; каждом из нуклеотидов в области расширения; и каждом из нуклеотидов в области верхнего стебля. В

некоторых вариантах воплощения нуклеотид LS5 crPHK также модифицирован 2'-O-Me. В некоторых вариантах воплощения LS2, LS3 и LS4 crPHK не являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения crPHK дополнительно содержит один или более из 2'-O-Me или 2'-O-мие модифицированных нуклеотидов в 5'- и/или 3'-концевой области, например, в виде 5'- и/или 3'-концевой модификации.

[00205] В некоторых вариантах воплощения crPHK содержит 2'-фтор (2'-F) модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS2, и LS6 в области нижнего стебля и каждом из нуклеотидов в области расширения. В некоторых вариантах воплощения crPHK содержит 2'-фтор (2'-F) модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS2 и LS6 в области нижнего стебля и положениях B2 и B2 в области расширения. В некоторых вариантах воплощения crPHK содержит 2'-фтор (2'-F) модифицированные нуклеотиды в положениях LS1- LS6 в области нижнего стебля и каждом из нуклеотидов в области расширения. В некоторых вариантах воплощения crPHK дополнительно содержит один или более из 2'-O-Me или 2'-O-мие модифицированных нуклеотидов в 5'- и/или 3'-концевой области, например, в виде 5'- и/или 3'-концевой модификации.

[00206] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает trPHK, содержащую один или более из модифицированных нуклеотидов в одной или более из следующих областей: 5'-концевой области, области верхнего стебля; области расширения; области нижнего стебля; области связки; области шпильки 1; промежуточной области между областями шпильки 1 и шпильки 2; области шпильки 2; и 3'-концевой области.

[00207] В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-O-Me.

[00208] В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-F.

[00209] В некоторых вариантах воплощения модификация включает а фосфоротиаотную (PS) связь, соединяющую один или более из нуклеотидов. В некоторых вариантах воплощения модификация является тремя PS связями, соединяющими первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и тремя PS связями, соединяющими последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00210] В некоторых вариантах воплощения модификация включает инвертированный нуклеотид без основания.

[00211] В некоторых вариантах воплощения trPHK содержит 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в каждом положении в верхнем стебле; в положениях B1 и B2 в области расширения; в положениях LS1 и LS2 в области нижнего стебля; в положениях N3, N4, N5, N15, N16, N17 и N18 в области связки; в каждом положении в области шпильки 1; в одном нуклеотиде между областями шпильки 1 и шпильки 2; и в каждом положении в области шпильки 2. В некоторых вариантах воплощения trPHK дополнительно содержит один или более из 2'-O-Me или 2'-O-мие модифицированных нуклеотидов в 5'- и/или 3'-концевой области, например, в виде 5'- и/или 3'-концевой модификации.

[00212] В некоторых вариантах воплощения trPHK содержит 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в каждом положении в верхнем стебле; в каждом положении в области расширения; в положениях LS1, LS2, LS5 и LS6 в области нижнего стебля; в положениях N3-N5, N10-N18 в области связки; в каждом положении в области шпильки 1; в одном нуклеотиде между областями шпильки 1 и шпильки 2; и в каждом положении в области шпильки 2. В некоторых вариантах воплощения crPHK дополнительно содержит один или более из 2'-O-Me или 2'-O-мие модифицированных нуклеотидов в 5'- и/или 3'-концевой области, например, в виде 5'- и/или 3'-концевой модификации.

[00213] В некоторых вариантах воплощения trPHK содержит 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях N15 - N18 в области связки. В некоторых вариантах воплощения trPHK дополнительно содержит один или более из 2'-F модифицированных нуклеотидов в 5'- и/или 3'-концевой области, например, в виде 5'- и/или 3'-концевой модификации.

[00214] В некоторых вариантах воплощения trPHK содержит 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS4 и LS5 в области нижнего стебля и положениях N13-N18 в области связки. В некоторых вариантах воплощения trPHK дополнительно содержит один или более из 2'-F модифицированных нуклеотидов в 5'- и/или 3'-концевой области, например, в виде 5'- и/или 3'-концевой модификации.

[00215] В некоторых вариантах воплощения trPHK содержит 2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS3 и LS5 в нижнем стебле и 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS2, LS4 и LS6 в нижнем стебле.

[00216] В настоящем документе в некоторых вариантах воплощения описана *crispr* РНК (*cr*РНК), содержащая одну или более из модификаций в пределах одной или более из следующих областей: первых пяти нуклеотидов в 5'-концевой области; области нижнего стебля; области расширения; области верхнего стебля; и последних пяти нуклеотидов в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-О-метил (2'-О-Ме) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения модификация включает фосфоротиаатную (PS) связь между нуклеотидами. В некоторых вариантах воплощения первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены фосфоротиаатными (PS) связями. В некоторых вариантах воплощения модификация содержит 2'-О-Ме. В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-F. В некоторых вариантах воплощения первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, причем первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-О-Ме модификации. В некоторых вариантах воплощения первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, причем первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-F модификации. В некоторых вариантах воплощения LS1 и LS6 модифицированы 2'-О-Ме. В некоторых вариантах воплощения каждый из нуклеотидов в области верхнего стебля модифицирован 2'-О-Ме.

[00217] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает *crispr* РНК (*cr*РНК), содержащую следующие 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды: LS1 и LS6 в области нижнего стебля; и каждый нуклеотид в области верхнего стебля. В некоторых вариантах воплощения *cr*РНК дополнительно содержит три фосфоротиаатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения *cr*РНК дополнительно содержит 2'-О-Ме или 2'-F

модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области и 2'-O-Me или 2'-F-модифицированные нуклеотиды в последних трех положениях в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения LS1, LS2 и LS6 модифицированы 2'-F. В некоторых вариантах воплощения каждый из нуклеотидов в области расширения модифицирован 2'-F.

[00218] В настоящем документе в некоторых вариантах воплощения описана *crispr* РНК (crРНК), содержащая 2'-F модифицированные нуклеотиды в следующих положениях: LS1, LS2, и LS6 в области нижнего стебля; и каждом положении в области расширения. В некоторых вариантах воплощения crРНК дополнительно содержит три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения crРНК дополнительно содержит 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области и 2'-O-Me или 2'-F-модифицированные нуклеотиды в последних трех положениях в 3'-концевой области.

[00219] В некоторых вариантах воплощения предложена crРНК, содержащая нуклеиновые кислоты согласно любой одной из SEQ ID No: 1- 187. В некоторых вариантах воплощения предложена crРНК, содержащая нуклеиновые кислоты согласно любой из SEQ ID No: 19-31, 53-73, 104-130 и 161-187. В некоторых вариантах воплощения предложена crРНК, содержащая нуклеиновые кислоты, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеиновым кислотам согласно любой из SEQ ID No: 19-31, 53-73, 104-130 и 161-187, в которой шаблон модификации идентичен шаблону модификации, представленному в эталонном идентификаторе последовательности. В некоторых вариантах воплощения crРНК дополнительно содержит три фосфотриоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00220] Кроме того, настоящее изобретение включает *tracr* РНК (trРНК), содержащую одну или более из модификаций в одной или более из следующих областей: первых пяти нуклеотидах в 5'-концевой области; области верхнего стебля; области расширения; области нижнего стебля; области связки; области шпильки 1; области шпильки 2; и последних пяти нуклеотидов в 3'-концевой

области. В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-О-метил (2'-О-Me) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах воплощения модификация включает фосфоротиаотную (PS) связь между нуклеотидами. В некоторых вариантах воплощения первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены фосфоротиаотными (PS) связями. В некоторых вариантах воплощения первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения модификация содержит 2'-О-Me. В некоторых вариантах воплощения модификация включает 2'-F. В некоторых вариантах воплощения первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, причем первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-О-Me модификации. В некоторых вариантах воплощения первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, причем первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-F модификации. В некоторых вариантах воплощения каждый нуклеотид в области верхнего стебля модифицирован 2'-О-Me. В некоторых вариантах воплощения B1 и B2 в области расширения модифицированы 2'-О-Me. В некоторых вариантах воплощения N3, N4, N5, N15, N16, N17 и N18 в области связки модифицированы 2'-О-Me. В некоторых вариантах воплощения каждый нуклеотид в области шпильки 1 модифицирован 2'-О-Me. В некоторых вариантах воплощения каждый нуклеотид в области шпильки 2 модифицирован 2'-О-Me.

[00221] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает tracr РНК (trРНК), содержащую 2'-О-Me модифицированные нуклеотиды в следующих положениях: каждом положении в верхнем стебле; положениях B1 и B2 в области расширения; положениях N3, N4, N5, N15, N16, N17 и N18 в области связки; каждом положении в области шпильки 1; и каждом положении в области шпильки 2. В некоторых вариантах воплощения trРНК дополнительно содержит три фосфоротиаотные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-

концевой области. В некоторых вариантах воплощения trPHK дополнительно содержит 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних трех положениях в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения N15, N16, N17 и N18 модифицированы 2'-F. В некоторых вариантах воплощения LS1, LS3 и LS5 модифицированы 2'-F, а LS2, LS4 и LS6 модифицированы 2'-O-Me. В некоторых вариантах воплощения trPHK дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения trPHK дополнительно содержит 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних трех положениях в 3'-концевой области.

[00222] В некоторых вариантах воплощения предложена trPHK, содержащая нуклеиновые кислоты согласно любой из SEQ ID No: 188-227. В некоторых вариантах воплощения предложена trPHK, содержащая нуклеиновые кислоты, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеиновым кислотам согласно любой из SEQ ID No: 188-227, в которой шаблон модификации идентичен шаблону модификации, представленному в эталонном идентификаторе последовательности. В некоторых вариантах воплощения trPHK дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

[00223] В некоторых случаях предложена двойная направляющая РНК, содержащая crPHK и trPHK, в которой crPHK содержит нуклеиновые кислоты согласно любой из SEQ ID No: 1-187, а trPHK содержит нуклеиновые кислоты согласно любой из SEQ ID No: 188-227.

[00224] Настоящее изобретение включает двойную направляющую РНК, содержащую crPHK, описанную в настоящем документе, и trRNA, описанную в настоящем документе, как и двойная направляющая РНК, содержащая crPHK, описанную в настоящем документе, и немодифицированную trPHK. В некоторых вариантах воплощения предложена двойная направляющая РНК, содержащая

немодифицированную crPНК и модифицированную trPНК, описанную в настоящем документе.

[00225] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает все следующие компоненты:

Вариант воплощения 55. Crispr PНК (crPНК), содержащая одну или более из модификаций в одной или более из следующих областей:

первых пяти нуклеотидах в 5'-концевой области;
области нижнего стебля;
области расширения;
области верхнего стебля; и
последних пяти нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 56. crPНК согласно варианту воплощения 55, в которой модификация включает 2'-О-метил (2'-О-Me) модифицированный нуклеотид.

Вариант воплощения 57. crPНК согласно варианту воплощения 55, в которой модификация включает 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид.

Вариант воплощения 58. crPНК согласно варианту воплощения 55, в которой модификация включает фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами.

Вариант воплощения 59. crPНК согласно любому из вариантов воплощения 55-58, в которой первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области являются модифицированными.

Вариант воплощения 60. crPНК согласно любому из вариантов воплощения 55-58, в которой первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены фосфоротиоатными (PS) связями.

Вариант воплощения 61. crPНК согласно варианту воплощения 59, в которой модификация включает 2'-О-Me.

Вариант воплощения 62. crPНК согласно варианту воплощения 59, в которой модификация включает 2'-F.

Вариант воплощения 63. crPНК согласно любому из вариантов воплощения 55-62, в которой первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, и в которой первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-О-Me модификации.

Вариант воплощения 64. crPHK согласно любому из вариантов воплощения 55–62, в которой первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, и в которой первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-F модификации.

Вариант воплощения 65. crPHK согласно любому из вариантов воплощения 55–60, в которой LS1 и LS6 модифицированы 2'-O-Me.

Вариант воплощения 66. crPHK согласно любому из вариантов воплощения 55–60 и 65, в которой каждый из нуклеотидов в области верхнего стебля модифицирован 2'-O-Me.

Вариант воплощения 67. Crispr PHK (crPHK), содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях:

LS1 и LS6 в области нижнего стебля; и
каждом нуклеотиде в области верхнего стебля.

Вариант воплощения 68. crPHK согласно варианту воплощения 67, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 69. crPHK согласно варианту воплощения 67 или 68, дополнительно содержащая 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах в 5'-концевой области, и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних трех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 70. crPHK согласно любому из вариантов воплощения 55–60, в которой LS1, LS2 и LS6 модифицированы 2'-F.

Вариант воплощения 71. crPHK согласно любому из вариантов воплощения 55–60 и 70, в которой каждый нуклеотид в области расширения модифицирован 2'-F.

Вариант воплощения 72. Crispr PHK (crPHK), содержащая 2'-F модифицированные нуклеотиды в:

положениях LS1, LS2 и LS6 в области нижнего стебля; и
каждом нуклеотиде в области расширения.

Вариант воплощения 73. crPHK согласно любому из вариантов воплощения 70–72, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 74. crРНК согласно варианту воплощения 72 или 73, дополнительно содержащая 2'-О-Ме или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах в 5'-концевой области, и 2'-О-Ме или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних трех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 75. crРНК, содержащая нуклеиновые кислоты согласно любой из SEQ ID No: 1-187.

Вариант воплощения 76. crРНК, содержащая нуклеиновые кислоты согласно любой из SEQ ID No: 19-31, 53-73, 104-130, и 161-187.

Вариант воплощения 77. crРНК, содержащая нуклеиновые кислоты, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеиновым кислотам согласно любой одной из SEQ ID No: 19-31, 53-73, 104-130 и 161-187, в которой шаблон модификации идентичен шаблону модификации, представленному в эталонном идентификаторе последовательности.

Вариант воплощения 78. crРНК согласно любому из вариантов воплощения 75-77, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 79. Tracr РНК (trРНК), содержащая одну или более из модификаций в одной или более из следующих областей:

- первых пяти нуклеотидах в 5'-концевой области;
- области верхнего стебля;
- области расширения;
- области нижнего стебля;
- области связки;
- области шпильки 1;
- области шпильки 2; и
- последних пяти нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 80. trРНК согласно варианту воплощения 79, в которой модификация включает 2'-О-метил (2'-О-Ме) модифицированный нуклеотид.

Вариант воплощения 81. trРНК согласно варианту воплощения 79, в которой модификация включает 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид.

Вариант воплощения 82. trPНК согласно варианту воплощения 79, в которой модификация включает фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами.

Вариант воплощения 83. trPНК согласно любому из вариантов воплощения 79–82, в которой первые четыре нуклеотида в 5′-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3′-концевой области соединены фосфоротиоатными (PS) связями.

Вариант воплощения 84. trPНК согласно любому из вариантов воплощения 79–82, в которой первые три нуклеотида в 5′-концевой области и последние три нуклеотида в 3′-концевой области являются модифицированными.

Вариант воплощения 85. trPНК согласно варианту воплощения 84, в которой модификация включает 2′-O-Me.

Вариант воплощения 86. trPНК согласно варианту воплощения 84, в которой модификация включает 2′-F.

Вариант воплощения 87. trPНК согласно любому из вариантов воплощения 79–86, в которой первые четыре нуклеотида в 5′-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3′-концевой области соединены PS связью, и первые три нуклеотида в 5′-концевой области и последние три нуклеотида в 3′-концевой области содержат 2′-O-Me модификации.

Вариант воплощения 88. trPНК согласно любому из вариантов воплощения 79–86, в которой первые четыре нуклеотида в 5′-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3′-концевой области соединены PS связью, и первые три нуклеотида в 5′-концевой области и последние три нуклеотида в 3′-концевой области содержат 2′-F модификации.

Вариант воплощения 89. trPНК согласно любому из вариантов воплощения 79–84, в которой каждый нуклеотид в области верхнего стебля модифицирован 2′-O-Me.

Вариант воплощения 90. trPНК согласно любому из вариантов воплощения 79–84 и 89, в которой B1 и B2 в области расширения модифицированы 2′-O-Me.

Вариант воплощения 91. trPНК согласно любому из вариантов воплощения 79–84 и 89–90, в которой N3, N4, N5, N15, N16, N17 и N18 в области связки модифицированы 2′-O-Me.

Вариант воплощения 92. trPНК согласно любому из вариантов воплощения 79–84 и 89–91, в которой каждый нуклеотид в области шпильки 1 модифицирован 2′-O-Me.

Вариант воплощения 93. trPHK согласно любому из вариантов воплощения 79–84 и 89–92, в которой каждый нуклеотид в области шпильки 2 модифицирован 2'-O-Me.

Вариант воплощения 94. Tracr PHK (trPHK), содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в:

- каждом нуклеотиде в верхнем стебле;
- B1 и B2 в области расширения;
- N3, N4, N5, N15, N16, N17 и N18 в области связки;
- каждом нуклеотиде в области шпильки 1; и
- каждом нуклеотиде в области шпильки 2.

Вариант воплощения 95. trPHK согласно варианту воплощения 94, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 96. crPHK согласно варианту воплощения 94 или 95, дополнительно содержащая 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области, и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних трех положениях в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 97. trPHK согласно любому из вариантов воплощения 79–84, в которой N15, N16, N17 и N18 модифицированы 2'-F.

Вариант воплощения 98. trPHK согласно любому из вариантов воплощения 79–84 и 97, в которой LS1, LS3 и LS5 модифицированы 2'-F, а LS2, LS4 и LS6 модифицированы 2'-O-Me.

Вариант воплощения 99. trPHK согласно любому из вариантов воплощения 87–98, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 100. trPHK согласно варианту воплощения 98 или 99, дополнительно содержащая 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех положениях в 5'-концевой области, и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних трех нуклеотидах в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 101. trPHK, содержащая нуклеиновые кислоты согласно любой одной из SEQ ID No: 188–227.

Вариант воплощения 102. trPHK, содержащая нуклеиновые кислоты, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93,

92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеиновым кислотам согласно любой одной из SEQ ID No: 188-227, в которой шаблон модификации идентичен шаблону модификации, представленному в эталонном идентификаторе.последовательности.

Вариант воплощения 103. trРНК согласно любому из вариантов воплощения 101- 102, дополнительно содержащая три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

Вариант воплощения 104. Двойная направляющая РНК, содержащая crРНК и trРНК, в которой crРНК содержит нуклеотиды согласно любой одной из SEQ ID No: 1-187, а trРНК содержит нуклеиновые кислоты согласно любой одной из SEQ ID No: 188-227.

Вариант воплощения 105. Двойная направляющая РНК, содержащая crРНК согласно любому из вариантов воплощения 55-78 и trРНК согласно любому из вариантов воплощения 79-103.

Вариант воплощения 106. Двойная направляющая РНК, содержащая crРНК согласно любому из вариантов воплощения 55-78 и немодифицированную trРНК.

Вариант воплощения 107. Двойная направляющая РНК, содержащая немодифицированную crРНК и trРНК согласно любому из вариантов воплощения 79-103.

Модификации концевых нуклеотидов

[00226] В некоторых вариантах воплощения 5' или 3'-концевые нуклеотиды любой из направляющих РНК, описанных в настоящем документе, являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения концевые (т.е. последние) 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов в 3'-концевой области направляющей РНК, включая, например, sgРНК, dgРНК, crРНК, trРНК, или как crРНК, так и trРНК, являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения концевые (т.е. последние) 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов в 3'-концевой области направляющей РНК содержат более одной модификации. В некоторых вариантах воплощения по меньшей мере один из концевых (т.е. последних) 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов в 3'-концевой области является модифицированным. В некоторых вариантах воплощения по меньшей мере два из концевых (т.е. последних) 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов в 3'-концевой области являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения по меньшей мере три из концевых (т.е. последних) 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов в 3'-

концевой области являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения модификация включает PS соединение.

[00227] В некоторых вариантах воплощения 5'-конец 5'-концевой области является модифицированным, например, первые 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов sgРНК, dgРНК, crРНК, trРНК или как crРНК, так и trРНК являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения первые 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов в 3'-концевой области направляющей РНК содержат более одной модификации. В некоторых вариантах воплощения по меньшей мере один из концевых (т.е. первых) 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов на 5'-конце являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения по меньшей мере два из концевых 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов на 5'-конце являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения по меньшей мере три из концевых 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов на 5'-конце являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения модификация включает PS соединение.

[00228] В некоторых вариантах воплощения как 5'-, так и 3'-концевые области (например, концы) направляющей РНК, например, sgРНК, dgРНК, crРНК, trРНК или как crРНК, так и trРНК являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения только 5'-концевая область направляющей РНК, например, sgРНК, dgРНК, crРНК, trРНК или как crРНК, так и trРНК является модифицированной. В некоторых вариантах воплощения только 3'-концевая область направляющей РНК, например, sgРНК, dgРНК, crРНК, trРНК или как crРНК, так и trРНК является модифицированной.

[00229] В некоторых вариантах воплощения gРНК содержит модификации в 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 из первых 7 нуклеотидов на 5'-конце gРНК. В некоторых вариантах воплощения gРНК содержит модификации в 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 из 7 концевых нуклеотидов на 3'-конце. В некоторых вариантах воплощения 2, 3 или 4 из первых 4 нуклеотидов на 5'-конце и/или 2, 3 или 4 из концевых 4 нуклеотидов на 3'-конце являются модифицированными. В некоторых вариантах воплощения 2, 3 или 4 из первых 4 нуклеотидов на 5'-конце соединены фосфоротриатными (PS) связями.

[00230] В некоторых вариантах воплощения модификация в 5'-концевой области и/или 3'-концевой области содержит 2'-O-метил (2'-O-Me) или 2'-O-(2-метоксиэтил) (2'-O-моe) модификацию нуклеотида. В некоторых вариантах воплощения модификация

включает 2'-фтор (2'-F) модификацию нуклеотида. В некоторых вариантах воплощения модификация включает фосфоротиаотное (PS) соединение между нуклеотидами. В некоторых вариантах воплощения модификация включает инвертированный нуклеотид без основания. В некоторых вариантах воплощения модификация включает более чем одну модификацию, выбранную из 2'-O-Me, 2'-O-ное, 2'-фтор (2'-F), фосфоротиаотной (PS) связи между нуклеотидами и инвертированного нуклеотида без основания. Некоторые варианты воплощения включают эквивалентную модификацию.

[00231] В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК, например, sgРНК, dgРНК, crРНК, trРНК или как crРНК, так и trРНК содержит одно или более из фосфоротиаотных (PS) соединений между первыми одним, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью или семью нуклеотидами в 5'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК, например, sgРНК, dgРНК, crРНК, trРНК или как crРНК, так и trРНК содержит одно или более из PS соединений между последними одним, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью или семью нуклеотидами в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК, например, sgРНК, dgРНК, crРНК, trРНК или как crРНК, так и trРНК содержит одно или более из PS соединений между последними одним, двумя, тремя, четырьмя, пятью, шестью или семью нуклеотидами как в 5'-концевой, так и в 3'-концевой области. В некоторых вариантах воплощения в дополнение к PS связям 5'- и 3'-концевые нуклеотиды могут содержать 2'-O-Me, 2'-O-ное или 2'-F модифицированные нуклеотиды.

[00232] В некоторых вариантах воплощения направляющая РНК, например, sgРНК, dgРНК, crРНК, trРНК или как crРНК, так и trРНК содержит модифицированные нуклеотиды в 5'- и 3'-концевой области и модифицированные нуклеотиды в одной или более из других областей, описанных в таблицах 1-3 и на фиг. 21A или 21C.

[00233] В некоторых вариантах воплощения crРНК, trРНК или как crРНК, так и trРНК содержит модифицированные нуклеотиды, не находящиеся на 5'- или 3'-концах. Конкретные шаблоны модификации описаны ниже и в таблице 4.

3. Доставка gРНК и белка Cas

[00234] В некоторых вариантах воплощения в дополнение к по меньшей мере одной gРНК в настоящем документе предложены композиции, дополнительно содержащие нуклеазу. В некоторых вариантах воплощения нуклеаза является белком Cas. В некоторых

вариантах воплощения gPНК совместно с белком Cas называют РНП Cas. В некоторых вариантах воплощения белок Cas получен из системы CRISPR/Cas II типа. В некоторых вариантах воплощения белок Cas является Cas9. В некоторых вариантах воплощения белок Cas9 является Cas9 дикого типа. В некоторых вариантах воплощения белок Cas9 получен из белка Cas9 *Streptococcus pyogenes*, например, Cas9 *S. pyogenes*. В некоторых вариантах воплощения белок Cas9 получен не из *S. pyogenes*, однако функционирует аналогично Cas9 *S. pyogenes*, например, gPНК, специфичная по отношению к Cas9 *S. pyogenes*, может обеспечивать специфичность Cas9, полученного не из *S. pyogenes*, по отношению к ее сайту-мишени. В некоторых вариантах воплощения Cas индуцирует двуцепочечный разрыв в ДНК-мишени. Варианты воплощения, описанные в настоящем документе, включают эквиваленты белка Cas9 *S. pyogenes*.

[00235] Cas9 охватывает его модифицированные формы и варианты. Модифицированные версии Cas9, содержащие один неактивный каталитический домен (RuvC или HNH), называют «никазами». Никазы разрезают только одну цепь ДНК-мишени, таким образом создавая одноцепочечный разрыв. Одноцепочечный разрыв также может быть известен под названием «ник». В некоторых вариантах воплощения композиции и способы включают никазы. В некоторых вариантах воплощения композиции и способы включают никазу Cas9, индуцирующую ник, а не двуцепочечный разрыв в ДНК-мишени.

[00236] В некоторых вариантах воплощения белок Cas может быть модифицирован и содержать только один функциональный нуклеазный домен. Например, белок Cas можно модифицировать так, что один из нуклеазных доменов мутируют или полностью или частично удаляют с целью снижения его активности по гидролизу нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах воплощения применяют никазу Cas, содержащую домен RuvC с пониженной активностью. В некоторых вариантах воплощения применяют никазу Cas, содержащую неактивный домен RuvC. В некоторых вариантах воплощения применяют никазу Cas, содержащую домен HNH с пониженной активностью. В некоторых вариантах воплощения применяют никазу Cas, содержащую неактивный домен HNH.

[00237] В некоторых вариантах воплощения консервативную аминокислоту в нуклеазном домене белка Cas заменяют с целью снижения или модификации нуклеазной активности. В некоторых

вариантах воплощения белок Cas может содержать аминокислотный заместитель в RuvC или RuvC-подобном нуклеазном домене. Типичные аминокислотные заместители в RuvC или RuvC-подобном нуклеазном домене включают D10A (на основе белка Cas9 *S. pyogenes*). В некоторых вариантах воплощения белок Cas может содержать аминокислотный заместитель в HNH или HNH-подобном нуклеазном домене. Типичные аминокислотные заместители в HNH или HNH-подобном нуклеазном домене включают E762A, H840A, N863A, H983A и D986A (на основе белка Cas9 *S. pyogenes*).

[00238] В некоторых вариантах воплощения комплекс РНК, описанный в настоящем документе, содержит никазу и пару направляющих РНК, комплементарных смысловой и антисмысловой цепям последовательности-мишени, соответственно. В данном варианте воплощения направляющие РНК обеспечивают специфичность никазы по отношению к последовательности-мишени и внедрение двуцепочечного разрыва (DSB) путем получения ника на противоположных цепях последовательности-мишени (т.е. получения двойного ника). В некоторых вариантах воплощения использование двойного ника может улучшить специфичность и снизить неспецифические эффекты. В некоторых вариантах воплощения никазу Cas применяют совместно с двумя отдельными направляющими РНК, оказывающими адресное воздействие на противоположные цепи ДНК с получением двойного ника в ДНК-мишени. В некоторых вариантах воплощения никазу Cas применяют совместно с двумя отдельными направляющими РНК, выбранными на основании их близкого расположения, позволяющего получить двойной ник в ДНК-мишени.

[00239] В некоторых вариантах воплощения применяют химерные белки Cas, в которых один домен или область белка замещают фрагментом другого белка. В некоторых вариантах воплощения нуклеазный домен Cas можно заместить доменом другой нуклеазы, например, FokI. В некоторых вариантах воплощения белок Cas может быть модифицированной нуклеазой.

[00240] В некоторых вариантах воплощения белок Cas содержит гибридный белок, содержащий каталитически неактивный Cas9, присоединенный к гетерологичному функциональному домену (см., например, WO2014152432). В некоторых вариантах воплощения каталитически неактивный Cas9 получают из *S. pyogenes*. В некоторых вариантах воплощения каталитически неактивный Cas9 содержит мутации, инактивирующие Cas9. В некоторых вариантах воплощения гетерологичный функциональный домен является доменом,

модифицирующим экспрессию гена, гистоны или ДНК. В некоторых вариантах воплощения гетерологичный функциональный домен является доменом активации транскрипции или доменом репрессии транскрипции.

РАМ

[00241] В некоторых вариантах воплощения последовательность-мишень может располагаться рядом с РАМ. В некоторых вариантах воплощения РАМ может располагаться рядом с последовательностью-мишенью или в пределах 1, 2, 3 или 4 нуклеотидов от ее 3'-конца. Длина и последовательность РАМ может зависеть от используемого белка Cas. Например, РАМ можно выбрать из консенсусной или частной последовательности РАМ конкретного белка Cas9 или ортолога Cas9, в том числе последовательностей, описанных на фигуре 1 статьи Ran et al., Nature 520:186-191 (2015), включенной в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах воплощения длина РАМ может составлять 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов. Неограничивающие типичные последовательности РАМ включают NGG, NAG, NGA, NGAG, NGCG, NNGRRT, TTN, NGGNG, NG, NAAAAN, NNAAAAN, NNNNACA, GNNNCNNA и NNNNGATT (где N обозначает любой нуклеотид, W обозначает A или T, а R обозначает A или G). В некоторых вариантах воплощения последовательность РАМ может быть NGG. В некоторых вариантах воплощения последовательность РАМ может быть NGGNG. В некоторых вариантах воплощения последовательность РАМ может быть NNAAAAN.

Доставка модифицированной gPHK

[00242] Липидные наночастицы (LNP) являются хорошо известными средствами доставки груза нуклеотидов и белка, которые можно применять для доставки gPHK, мPHK, Cas9 и РНП, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах воплощения LNP используют для доставки нуклеиновой кислоты, белка или нуклеиновой кислоты вместе с белком.

[00243] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает способ доставки любой из gPHK, описанных в настоящем документе, в организм субъекта, причем gPHK ассоциирована с LNP. В некоторых вариантах воплощения gPHK/LNP также ассоциирован с Cas9 или мPHK, кодирующей Cas9.

[00244] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает композицию, содержащую любую одну из описанных gPHK и LNP. В некоторых вариантах воплощения

композиция дополнительно содержит Cas9 или мРНК, кодирующую Cas9.

[00245] В некоторых вариантах воплощения LNP содержат катионные липиды. В некоторых вариантах воплощения LNP содержат (9Z,12Z)-3-((4,4-бис(октилокси)бутаноил)окси)-2-(((3-(диэтиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)пропил-октадека-9,12-диеноат, также называемый 3-((4,4-бис(октилокси)бутаноил)окси)-2-(((3-(диэтиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)пропил-(9Z,12Z)-октадека-9,12-диеноатом). В некоторых вариантах воплощения LNP содержат молярные соотношения амина катионного липида и фосфата РНК (N:P), составляющие приблизительно 4,5.

[00246] В некоторых вариантах воплощения LNP, ассоциированные с гРНК, описанной в настоящем документе, предназначены для применения при получении медикамента для лечения заболевания или расстройства.

[00247] Электропорация является хорошо известным средством доставки груза, и любую методологию электропорации можно применять для доставки любой из гРНК, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах воплощения электропорацию можно применять для доставки любой одной из гРНК, описанных в настоящем документе, и Cas9 или мРНК, кодирующей Cas9.

[00248] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает способ доставки любой одной из гРНК, описанных в настоящем документе, в клетку *ex vivo*, причем гРНК ассоциирована с LNP или не ассоциирована с LNP. В некоторых вариантах воплощения гРНК/LNP или гРНК также ассоциирована с Cas9 или мРНК, кодирующей Cas9.

4. Способы модуляции генов

[00249] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает фармацевтический состав, содержащий любую из гРНК, описанных в настоящем документе, вместе с фармацевтически приемлемым носителем. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает фармацевтический состав, содержащий любую одну из гРНК, описанных в настоящем документе, и LNP вместе с фармацевтически приемлемым носителем. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает фармацевтический состав, содержащий любую одну из гРНК, описанных в настоящем документе, белок Cas9 или мРНК, кодирующую белок Cas9, и LNP вместе с фармацевтически приемлемым носителем. В некоторых вариантах воплощения фармацевтический состав

предназначен для применения при получении медикамента для лечения заболевания или расстройства. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает способ лечения пациента-человека, включающий введение любой из gРНК или фармацевтических составов, описанных в настоящем документе.

[00250] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает способ или применение, модифицирующие ДНК-мишень, включающие введение или доставку белка Cas или мРНК Cas и одной или более gРНК, описанных в настоящем документе.

[00251] В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает способ или применение для модуляции гена-мишени, включающие введение или доставку белка Cas или мРНК Cas и любой одной или более из gРНК, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах воплощения модуляция является редактированием гена-мишени. В некоторых вариантах воплощения модуляция является изменением экспрессии белка, кодируемого геном-мишенью.

[00252] В некоторых вариантах воплощения способ или применение приводят к редактированию гена. В некоторых вариантах воплощения способ или применение приводят к образованию двуцепочечного разрыва в гене-мишени. В некоторых вариантах воплощения способ или применения приводит к образованию инсерционно-делеционной мутации во время негомологичного соединения концов DSB. В некоторых вариантах воплощения способ или применение приводят к инсерции или делеции нуклеотидов в гене-мишени. В некоторых вариантах воплощения инсерция или делеция нуклеотидов в гене-мишени приводит к мутации сдвига рамки считывания или появлению преждевременного стоп-кодона, что приводит к получению нефункционального белка. В некоторых вариантах воплощения инсерция или делеция нуклеотидов в гене-мишени приводит к нокдауну или устранению экспрессии гена-мишени. В некоторых вариантах воплощения способ или применение включает гомологичную специфическую репарацию DSB. В некоторых вариантах воплощения способ или применение дополнительно включает доставку матрицы в клетку, причем по меньшей мере часть матрицы включается в ДНК-мишень в сайте двуцепочечного разрыва, индуцируемого белком Cas, или рядом с ним.

[00253] В некоторых вариантах воплощения способ или применение приводит к модуляции гена. В некоторых вариантах воплощения модуляция гена является усилением или ослаблением

экспрессии гена, изменением состояния метилирования ДНК или модификацией субъединицы гистона. В некоторых вариантах воплощения способ или применение приводит к усилению или ослаблению экспрессии белка, кодируемого геном-мишенью.

[00254] В некоторых вариантах воплощения любую из gРНК, описанных в настоящем документе, можно применять при получении медикамента для лечения заболевания или расстройства.

Меры модуляции гена

[00255] Эффективность модифицированных gРНК можно тестировать *in vitro* и *in vivo*. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает одну или более из gРНК, описанных в настоящем документе, причем gРНК приводит к модуляции гена при ее попадании в клетку вместе с Cas9. В некоторых вариантах воплощения эффективность gРНК можно измерить в ходе анализов *in vitro* или *in vivo*.

1. Измерение эффективности Cas *in vitro*

[00256] В некоторых вариантах воплощения активность РНП Cas, содержащего модифицированную sgРНК, сравнивают с активностью РНП Cas, содержащего немодифицированную sgРНК.

[00257] В некоторых вариантах воплощения активность РНП Cas, содержащего dgРНК, содержащую модифицированную trРНК, сравнивают с активностью РНП Cas, содержащего dgРНК, содержащую немодифицированную trРНК.

[00258] В некоторых вариантах воплощения активность РНП Cas, содержащего dgРНК, содержащую модифицированную crРНК, сравнивают с активностью РНП Cas, содержащего dgРНК, содержащую немодифицированную crРНК.

[00259] В некоторых вариантах воплощения активность РНП Cas, содержащего dgРНК, содержащую модифицированную crРНК и модифицированную trРНК, сравнивают с активностью РНП Cas, содержащего немодифицированную crРНК и немодифицированную trРНК.

[00260] В некоторых вариантах воплощения эффективность gРНК при увеличении или ослаблении экспрессии белка-мишени определяют путем измерения количества белка-мишени. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает любую одну из gРНК, описанных в настоящем документе, причем gРНК увеличивает или уменьшает количество белка, продуцированного с гена-мишени. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает способ модулирования экспрессии белка, включающий введение любой одной из gРНК, описанных в настоящем документе, субъекту, причем

gРНК обеспечивает специфичность Cas9 по отношению к гену, кодирующему белок-мишень, и экспрессия гена-мишени усиливается или ослабляется по сравнению с контрольной gРНК, не обеспечивающей адресное воздействие Cas9 на указанный ген.

[00261] В некоторых вариантах воплощения эффективность редактирования с помощью специфических gРНК определяют путем редактирования, присутствующего в местоположении мишени в геноме после доставки Cas9 и gРНК (sgРНК или dgРНК, содержащей crРНК и trРНК). В некоторых вариантах воплощения эффективность редактирования с помощью специфических gРНК измеряют с помощью секвенирования нового поколения. В некоторых вариантах воплощения определяют процент редактирования исследуемой области-мишени. В некоторых вариантах воплощения измеряют общее количество считанных фрагментов с инсерциями или делециями нуклеотидов в исследуемой области-мишени по сравнению с общим количеством считанных фрагментов последовательности после доставки gРНК и Cas9. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает способ увеличения эффективности редактирования генов, включающий введение или доставку любой одной из модифицированных gРНК, описанных в настоящем документе, в клетку, причем процент редактирования гена увеличивается по сравнению с контрольной gРНК, не модифицированной аналогичным образом.

[00262] В некоторых вариантах воплощения эффективность редактирования с использованием конкретных gРНК измеряют по наличию инсерций или делеций нуклеотидов, внедренных при успешном редактировании гена. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает способ создания инсерций или делеций нуклеотидов в генах, включающий введение или доставку любой одной из модифицированных gРНК, описанных в настоящем документе, в клетку, причем нуклеотиды вставляют или удаляют по сравнению с контрольной gРНК, не модифицированной аналогичным образом. В некоторых вариантах воплощения активность Cas9 и gРНК тестируют в ходе биохимических анализов. В некоторых вариантах воплощения активность Cas9 и gРНК тестируют в ходе бесклеточного анализа расщепления. В некоторых вариантах воплощения активность Cas9 и gРНК тестируют в клетках Neuro2A.

[00263] В некоторых вариантах воплощения Cas9 и sgРНК или dgРНК, содержащие модифицированную crРНК и/или trРНК, демонстрируют аналогичную, более высокую или пониженную

активность по сравнению с немодифицированной sgРНК или dgРНК, содержащей немодифицированную crРНК и trРНК. В некоторых вариантах воплощения Cas9 и модифицированная sgРНК или dgРНК, содержащие модифицированные crРНК и/или trРНК, демонстрируют усиленную активность по сравнению с немодифицированной sgРНК или dgРНК, содержащей немодифицированные crРНК и trРНК.

2. Измерение эффективности Cas in vivo

[00264] В некоторых вариантах воплощения измеряют активность модифицированных gРНК после введения in vivo LNP, содержащего модифицированные gРНК и белок Cas или мРНК кодирующую белок Cas.

[00265] В некоторых вариантах воплощения эффективность in vivo gРНК или композиции, предложенных в настоящем документе, определяют по эффективности редактирования, измеренной в ДНК, выделенной из ткани (например, ткани печени) после введения gРНК и Cas9.

3. Измерения активации иммунной системы in vivo

[00266] Модификации gРНК, описанные в настоящем документе, могут ослаблять иммунный ответ субъекта на введение gРНК in vivo. В некоторых вариантах воплощения активацию иммунного ответа субъекта измеряют по концентрации цитокина(ов) в сыворотке после введения sgРНК или dgРНК, содержащей trРНК и crРНК, вместе с мРНК или белком Cas9 (например, в составе с LNP) in vivo. В некоторых вариантах воплощения цитокин является интерфероном-альфа (ИФН-альфа), интерлейкином-6 (ИЛ-6), белком 1 хемотаксиса моноцитов (MCP-1) и/или фактором некроза опухолей-альфа (ФНО-альфа). В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает способ снижения иммунного ответа субъекта для доставки gРНК, включающий введение любой одной из gРНК, описанных в настоящем документе, причем gРНК продуцирует ослабленный ответ иммунной системы субъекта после введения. В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение включает способ ослабления активации иммунной системы субъекта после введения по сравнению с контрольной gРНК, не модифицированной аналогичным образом.

[00267] В некоторых вариантах воплощения введение РНП Cas или мРНК Cas9 вместе с модифицированной gРНК (например, sgРНК или dgРНК) вызывает более низкую концентрацию(и) цитокинов иммунного ответа в сыворотке по сравнению с введением немодифицированной sgРНК. В некоторых вариантах воплощения

настоящее изобретение включает способ снижения концентрации цитокинов иммунного ответа в сыворотке субъекта, включающий введение любой из gРНК, описанных в настоящем документе, причем gРНК вызывает более низкую концентрацию цитокинов иммунного ответа в сыворотке субъекта по сравнению с контрольной gРНК, не модифицированной аналогичным образом.

[00268] Данное описание типичных вариантов воплощения не следует воспринимать как ограничивающее. Для целей настоящего патентного описания и прилагаемой формулы изобретения, если не указано иное, все числа, выражающие количественные показатели, процентные доли, пропорции и другие численные значения, использованные в описании и формуле изобретения, во всех случаях следует понимать как модифицированные термином «приблизительно» в тех случаях, когда они не модифицированы таким образом. Соответственно, если не указано противоположное, численные параметры, заданные в следующем описании и прилагаемой формуле изобретения, являются приближенными значениями, которые могут изменяться в зависимости от желательных свойств, которые следует получить. По меньшей мере и не в качестве попытки ограничить применение доктрины эквивалентов к сущности формулы изобретения, каждый численный параметр следует истолковывать по меньшей мере в свете количества приведенных значащих цифр и с применением обычных способов округления.

[00269] Следует отметить, что в данном описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа любого слова включают определяемые объекты во множественном числе, если явно и недвусмысленно не указано, что они ограничиваются одним определяемым объектом. В настоящем документе термин «включать» и его грамматические варианты считаются неограничивающими, так что упоминание элементов в списке не является исключением других подобных элементов, которые могут замещать или добавляться к перечисленным элементам.

ПРИМЕРЫ

[00270] Следующие примеры приведены с целью иллюстрирования некоторых описанных вариантов воплощения и не должны рассматриваться как ограничивающие сущность описания каким-либо образом.

Пример 1– Материалы и способы

Синтетическая направляющая РНК (gРНК)

[00271] gРНК как в двойном (dgРНК, т.е. crРНК и trРНК), так и в одиночном направляющем (sgРНК) формате, химически синтезированные коммерческими поставщиками с использованием модифицированных нуклеотидов и связей представлены в таблице 4.

Транскрипция мРНК Cas9 *in vitro* («IVT»)

[00272] Кэпированную и полиаденилированную мРНК Cas9, содержащую N1-метил псевдо-U, получали транскрипцией *in vitro* с использованием матрицы линейаризованной плазмидной ДНК и РНК-полимеразы T7. Плазмидную ДНК, содержащую промотор T7 и поли(А/Е) область размером 100 нуклеотидов (nt), линейаризовали XbaI и получали от коммерческого производителя. Реакционную смесь для IVT с целью получения модифицированной мРНК Cas9 инкубировали при 37°C в течение 4 часов в следующих условиях: 50 нг/мкл линейаризованной плазмиды; по 2 мМ GTP, ATP, CTP и N1-метил псевдо-UTP (Trilink); 10 мМ ARCA (Trilink); 5 ед/мкл РНК-полимеразы T7 (NEB); 1 ед/мкл ингибитора РНКазы мыши (NEB); 0,004 ед/мкл неорганической пирофосфатазы *E. coli* (NEB); и 1х реакционный буфер. После 4-ч инкубирования добавляли ДНКазу TURBO (ThermoFisher) в конечной концентрации 0,01 ед/мкл и инкубировали реакционную смесь в течение еще 30 минут для удаления ДНК-матрицы. мРНК Cas9 очищали от ферментов и нуклеотидов с использованием стандартных протоколов, включая колонки для связывания с диоксидом кремния, например, набор для очистки продуктов транскрипции MegaClear Transcription Clean-up (ThermoFisher) или поэтапного осаждения с использованием LiCl, а затем EtOH с NaOAc. Концентрацию транскрипта определяли путем измерения поглощения света при 260 нм (Nanodrop), транскрипт анализировали капиллярным электрофорезом на Bioanalyzer (Agilent).

Трансфекция мРНК Cas9 и gРНК в клетки Neuro2A

[00273] Клетки линии Neuro2A мыши культивировали в среде DMEM с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки и высевали из расчета плотности 15000 клеток/лунку в 96-луночный планшет за 24 часа до трансфекции. В день трансфекции среду аспирировали от клеток и заменяли свежей средой. Липофектамин-2000 (Invitrogen) разбавляли в соотношении 1:50 (об/об) Opti-MEM (Invitrogen). мРНК Cas9 и одиночную направляющую РНК разбавляли Opti-MEM по отдельности. Для двойного направляющего формата crРНК и trРНК разбавляли совместно в молярном соотношении 1:1 Opti-MEM. Как мРНК Cas9, так и gРНК раздельно смешивали в

соотношении 1:1 (об/об) с разбавленным липофектамином-2000, получая два липоплекса. Через 5 минут инкубирования липоплексы последовательно добавляли к клеткам до конечной концентрации 100 нг мРНК Cas9/лунку и в общей сложности 0,4 мкл реагента для липофекции. Направляющие РНК тестировали на двух уровнях дозы для каждого эксперимента, включая 25 нМ и 2,5 нМ, 16,7 нМ и 1,67 нМ, 10 нМ и 1 нМ, 8,3 нМ и 0,83 нМ, и 3 нМ и 0,3 нМ. Для двойной направляющей РНК данная концентрация включала эквимоллярные количества crРНК и trРНК, например, 25 нМ crРНК и 25 нМ trРНК давали общую концентрацию двойной направляющей РНК 25 нМ. Клетки лизировали через 24 часа после трансфекции, а лизаты использовали непосредственно для ПЦР, продукты которой анализировали на предмет редактирования посредством NGS.

[00274] мРНК Cas9 с 1xNLS (SEQ ID NO: 359):

GGGUCCCCGAGUCGGCGUCCAGCGGCUCUGCUUGUUCGUGUGUGUGUCGUUGCAGGCCU
 UAUUCGGAUCCAUGGAUAAGAAGUACUCAUCGGGCUGGAUAUCGGAACUAAUUCGUGGGUUG
 GGCAGUGAUCACGGAUGAAUACAAAGUGCCGUCCAAGAAGUUCAAGGUCCUGGGGAACACCGAU
 AGACACAGCAUCAAGAAAAAUCUCAUCGGAGCCCUGCUGUUUGACUCCGGCGAAACCGCAGAAG
 CGACCCGGCUCAAACGUACCGCGAGGCGACGCUACACCCGGCGGAAGAAUCGCAUCUGCUAUCU
 GCAAGAGAUUUUUCGAACGAAAUGGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCACCGCCUGGAAGAA
 UCUIUCCUGGUGGAGGAGGACAAGAAGCAUGAACGGCAUCCUAUCUUGGAAACAUCGUCGACG
 AAGUGGCGUACCACGAAAAGUACCCGACCAUCUACCAUCUGCGGAAGAAGUUGGUUGACUCAAC
 UGACAAGGCCCGACCUCAGAUUGAUCUACUUGGCCUCGCCCCAUUGAUCAAAUUCGCGGACAC
 UUCUGAUCGAAGGCGAUCUGAACCCUGAUAAUCUCCGACGUGGAUAAGCUUUUCAUUAACUGG
 UGCAGACCUACAACCAACUGUUCGAAGAAAACCCAAUCAAUGCUAGCGGCGUCGAUGCCAAGGC
 CAUCCUGUCCGCCCCGGCUGUCGAAGUCGCGGCGCCUCGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGA
 GAGAAAAAGAACGGACUUUUCGGCAACUUGAUCGCUCUCUCACUGGGACUCACUCCCAAUUUCA
 AGUCCAAUUUUGACCUGGCCGAGGACGCGAAGCUGCAACUCUCAAGGACACCUACGACGACGA
 CUUGGACAAUUUUGCUGGCACAAAUUGGCGAUCAGUACGCGGAUCUGUUCUUGCCGCUAAGAAC
 CUUUCGGACGCAAUCUUGCUGUCCGAUAUCCUGCGCGUGAACACCGAAUAACCAAAGCGCCGC
 UUAGCGCCUCGAUGAUUAAGCGGUACGACGAGCAUACACAGGAUCUCACGCUGCUCAAAGCGCU
 CGUGAGACAGCAACUGCCUGAAAAGUACAAGGAGAUUCUUCUUGACCAGUCCAAGAAUGGGUAC
 GCAGGGUACAUCGAUGGAGGCGCUAGCCAGGAAGAGUUCUAUAAGUUAUCAAGCCAAUCCUGG
 AAAAGAUGGACGGAACCGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGGGAGGAUCUGCUCCGGAAACA
 GAGAACCUIUGACAACGGAUCCAUUCCCCACCAGAUCCAUCUGGGUGAGCUGCACGCCAUUCUG
 CGGCGCCAGGAGGACUUUUACCCAUCCUCAAGGACAACCGGGAAAAGAUUGAGAAAAUUCUGA
 CGUUCGCAUCCCGUAUUACGUGGGGCCACUGGCGCGCGGCAAUUCGCGCUUCGCGUGGAUGAC
 UAGAAAAUCAGAGGAAACCAUCACUCCUUGGAAUUUCGAGGAAGUUGUGGAUAAGGGAGCUUCG
 GCACAAAGCUUCAUCGAACGAAUGACCAACUUCGACAAGAAUCUCCCAAACGAGAAGGUGCUUC
 CUAAGCACAGCCUCCUUUACGAAUACUUCACUGUCUACAACGAACUGACUAAAGUGAAAUACGU

UACUGAAGGAAUGAGGAAGCCGGCCUUUCUGUCCGGAGAACAGAAGAAAGCAAUUGUCGAUCUG
 CUGUUCAAGACCAACCGCAAGGUGACCGUCAAGCAGCUUAAAGAGGACUACUUCAAGAAGAUUCG
 AGUGUUUCGACUCAGUGGAAAUACAGCGGGGUGGAGGACAGAUUCAACGCUUCGCUGGGAACCUA
 UCAUGAUCUCCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCUUGACAACGAGGAGAACGAGGACAUC
 CUGGAAGAUAUUCGUCCUGACCUUGACCCUUUUCGAGGAUCGCGAGAUGAUCGAGGAGAGGCUUA
 AGACCUACGCUCAUCUCUUCGACGAUAAGGUCAUGAAACAACUCAAGCGCCGCCGGUACACUGG
 UUGGGGCCGCCUCUCCCCGCAAGCUGAUCAACGGUAUUCGCGAUAAACAGAGCGGUAAAACUAUC
 CUGGAUUUCCUCAAAUCGGAUGGCUUCGCUAAUCGUAACUUCAUGCAAUUGAUCCACGACGACA
 GCCUGACCUUUAAGGAGGACAUCCAAAAAGCACAAAGUGUCCGGACAGGGAGACUCACUCCAUGA
 ACACAUCGCGAAUCUGGCCGGUUCGCCGGCGAUUAAGAAGGGAAUUCUGCAAACUGUGAAGGUG
 GUCGACGAGCUGGUGAAGGUCAUGGGACGGCACAAACCGGAGAAUAUCGUGAUUGAAAUGGCCC
 GAGAAAACAGACUACCCAGAAGGGCCAGAAAAACUCCCGCGAAAGGAUGAAGCGGAUCGAAGA
 AGGAAUCAAGGAGCUGGGCAGCCAGAUCCUGAAAGAGCACCCGGUGGAAAACACGCAGCUGCAG
 AACGAGAAGCUCUACCUGUACUAUUUGCAAAAUGGACGGGACAUGUACGUGGACCAAGAGCUGG
 ACAUCAAUUCGGUUGUCUGAUUACGACGUGGACCACAUCGUUCCACAGUCCUUCUGAAGGAUGA
 CUCGAUCGAUAACAAGGUGUUGACUCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAAGUCAGAUAAUGUGCCA
 UCGGAGGAGGUCGUGAAGAAGAUGAAGAAUUCUGGCGGCAGCUCCUGAAUGCGAAGCUGAUUA
 CCCAGAGAAAGUUUGACAAUCUCACUAAAGCCGAGCGCGGCGGACUCUCAGAGCUGGAUAAGGC
 UGGAUUCAUCAAACGGCAGCUGGUCGAGACUCGGCAGAUUACCAAGCACGUGGCGCAGAUUCUG
 GACUCCCGCAUGAACACUAAUACGACGAGAACGAUAAGCUCAUCCGGGAAGUGAAGGUGAUUA
 CCCUGAAAAGCAAACUUGUGUCGGACUUUCGGAAGGACUUUCAGUUUACAAAGUGAGAGAAAU
 CAACAACUACCAUCACGCGCAUGACGCAUACCUCAACGCUGUGGUCGGUACCGCCCUGAUCAA
 AAGUACCCUAAACUUGAAUCGGAGUUUGUGUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUGAGGAAGA
 UGAUAGCCAAGUCCGAACAGGAAAUCGGGAAAGCAACUGCGAAAUACUUCUUUUACUCAAACAU
 CAUGAACUUUUUCAAGACUGAAAUUACGCUGGCCAAUGGAGAAAUCAGGAAGAGGCCACUGAUC
 GAAACUAACGGAGAAACGGGCGAAAUCGUGUGGGACAAGGGCAGGGACUUCGCAACUGUUCGCA
 AAGUGCUCUCUAUGCCGCAAGUCAUAUUGUGAAGAAAACCGAAGUGCAAACCGGCGGAUUUUC
 AAAGGAAUCGAUCCUCCCAAAGAGAAAUAGCGACAAGCUCAUUGCACGCAAGAAAGACUGGGAC
 CCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGAUUCGCCGACUGUCGCAUACUCCGUCCUCUGGGUGGCCAAGG
 UGGAGAAGGGAAAGAGCAAAAAGCUCAAAUCCGUCAAAGAGCUGCUGGGGAUUACCAUCAUGGA
 ACGAUCCUCGUUCGAGAAGAACCCGAUUGAUUUCUUCGAGGCGAAGGGUUACAAGGAGGUGAAG
 AAGGAUCUGAUCAUCAAAACUCCCCAAGUACUCACUGUUCGAACUGGAAAAUGGUCGGAAGCGCA
 UGCUGGCUUCGGCCGGAGAACUCCAAAAAGGAAAUGAGCUGGCCUUGCCUAGCAAGUACGUCAA
 CUUCCUCUAUCUUGCUUCGCACUACGAAAAACUCAAGGGUCACCGGAAGAUAAACGAACAGAAG
 CAGCUUUUCGUGGAGCAGCACAAGCAUUAUCUGGAUGAAAUCAUCGAACAAAUCUCCGAGUUUU
 CAAAGCGCGUGAUCCUCGCCGACGCCAACCUCGACAAAGUCCUGUCGGCCUACAAUAAGCAUAG
 AGAUAAAGCCGAUCAGAGAACAGGCCGAGAACAUAUCCACUUGUUCACCCUGACUAACCUGGGA
 GCCCCAGCCGCCUUCAAGUACUUCGAUACUACUAUCGAUCGCAAAAGAUACACGUCCACCAAGG
 AAGUUCUGGACGCGACCCUGAUCCACCAAAGCAUCACUGGACUCUACGAAACUAGGAUCGAUCU
 GUCGCAGCUGGGUGGCGAUGGCGGUGGAUCUCCGAAAAAGAAGAGAAAGGUGUAAUGAGCUAGC

CAUCACAUUUAAAAGCAUCUCAGCCUACCAUGAGAAUAAGAGAAAGAAAAUGAAGAUCAAUAGC
 UUAUJUCAUCUCUUUUUCUUUUUCGUUGGUGUAAAAGCCAACACCCUGUCUAAAAACAUAUUUU
 CUUUAAUCAAUUUGCCUCUUUUUCUGUGCUUCAUUUAAAAAUGGAAAGAACCCUCGAGAA
 AA
 AAUCUAG

[00275] мPHK Cas9 с 2xNLS и маркером HA (SEQ ID NO: 360):

GGGUCCCGCAGUCGGCGUCCAGCGGCUCUGCUUGUUCGUGUGUGUGUCGUUGCAGGCCU
 UAUUCGGAUCCAUGGAUAAGAAGUACUCAUUCGGGCUGGAUAUCGGAACUAAUUCGUGGGUUG
 GGCAGUGAUCACGGAUGAAUACAAAGUGCCGUCCAAGAAGUUAAGGUCCUGGGGAACACCGAU
 AGACACAGCAUCAAGAAAAUCUCAUCGGAGCCCUGCUGUUUGACUCCGGCGAAACCGCAGAAG
 CGACCCGGCUCAAACGUACCGCGAGGCGACGCUACACCCGGCGGAAGAAUCGCAUCUGCUAUCU
 GCAAGAGAUUUUUCGAACGAAUUGGCAAAGGUCGACGACAGCUUCUUCACCGCCUGGAAGAA
 UCUIUCCUGGUGGAGGAGGACAAGAAGCAUGAACGGCAUCCUAUCUUGGAAACAUCGUCGACG
 AAGUGGCGUACCACGAAAAGUACCCGACCAUCUACCAUCUGCGGAAGAAGUUGGUUGACUCAAC
 UGACAAGGCCGACCUCAGAUUGAUCUACUUGGCCUCGCCCAUAUGAUCAAAUUCGCGGACAC
 UUCUGAUCGAAGGCGAUCUGAACCCUGAUAAUCUCCGACGUGGAUAAGCUUUUCAUUAACUGG
 UGCAGACCUACAACCAACUGUUCGAAGAAAACCCAAUCAAUGCUAGCGGCGUCGAUGCCAAGGC
 CAUCCUGUCCGCCCGGCUGUCGAAGUCGCGGCGCCUCGAAAACCUGAUCGCACAGCUGCCGGGA
 GAGAAAAGAACGGACUUUUCGGCAACUUGAUCGCUCUCACUGGGACUCACUCCCAAUUUCA
 AGUCCAAUUUUGACCUGGCCGAGGACGCGAAGCUGCAACUCUCAAGGACACCUACGACGACGA
 CUUGGACAAUUUUGCUGGCACAAUUGGCGAUCAGUACGCGGAUCUGUUCUUGCCGCUAAGAAC
 CUUUCGGACGCAAUCUUGCUGUCCGAUAUCCUGCGCGUGAACACCGAAUAACCAAAGCGCCGC
 UUAGCGCCUCGAUGAUUAAGCGGUACGACGAGCAUACACAGGAUCUCACGCGUCUCAAAGCGCU
 CGUGAGACAGCAACUGCCUGAAAAGUACAAGGAGAUUCUUCUUGACCAGUCCAAGAAUGGGUAC
 GCAGGGUACAUCGAUGGAGGCGCUAGCCAGGAAGAGUUCUAUAAGUUAUCAAGCCAAUCCUGG
 AAAAGAUGGACGGAACCGAAGAACUGCUGGUCAAGCUGAACAGGGAGGAUCUGCUCCGGAAACA
 GAGAACC UUUGACAACGGAUCCAUUCCCCACCAGAUCCAUCUGGGUGAGCUGCACGCCAUUUG
 CGGCGCCAGGAGGACUUUUACCCAUCCUCAAGGACAACCGGGAAAAGAU CGAGAAA AUUCUGA
 CGUUC CGCAUCCCGUAUUACGUGGGGCCACUGGCGCGCGGCAAUUCGCGCUUCGCGUGGAUGAC
 UAGAAAUCAGAGGAAACCAUCACUCCUUGGAAUUCGAGGAAGUUGUGGAUAAGGGAGCUUCG
 GCACAAAGCUUCAUCGAACGAAUGACCAACUUCGACAAGAAUCUCCCAAACGAGAAGGUGCUUC
 CUAAGCACAGCCUCCUUUACGAAUACUUCACUGUCUACAACGAACUGACUAAAGUGAAAUACGU
 UACUGAAGGAAUGAGGAAGCCGGCCUUUCUGUCCGGAGAACAGAAGAAAGCAAUUGUCGAUCUG
 CUGUUCAAGACCAACCGCAAGGUGACCGUCAAGCAGCUUAAAGAGGACUACUUCAAGAAGAU CG
 AGUGUUUCGACUCAGUGGAAUACAGCGGGGUGGAGGACAGAUUCAACGCUUCGCGUGGGAACCUA
 UCAUGAUCUCCUGAAGAUCAUCAAGGACAAGGACUUCUUGACAACGAGGAGAACGAGGACAUC
 CUGGAAGAUUAUCGUCCUGACCUUGACCCUUUUCGAGGAUCGCGAGAUGAUCGAGGAGAGGCUUA
 AGACCUACGCUCAUCUCUUCGACGAUAAGGUCAUGAAACAACUCAAGCGCCGCCGGUACACUGG
 UUGGGGCGCCUCUCCCGCAAGCUGAUAACGGUAUUCGCGAUAACAGAGCGGUAAAACUAUC
 CUGGAUUUCCUCAAAUCGGAUGGCUUCGCUAAUCGUAACUUAUGCAAUUGAUCCACGACGACA

GCCUGACCUUUAAGGAGGACAUCCAAAAAGCACAAAGUGUCCGGACAGGGAGACUCACUCCAUGA
 ACACAUCGCGAAUCUGGCCGGUUCGCCGGCGAUUAAGAAGGGAAUUCUGCAAACUGUGAAGGUG
 GUCGACGAGCUGGUGAAGGUCAUGGGACGGCACAAACCGGAGAAUAUCGUGAUUGAAAUGGCCC
 GAGAAAACCAGACUACCCAGAAGGGCCAGAAAAACUCCCGCGAAAGGAUGAAGCGGAUCGAAGA
 AGGAAUCAAGGAGCUGGGCAGCCAGAUCCUGAAAGAGCACCCGGUGGAAAACACGCAGCUGCAG
 AACGAGAAGCUCUACCUGUACUAAUUGCAAAAUGGACGGGACAUGUACGUGGACCAAGAGCUGG
 ACAUCAAUUCGGUUGUCUGAUUACGACGUGGACCACAUCGUUCCACAGUCCUUUCUGAAGGAUGA
 CUCGAUCGAUAAACAAGGUGUUGACUCGCAGCGACAAGAACAGAGGGAAGUCAGAUAAUGUGCCA
 UCGGAGGAGGUCGUGAAGAAGAUGAAGAAUUCUGGCGGCAGCUCUGAAUGCGAAGCUGAUUA
 CCCAGAGAAAGUUUGACAAUCUCACUAAAGCCGAGCGCGGCGGACUCUCAGAGCUGGAUAAGGC
 UGGAUUCAUCAAACGGCAGCUGGUCGAGACUCGGCAGAUUACCAAGCACGUGGCGCAGAUUUUG
 GACUCCCGCAUGAACACUAAAUACGACGAGAACGAUAAGCUCAUCCGGGAAGUGAAGGUGAUUA
 CCCUGAAAAGCAAACUUGUGUCGGACUUUCGGAAGGACUUUCAGUUUUACAAAGUGAGAGAAAU
 CAACAACUACCAUCACGCGCAUGACGCAUACCUCAACGCUGUGGUCGGUACCGCCCUGAUCAAA
 AAGUACCCUAAACUUGAAUCGGAGUUUGUGUACGGAGACUACAAGGUCUACGACGUGAGGAAGA
 UGAUAGCCAAGUCCGAACAGGAAAUCGGGAAAGCAACUGCGAAAUAUCUUCUUUUACUCAAACAU
 CAUGAACUUUUUCAAGACUGAAAUUACGCUGGCCAAUGGAGAAAUCAGGAAGAGGCCACUGAUC
 GAAACUAACGGAGAAACGGGCGAAAUCGUGUGGGACAAGGGCAGGGACUUCGCAACUGUUCGCA
 AAGUGCUCUCUAUGCCGCAAGUCAAUUUGUGAAGAAAACCGAAGUGCAAACCGGCGGAUUUUC
 AAAGGAAUCGAUCCUCCCAAAGAGAAAUAGCGACAAGCUCAUUGCACGCAAGAAAGACUGGGAC
 CCGAAGAAGUACGGAGGAUUCGAUUCGCCGACUGUCGCAUACUCCGUCCUCGUGGUGGCCAAGG
 UGGAGAAGGGAAAGAGCAAAAAGCUCAAAUCCGUCAAAGAGCUGCUGGGGAUUACCAUCAUGGA
 ACGAUCCUCGUUCGAGAAGAACCCGAUUGAUUUCUUCGAGGCGAAGGGUUACAAGGAGGUGAAG
 AAGGAUCUGAUCAUCAAAACUCCCAAGUACUCACUGUUCGAACUGGAAAAUGGUCGGAAGCGCA
 UGCUGGCUUCGGCCGGAGAACUCCAAAAAGGAAAUGAGCUGGCCUUGCCUAGCAAGUACGUCAA
 CUUCCUCUAUCUUGCUUCGCACUACGAAAAACUCAAAGGGUCACCGGAAGAUAAACGAACAGAAG
 CAGCUUUUCGUGGAGCAGCACAAGCAUUAUCUGGAUGAAAUCAUCGAACAAAUCUCCGAGUUUU
 CAAAGCGCGUGAUCCUCGCCGACGCCAACCUUGACAAAGUCCUGUCGGCCUACAAUAAGCAUAG
 AGAUAAAGCCGAUCAGAGAACAGGCCGAGAACAUAUCCACUUGUUCACCCUGACUAACCUGGGA
 GCCCCAGCCGCCUUAAGUACUUCGAUACUACUAUCGAUCGCAAAGAUACACGUCCACCAAGG
 AAGUUCUGGACGCGACCCUGAUCCACCAAAGCAUCACUGGACUCUACGAAACUAGGAUCGAUCU
 GUCGCAGCUGGGUGGCGAUGGCUCGGCUUACCCAUACGACGUGCCUGACUACGCCUCGCUCGGA
 UCGGGCUCCCCCAAAAAGAAACGGAAGGUGGACGGAUCCCCGAAAAAGAGAAAGGUGGACU
 CCGGAUGAGAAUUAUGCAGUCUAGCCAUCACAUUUAAAAGCAUCUCAGCCUACCAUGAGAAUAA
 GAGAAAGAAAAUGAAGAUCAAUAGCUUAUUAUCUCUUUUUCUUUUUCGUUGGUGUAAAGCCAA
 CACCCUGUCUAAAAACAUAUUUUUCUUUAAUCAUUUUGCCUCUUUUUCUCUGUCUCAAUUAA
 UAAAAAUGGAAAGAACCUCGAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAA
 AAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAA

[00276] Первичные гепатоциты печени мыши (PMH) (Gibco) культивировали в соответствии с протоколом производителя (Invitrogen, протокол 11.28.2012). Вкратце, клетки размораживали и ресуспендировали в среде для размораживания гепатоцитов с добавками (Gibco, № по каталогу CM7000) с последующим центрифугированием при 100 g в течение 10 минут. Супернатант удаляли, а осажденные клетки ресуспендировали в среде для посева гепатоцитов с добавками (Invitrogen, № по каталогу A1217601 и CM3000). Клетки подсчитывали и высевали на 96-луночные планшеты, покрытые коллагеном I Bio-coat (ThermoFisher, № по каталогу 877272) из расчета плотности 15000 клеток/лунку и инкубировали в течение 5 часов при 37°C и в атмосфере 5% CO₂ для образования монослоя. Через 5 часов среду для посева удаляли и заменяли средой для культивирования гепатоцитов с добавками (Invitrogen, № по каталогу A1217601 и CM4000), содержащей мРНК Cas9 и направляющую РНК в составе с LNP и 3% сыворотки мыши. LNP разбавляли с исходного уровня дозы 100 нг мРНК Cas9 и приблизительно 30 нМ направляющей РНК на лунку, выполняя последовательные разведения до концентрации 0,1 нг мРНК и 0,03 нМ направляющей РНК на лунку. Клетки инкубировали в течение приблизительно 48 часов при 37°C и в атмосфере 5% CO₂, после чего выполняли лизис клеток и NGS-анализ, как описано в настоящем документе.

Состав липидных наночастиц («LNP»)

[00277] LNP составляли при молярном соотношении амина катионного липида и фосфата РНК (N:P) приблизительно 4,5. Компоненты липидных наночастиц растворяли в 100% этаноле при следующих молярных соотношениях: 45 моль-% (12,7 мМ) катионного липида (например, (9Z,12Z)-3-((4,4-бис(октилокси)бутаноил)окси)-2-(((3-(диэтиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)пропилгексадека-9,12-диеноата, также называемого 3-((4,4-бис(октилокси)бутаноил)окси)-2-(((3-(диэтиламино)пропокси)карбонил)окси)метил)пропил(9Z,12Z)-октадека-9,12-диеноатом); 44 моль-% (12,4 мМ) вспомогательного липида (например, холестерина); 9 моль-% (2,53 мМ) нейтрального липида (например, DSPC); и 2 моль-% (0,563 мМ) ПЭГ (например, ПЭГ2k-DMG). Нагрузку РНК получали в 25 мМ натрий-ацетатном буфере, pH 4,5, что приводило к получению концентрации нагрузки РНК приблизительно 0,45 мг/мл.

[00278] LNP образовывали путем микрожидкостного смешивания растворов липидов и РНК с использованием прибора Precision Nanosystems NanoAssemblr™ Benchtop Instrument согласно протоколу производителя. Во время смешивания поддерживали соотношение водного и органического растворителя 2:1 с помощью дифференциальной скорости потока.

[00279] Составление LNP, процедура А: После смешивания LNP собирали, разбавляли физиологическим раствором с фосфатным буфером (PBS, приблизительно 1:1), а оставшийся буфер обменивали на PBS (100-кратный избыток объема образца) в течение ночи при 4°C и аккуратном перемешивании с использованием кассеты для диализа 10 кДа Slide-a-Lyzer™ G2 (ThermoFisher Scientific). LNP концентрировали с использованием центрифужного фильтра 10 кДа Amicon (центрифугированием при 4000 g и 4°C) для получения желательной концентрации. Затем полученную смесь фильтровали с использованием 0.2 мкм стерильного фильтра. Полученный фильтрат хранили при 2–8 °C.

[00280] Составление LNP, процедура В: После смешивания LNP собирали, разбавляли 50 mM трис, pH 7,5 (приблизительно 1:1), а затем LNP обменивали в 50 mM трис, pH 7,5 (100-кратный избыток объема образца) в течение ночи при 4°C и аккуратном перемешивании с использованием кассеты для диализа 10 кДа Slide-a-Lyzer™ G2 (ThermoFisher Scientific). LNP концентрировали с использованием центрифужного фильтра 10 кДа Amicon (центрифугированием при 4000 g и 4°C) для получения двукратной желательной концентрации. Концентрированные LNP смешивали в соотношении 1:1 с 50 mM трис, 90 mM NaCl, 10% сахарозой при pH 7,5 (2X TSS). Затем полученную смесь фильтровали с использованием 0,2 мкм стерильного фильтра. Полученный фильтрат хранили при -80°C.

[00281] Составление LNP, процедура С: Нагрузку РНК получали в 25 mM цитрате натрия, 100 mM хлориде натрия при pH 5, что приводило к образованию нагрузки РНК в концентрации приблизительно 0,45 мг/мл. После перемешивания LNP собирали в воде в соотношении 3:1. LNPs инкубировали в течение часа при комнатной температуре и смешивали с водой в соотношении 1:1. Затем обменивали буфер на 1X TSS (50 mM трис, 45 mM NaCl, 5% сахароза при pH 7,5) на колонках PD-10 (GE Healthcare) с использованием протокола производителя. LNP концентрировали с использованием центрифужного фильтра 10 кДа Amicon

(центрифугированием при 4000 g и 4°C) для получения желательной концентрации. Затем полученную смесь фильтровали с использованием 0,2 мкм стерильного фильтра. Полученный фильтрат хранили при -80°C.

Секвенирование нового поколения («NGS») и анализ эффективности специфического гидролиза

[00282] Для количественного определения эффективности редактирования по положению-мишени в составе генома использовали углубленное секвенирование с целью выявления наличия инсерций и делеций, внедренных при редактировании гена.

[00283] Сконструировали праймеры для ПЦР вокруг сайта-мишени (например, TTR, FVII), и амплифицировали исследуемую область генома. Последовательности праймеров представлены ниже в таблице 5.

Таблица 5

Направляющая РНК	Ген	Прямой праймер (5'–3')	SEQ ID	Обратный праймер (5'–3')	SEQ ID
Для экспериментов с направляющими РНК на основе доменов адресного воздействия CR000686/G000209	TTR	AGTCAATAATCAGA ATCAGCAGGT	333	AGAAGGCACTTCTTC TTTATCTAAGGT	337
Для экспериментов с направляющими РНК на основе доменов адресного воздействия CR000705/G000211	TTR	GTTTTGTTCCAGAG TCTATCACCG	334	ACACGAATAAGAGCA AATGGGAAC	338
Для экспериментов с	TTR	ATTACCAGCTTAGC ATCCTGTGAA	335	ACACGGTTTATAGAG CAAGAACAC	339

направляющими РНК на основе доменов адресного воздействия G000269/G000285					
Для экспериментов с направляющими РНК на основе доменов адресного воздействия CR000657/G00020 8	FVII	AGCACATGAGACCT TCTGTTTCTC	336	GACATAGGTGTGACC СТCACAATC	340

Дополнительную ПЦР выполняли согласно протоколам производителя (Illumina) с добавлением необходимых реагентов для секвенирования. Ампликоны секвенировали на приборе Illumina MiSeq. Считанные фрагменты выравнивали с эталонным геномом человека (например, hg38) после удаления низкокачественных фрагментов. Полученные файлы, содержащие считанные фрагменты, картировали на эталонном геноме (BAM-файлы), где отбирали считанные фрагменты, перекрывавшие исследуемую область-мишень и рассчитывали количество считанных фрагментов дикого типа по сравнению с количеством считанных фрагментов, содержащих инсерцию, замещение или делецию.

[00284] Процентную долю редактирования (например, «эффективность редактирования» или «процент редактирования») определяли как общее количество считанных фрагментов последовательности с инсерциями или делециями по отношению к общему количеству считанных фрагментов последовательности, в том числе дикого типа.

Доставка LNP in vivo

[00285] Самок мышей CD-1 в возрастном диапазоне 6-10 недель использовали в каждом исследовании. Животных взвешивали и группировали в соответствии с массой тела для получения растворов для введения на основании средней массы тела в группе. LNP вводили в латеральную хвостовую вену в объеме 0,2 мл на

животное (приблизительно 10 мл на килограмм массы тела). За животными наблюдали на предмет нежелательных эффектов в течение приблизительно 6 часов после введения. Массу тела изменяли через 24 часа после введения, после чего животных умерщвляли в различные моменты времени путем обескровливания посредством пункции сердца под анестезией с применением изофлурана. Кровь собирали в пробирки для отделения сыворотки или в пробирки с забуференным цитратом натрия для получения плазмы, как описано в настоящем документе. Для исследований с вовлечением редактирования *in vivo* собирали ткань средней доли печени каждого животного для выделения и анализа ДНК.

Анализ индукции цитокинов

[00286] Для этого анализа выполняли отбор приблизительно 50–100 мкл крови путем надреза хвостовой вены для измерения цитокинов в сыворотке. Крови позволяли свернуться при комнатной температуре в течение приблизительно 2 часов, а затем выполняли центрифугирование при 1000 *g* в течение 10 минут, после чего собирали сыворотку. Многоканальный анализ с магнитными гранулами на основе Luminex (Affymetrix ProcartaPlus, номер по каталогу Exr040-00000-801), позволяющий измерять ИЛ-6, ФНО-альфа, ИФН-альфа и MCP-1, использовали для анализа цитокинов в собранных образцах. Реагенты и стандарты набора подготавливали в соответствии с протоколом производителя. 25 мкл сыворотки мыши добавляли в лунки, содержавшие 25 мкл разбавленных магнитных гранул с иммобилизованными антителами. Планшет инкубировали в течение 2 часов при комнатной температуре, а затем промывали. Разбавленное антитело с биотином (50 мкл) добавляли к гранулам и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 часа. Гранулы повторно промывали, а затем в каждую лунку добавляли 50 мкл разбавленного стрептавидина-PE с последующим инкубированием в течение 30 минут. Гранулы повторно однократно промывали, а затем суспендировали в 100 мкл буфера для промывки и считывали на приборе Bio-Plex 200 (Bio-Rad). Данные анализировали в аналитическом пакете Bioplex Manager версии 6.1, концентрации цитокинов рассчитывали по стандартной кривой с использованием аппроксимации кривой пятипараметрической логистической моделью.

Выделение геномной ДНК

[00287] Для исследований *in vivo* геномную ДНК выделяли из 10 мг ткани с использованием набора для выделения на основе гранул, MagMAX-96 DNA Multi-Sample Kit (ThermoFisher, № по

каталогу 4413020) в соответствии с протоколом производителя, включавшим гомогенизирование ткани в лизирующем буфере (приблизительно 400 мкл/10 мг ткани). Все образцы ДНК нормировали до концентрации 100 нг/мкл для ПЦР и последующего NGS-анализа, описанного в настоящем документе.

Анализ транстиретина (TTR) с помощью твердофазного ИФА

[00288] Отбор крови и выделение сыворотки выполняли в соответствии с указаниями. Уровень общего TTR в сыворотке определяли с использованием анализа преальбумина (транстиретина) мыши с помощью твердофазного ИФА (Aviva Systems Biology, № по каталогу OKIA00111). Реагенты и стандарты набора подготавливали в соответствии с протоколом производителя. Сыворотку мыши разбавляли 1х разбавителем для анализа до конечного 10000-кратного разведения. Разбавление выполняли путем выполнения двух последовательных 50-кратных разведений, что приводило к 2500-кратному разбавлению. Этап окончательного 4-кратного разбавления выполняли для получения общего 10000-кратного разведения образца. Как разведения для получения стандартной кривой (по 100 мкл), так и разбавленные образцы сыворотки добавляли в каждую лунку планшета для твердофазного ИФА с заранее иммобилизованным антителом для захвата. Планшет инкубировали при комнатной температуре в течение 30 минут, а затем промывали. Добавляли конъюгат фермент – антитело (100 мкл на лунку) и выполняли инкубирование в течение 20 минут. Несвязанный конъюгат антитела удаляли, планшет повторно промывали и добавляли раствор хромогенного субстрата. Планшет инкубировали в течение 10 минут, а затем добавляли 100 мкл стоп-раствора, например, серной кислоты (приблизительно 0,3 М). Планшет считывали на планшет-ридере SpectraMax M5, регистрируя поглощение при 450 нм. Уровень TTR в сыворотке рассчитывали с использованием программного обеспечения SoftMax Pro версии 6.4.2 с использованием четырехпараметрической логистической аппроксимации стандартной кривой. Окончательные значения в сыворотке рассчитывали с поправкой на разбавление при анализе.

Пример 2 – конструирование и тестирование модифицированной gРНК *in vitro*

[00289] Модифицированные gРНК проектировали в формате двойной направляющей РНК (dgРНК), как показано в таблице 4. Соответственно, проектировали и химически синтезировали как модифицированные crРНК, так и trРНК с целью сопряжения

модифицированных и немодифицированных компонентов с образованием dgРНК. Эти сопряженные пары трансфицировали в клетки Neuro2A в концентрациях, указанных на фигурах, и измеряли эффективность редактирования (например, процент редактирования) с помощью NGS, как описано в примере 1.

[00290] Некоторые модифицированные crРНК из таблицы 4, обеспечивающие адресное воздействие на ген TTR мыши, трансфицировали с мРНК Cas9 и немодифицированной trРНК (TR000002). Протестированные направляющие РНК включали SEQ ID No: 1– 18. Как показано на фигуре 1, некоторые из модифицированных crРНК (вместе с немодифицированными trРНК) обеспечивали аналогичную или усиленную активность по сравнению с немодифицированным контролем, в то время как другие модифицированные crРНК снижали активность.

[00291] Параллельно модифицированные trРНК из таблицы 4 трансфицировали с мРНК Cas9 наряду с немодифицированной crРНК (CR000686), обеспечивавшей адресное воздействие на ту же последовательность гена TTR мыши. Протестированные направляющие РНК включали SEQ ID No: 188–200 и 204. Как показано на фигуре 2, многие из модифицированных trРНК (вместе с немодифицированными crРНК) обеспечивали аналогичную или усиленную активность по сравнению с немодифицированным контролем, в то время как некоторые модифицированные trРНК снижали активность.

[00292] В дополнение к замещению химически модифицированных нуклеотидов, некоторые из протестированных сопряженных пар crРНК и trРНК также сконструировали с замещениями в последовательности, например, приводившими к образованию пар G–C, не встречающихся в исходных последовательностях. Протестированные направляющие РНК включали SEQ ID No: 15 и 201; 16 и 202; 1 и 188. Как показано на фигуре 3, одна из таких сопряженных пар (SEQ ID No: 16 и 202) приводила к аналогичной или усиленной активности по сравнению с немодифицированным контролем, в то время как две другие сопряженные пары снижали активность.

[00293] Затем протестировали сопряженные пары модифицированных crРНК и модифицированных trРНК из таблицы 4. Как показано на фигуре 4, многие из сопряженных пар модифицированной crРНК и модифицированной trРНК обеспечивали аналогичную или усиленную активность по сравнению с немодифицированным контролем, в то время как некоторые

сопряженные пары снижали активность. Заголовки столбцов на фигуре 4 обозначают различные trРНК, использованные в эксперименте, а заголовки строк – различные использованные crРНК. Для определения комбинации, использованной в эксперименте, необходимо сопоставить столбец и строку. TR000002 и CR000686 являются немодифицированными контролями (см. нижние правые ячейки).

[00294] На основании конструкции dgРНК сконструировали одиночные направляющие РНК (sgРНК), характеризующиеся аспектами некоторых модифицированных crРНК и trРНК, изображенных в таблице 4 и на фигуре 15D. Эти sgРНК, SEQ ID No: 228–234, также протестировали в клетках Neuro2A, и, как показано на фигуре 5, каждая из модифицированных sgРНК демонстрировала активность, сопоставимую с контролями, содержащими только 5'- и 3'-концевые модификации (G0000209; SEQ ID NO: 228).

[00295] Аналогичный набор экспериментов выполнили для дополнительных dgРНК, описанных в таблице 4 и на фигуре 6. Протестированные направляющие РНК включали SEQ ID No: 32–47 и 1. Модифицированные crРНК, также обеспечивающие адресное воздействие на ген TTR мыши, трансфицировали с мРНК Cas9 и немодифицированной trРНК (TR000002). Как показано на фигуре 6, некоторые из модифицированных crРНК (вместе с немодифицированной trРНК) обеспечивали аналогичную или усиленную активность по сравнению с немодифицированным контролем (CR000686), в то время как другие модифицированные crРНК снижали активность.

[00296] Параллельно, как показано на фигуре 7, модифицированные trРНК из таблицы 4 трансфицировали с мРНК Cas9 наряду с немодифицированной crРНК (CR000686), обеспечивавшей адресное воздействие на ту же последовательность гена TTR мыши. Протестированные направляющие РНК включали SEQ ID No: 205–222 и 1. Как показано на фигуре 7, многие из модифицированных trРНК (вместе с немодифицированной crРНК) обеспечивали аналогичную или усиленную активность по сравнению с немодифицированным контролем (TR000002), в то время как некоторые модифицированные trРНК снижали активность.

[00297] В дополнение к замещению химически модифицированных нуклеотидов, некоторые из протестированных сопряженных пар crРНК и trРНК из таблицы 4 также сконструировали с замещениями в последовательности, например, приводившими к образованию пар G–C или несовпадений G–U («прецессии GU»), не встречающихся в

исходных последовательностях. Как показано на фигуре 8, некоторые из модификаций и сопряженных пар обеспечивали аналогичную или усиленную активность по сравнению с немодифицированным контролем, в то время как некоторые (например, сопряженные пары с «прецессией GU» или несовпадениями) снижали активность. На фигуре 8 показаны результаты использования направляющих trPНК, показанных в SEQ ID No: 223-227 и 188 с направляющими crPНК, показанными в SEQ ID No: 48-52 и 1.

[00298] Затем протестировали выбранные сопряженные пары модифицированных crPНК и модифицированных trPНК из таблицы 4, как показано на фигуре 9. Некоторые из сопряженных пар модифицированной crPНК и модифицированной trPНК обеспечивали аналогичную или усиленную активность по сравнению с немодифицированным контролем, в то время как некоторые сопряженные пары снижали активность. Заголовки столбцов на фигуре 9 обозначают различные trPНК, использованные в эксперименте, а заголовки строк – различные использованные crPНК. Для определения комбинации, использованной в эксперименте, необходимо сопоставить столбец и строку. Немодифицированные контроли являются TR000002 и CR000686.

[00299] Некоторые из модифицированных gPНК (dgPНК и sgPНК) из таблицы 4 также тестировали в чисто биохимическом анализе (т.е. бесклеточном анализе гидролиза). Интересно, что многие из модифицированных gPНК, которые были в основном неактивны в клетках Neuro2A, являлись активными при биохимическом анализе, что указывало на то, что такие биохимические анализы могут не позволять прогнозировать активность модифицированных gPНК в клетках (данные не показаны).

Пример 3. Дальнейшее тестирование модифицированных gPНК по отношению к другим мишеням

[00300] На следующем этапе после установления влияния некоторых модификаций на активность gPНК протестировали возможность влияния таких модификаций на активность при адресном воздействии на (1) отдельную последовательность в том же гене или (2) последовательность в другом гене. Соответственно, сконструировали и синтезировали gPНК, обеспечивавшие адресное воздействие на другую последовательность в гене TTR мыши, а также последовательность в гене фактора VII (FVII) мыши, характеризовавшиеся некоторыми шаблонами модификации,

протестированными в примере 2 (см. таблицу 4). Эти gРНК трансфицировали в клетки Neuro2A в концентрациях, указанных на фигурах, и измеряли эффективность редактирования (например, процент редактирования) с помощью NGS, как описано в примере 1.

[00301] Модифицированные crРНК из таблицы 4, обеспечивающие адресное воздействие на ген TTR мыши (другую последовательность в отличие от адресного воздействия в примере 2) или ген FVII мыши, трансфицировали с мРНК Cas9 и немодифицированной trРНК (TR000002). Протестированные направляющие РНК включали последовательности, показанные на фигурах 12А и 12В. Некоторые из модифицированных crРНК (вместе с немодифицированной trРНК) обеспечивали аналогичную или усиленную активность по сравнению с немодифицированными контролями, в то время как другие модифицированные crРНК снижали активность.

[00302] Параллельно модифицированные trРНК из таблицы 4 трансфицировали с мРНК Cas9 наряду с немодифицированной crРНК, обеспечивавшей адресное воздействие на ген TTR мыши (CR000705; другую последовательность в отличие от адресного воздействия в примере 2) или ту же последовательность, что и в гене FVII мыши (CR000657). Как показано на фигурах 13А и 13В, многие из модифицированных trРНК (вместе с немодифицированными crРНК) обеспечивали аналогичную или усиленную активность по сравнению с немодифицированными контролями, в то время как некоторые модифицированные trРНК снижали активность. Эти данные показывают тенденцию к тому, что некоторые шаблоны модификации обладают аналогичным действием на различные последовательности.

[00303] На основании вышеописанной конструкции dgРНК сконструировали одиночные направляющие РНК (sgРНК), характеризующиеся аспектами некоторых модифицированных crРНК и trРНК. См. таблицу 4. Эти sgРНК также протестировали в клетках Neuro2A. Результаты показаны на фигуре 10 (TTR мыши) и фигуре 11 (FVII мыши). Эти эксперименты показали, что некоторые шаблоны модификации приводят к аналогичному действию даже при адресном воздействии на другие гены.

Пример 4. Тестирование модифицированной gРНК *in vivo*

[00304] После тестирования *in vitro* выполнили доставку модифицированных sgРНК в организмы животных в шести отдельных исследованиях с целью определения возможности получения благоприятного эффекта для редактирования *in vivo* за счет этих модификаций.

[00305] LNP составляли с IVT мРНК Cas9 совместно с химически модифицированной sgРНК (обеспечивавшей адресное воздействие на TTR или FVII), как описано в примере 1. Соотношение мРНК:sgРНК составляло приблизительно 1:1 по массе РНК-компонентов. Если не указано иное, мРНК Cas9, использованная в исследованиях, описанных в данном примере, обладала последовательностью согласно SEQ ID NO: 360, а LNP составляли с использованием процедуры А составления LNP, описанной выше.

[00306] В одном эксперименте мышам (n=5 на группу) однократно вводили LNP в дозе 2 мг/кг и выполняли отбор крови для анализа цитокинов в сыворотке через четыре часа после введения. Через 7 дней после введения во время аутопсии выполняли сбор печени и крови для измерений эффективности редактирования с помощью NGS и анализа TTR в сыворотке, соответственно. Каждая из sgРНК в данном эксперименте обеспечивала адресное воздействие на одну и ту же последовательность в гене TTR, единственным различием между sgРНК являлись модификации, внесенные в каждую из них (см. фигуры 14A-D и 15A-E; таблицу 4, SEQ ID No: 228-234). G000209 (две протестированные партии) использовали в качестве в меньшей степени модифицированного контроля, содержавшего лишь 2'-O-метил модификации и фосфоротиоатные связи в трех концевых положениях и между ними как в 5'-, так и в 3'-концевых областях sgРНК, соответственно. (См. фигуру 15D).

[00307] Результаты, приведенные на фигурах 14A-D, показали наличие тенденции к тому, что в большей степени модифицированные sgРНК индуцируют ответ каждого из проанализированных цитокинов в меньшей степени по сравнению с менее модифицированными контролями G000209. В большей степени модифицированные sgРНК также обеспечивали повышенную эффективность редактирования в печени обработанных животных, причем процент редактирования достигал ~60% для двух в большей степени модифицированных sgРНК (например, G000263 и G000267) по сравнению с ~44-47% для менее модифицированных контролей (партий G000209) (фигура 15A). Важно отметить, что эффективность редактирования коррелировала с фенотипическими изменениями, поскольку уровни нокдауна TTR в сыворотке были сопоставимы или значительно превышали таковые для менее модифицированных контролей (см., например, G000263 и G000267 по сравнению с партиями G000209 на фигурах 15A-15B). Сводные различия между G000209 с концевыми модификациями и

значительно модифицированной G000267 приведены на фигурах 15D и 15E (2'-O-Me модифицированные нуклеотиды показаны полужирным шрифтом, а * является фосфоротиоатной связью).

[00308] В еще одном исследовании *in vivo* протестировали три sgPHK, обеспечивавшие адресное воздействие на отдельные последовательности в гене TTR мыши. Мышам (n=5 на группу) однократно вводили LNP в дозе 2 мг/кг, 1 мг/кг или 0,3 мг/кг. Отбор крови для анализа цитокинов в сыворотке выполняли через четыре часа после введения. Через 7 дней после введения во время аутопсии выполняли сбор печени и крови для измерений эффективности редактирования с помощью NGS и анализа TTR в сыворотке, соответственно. В данном исследовании каждая из sgPHK обеспечивала адресное воздействие на одну и ту же последовательность в гене TTR (другую последовательность в отличие от адресного воздействия в предыдущем исследовании *in vivo*), причем одна sgPHK являлась полностью немодифицированной (G000201 (SEQ ID NO: 243)), еще одна содержала лишь концевые модификации (G000211 (SEQ ID NO: 241)), причем 2'-O-метил модификации и фосфоротиоатные связи располагались в трех концевых положениях и между ними как в 5'-, так и 3'-концевых областях sgPHK, соответственно), а третья sgPHK характеризовалась тем же шаблоном модификации, что и G000267 в предыдущем исследовании *in vivo* (G000282 (SEQ ID NO: 242)).

[00309] Как показано на фигурах 16A-16D, каждая из sgPHK приводила к аналогичным ответам каждого из протестированных цитокинов в зависимости от дозы. По отношению к эффективности редактирования немодифицированная sgPHK (G000201 (SEQ ID NO: 243)) обеспечивала незначительное редактирование *in vivo*, в то время как значительно модифицированная sgPHK (G000282 (SEQ ID NO: 242)) обеспечивала достижение ~60% уровня в дозе 2 мг/кг, что значительно превышало уровни, достигаемые с использованием в меньшей степени модифицированной sgPHK (G000211 (SEQ ID NO: 241)) (фигура 17A и B). Как и в предыдущем исследовании *in vivo*, уровень редактирования коррелировал с количественным нокдауном TTR в сыворотке (фигура 17C и D).

[00310] Затем выполнили исследование, аналогичное второму исследованию *in vivo* с использованием еще одного набора трех sgPHK, обеспечивавших адресное воздействие на другую последовательность TTR в гене TTR мыши (адресное воздействие на другую последовательность в отличие от адресного воздействия в

двух предыдущих исследованиях *in vivo*). Мышам (n=5 на группу) однократно вводили LNP в дозе 2 мг/кг, 1 мг/кг или 0,3 мг/кг. Отбор крови для анализа цитокинов в сыворотке выполняли через четыре часа после введения. Через 7 дней после введения во время аутопсии выполняли сбор печени и крови для измерений эффективности редактирования с помощью NGS и анализа TTR в сыворотке, соответственно. В данном исследовании каждая из sgPHK обеспечивала адресное воздействие на одну и ту же последовательность в гене TTR (другую последовательность в отличие от адресного воздействия в двух предыдущих исследованиях *in vivo*), причем одна sgPHK являлась полностью немодифицированной (G000285 ; (SEQ ID NO: 332)), еще одна содержала лишь концевые модификации (G000269 (SEQ ID NO: 330)), причем 2'-O-метил модификации и фосфоротиоатные связи располагались в трех концевых положениях и между ними как на 5'-, так и 3'-конце sgPHK, соответственно), а третья sgPHK характеризовалась тем же шаблоном модификации, что и G000267 и G000282 в двух предыдущих исследованиях *in vivo* (G000283 (SEQ ID NO: 331)).

[00311] В данном исследовании немодифицированная sgPHK (G000285 (SEQ ID NO: 332)) обеспечивала незначительное редактирование *in vivo*, в то время как значительно модифицированная sgPHK (G000283 (SEQ ID NO: 331)) обеспечивала достижение ~60% уровня в дозе 2 мг/кг, что значительно превышало уровни, достигаемые с использованием в меньшей степени модифицированной sgPHK (G000269 (SEQ ID NO: 330)) (фигуры 18A-18B). Как и в предыдущих исследованиях *in vivo*, уровень редактирования коррелировал с количественным нокдауном TTR в сыворотке (фигура 18C).

[00312] В четвертом исследовании *in vivo* выполнили оценку влияния модификаций gPHK для другого гена (FVII). Для сравнений в рамках исследования включили две из sgPHK, протестированные в первом исследовании *in vivo* (G000209 и G000267). Мышам (n=5 на группу) однократно вводили LNP в дозе 2 мг/кг, 1 мг/кг и 0,3 мг/кг и выполняли отбор крови для анализа цитокинов в сыворотке через четыре часа после введения. Через 6 дней после введения во время аутопсии выполняли сбор печени для измерений эффективности редактирования с помощью NGS. В данном исследовании каждая из sgPHK обеспечивала адресное воздействие на одну и ту же последовательность в генах TTR или FVII, причем одна sgPHK для

каждого гена содержала лишь концевые модификации (G000208 (SEQ ID NO: 286)) для FVII, G000209 для TTR, причем обе они содержали 2'-О-метил модификации и фосфоротиоатные связи в трех концевых положениях и между ними как на 5'-, так и на 3'-конце sgPНК, соответственно), а вторая sgPНК характеризовалась теми же шаблонами модификации, что и G000267, G000282 и G000283 в предыдущих исследованиях *in vivo* (G000373 (SEQ ID NO: 287) для FVII; G000267 (SEQ ID NO: 234) для TTR).

[00313] Как показано на фигурах 19A-19D, каждая из sgPНК приводила к аналогичным ответам каждого из протестированных цитокинов в зависимости от дозы. По отношению к эффективности редактирования в большей степени модифицированная sgPНК, обеспечивавшая адресное воздействие на FVII (G000373 (SEQ ID NO: 287)), обладала повышенной эффективностью редактирования по сравнению с менее модифицированной версией (G000208 (SEQ ID NO: 286)) во всем диапазоне протестированных доз (фигура 18A). Эти результаты также наблюдали для sgPНК, обеспечивавших адресное воздействие на TTR (фигуры 20A-20B).

[00314] В еще одном исследовании *in vivo* протестировали десять дополнительных sgPНК, обеспечивавшие адресное воздействие на ту же последовательность в гене TTR мыши, что и G000282. G000282 также включили в данное исследование для целей сравнения. Мышам (n=5 на группу) однократно вводили LNP в дозе 1 мг/кг или 0,5 мг/кг. LNP, использованные в данном исследовании, составляли с использованием процедуры В составления LNP, описанной выше. Через семь (7) дней после введения во время аутопсии выполняли сбор печени и крови для измерений эффективности редактирования с помощью NGS и анализа TTR в сыворотке, соответственно. В данном исследовании каждая из sgPНК обеспечивала адресное воздействие не одну и ту же последовательность в гене TTR. Шаблон модификации для каждой протестированной sgPНК различался и включал 2'-ОМе, 2'-F и PS модификации в 5'-концевой области, 3'-концевой области, шпильке 1, шпильке 2, связке, нижнем стебле, расширении и верхнем стебле sgPНК. Результаты данного исследования показаны на фигурах 22A-22C, включая % редактирования (фигура 22A), среднее значение и стандартное отклонение редактирования (фигура 22B) и уровень TTR в сыворотке (фигура 22C). Эти же sgPНК протестировали в первичных гепатоцитах мыши согласно способам, описанным в настоящем документе. Результаты данного исследования

редактирования TTR в зависимости от дозы показаны на фигурах 24А–24С, включая % редактирования (фигура 24А), кривые зависимости ответа от дозы (фигура 24В) и значения EC50 (фигура 24С).

[00315] В еще одном исследовании *in vivo* протестировали тринадцать sgРНК, обеспечивавших адресное воздействие на ту же последовательность в гене TTR мыши, что и G000282. G000282 также включили в данное исследование для целей сравнения. Мышам (n=5 на группу) однократно вводили LNP в дозе 1 мг/кг. LNP, использованные в данном исследовании, составляли с использованием процедуры C составления LNP, описанной выше. mРНК Cas9, использованная в данном исследовании, обладала последовательностью согласно SEQ ID NO: 359. Отбор крови для анализа цитокинов в сыворотке выполняли через четыре часа после введения. Через 7 дней после введения во время аутопсии выполняли сбор печени и крови для измерений эффективности редактирования с помощью NGS и анализа TTR в сыворотке, соответственно. В данном исследовании каждая из sgРНК обеспечивала адресное воздействие на одну и ту же последовательность в гене TTR. Протестированные sgРНК включали дополнительные 2'-ОМе и PS модификации в 5'-концевой области, 3'-концевой области, шпильке 1, шпильке 2 и верхнем стебле sgРНК. Результаты данного исследования показаны на фигурах 23А–23С, включая % редактирования (фигура 23А), средний % редактирования (фигура 23В) и уровень TTR в сыворотке (фигура 23С).

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> INTELLIA THERAPEUTICS, INC.

<120> МОДИФИЦИРОВАННЫЕ НАПРАВЛЯЮЩИЕ РНК

<130> 01155-0004-00PCT

<140>

<141>

<150> 62/431,756

<151> 2016-12-08

<160> 360

<170> Патентная версия 3.5

<210> 1

<211> 42

<212> РНК

<213> Искусственная Последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 1

ссагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иагсигуиу иг

42

<210> 2

<211> 42

<212> РНК

<213> Искусственная Последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 2

ссагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иагсигуиу иг

42

<210> 3

<211> 42

<212> РНК

<213> Искусственная Последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 3

ссагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иагсигуиу иг

42

<210> 4

<211> 42

<212> РНК

<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 4
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу ug 42

<210> 5
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 5
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу ug 42

<210> 6
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 6
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу ug 42

<210> 7
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 7
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу ug 42

<210> 8
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 8
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу ug 42

<210> 9
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 9
 ссагуиссагс гаггсааагг гуиуиагагс уаугсигуиу уг 42

 <210> 10
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 10
 ссагуиссагс гаггсааагг гуиуиагагс уаугсигуиу уг 42

 <210> 11
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 11
 ссагуиссагс гаггсааагг гуиуиагагс уаугсигуиу уг 42

 <210> 12
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 12
 ссагуиссагс гаггсааагг гуиуиагагс уаугсигуиу уг 42

 <210> 13
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 13
сгагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 14
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 14
сгагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 15
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 15
сгагиссагс гаггсааагг ггсгсагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 16
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 16
сгагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иаугсиггсг сг 42

<210> 17
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 17
сгагиссагс гаггсааагг ггсгсагагс иаугсиггсг сг 42

<210> 18
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 18
 ссагуиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

 <210> 19
 <211> 22
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 19
 гуиуиагагс иаугсигуиу иг 22

 <210> 20
 <211> 22
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 20
 гуиуиагагс иаугсигуиу иг 22

 <210> 21
 <211> 22
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 21
 гуиуиагагс иаугсигуиу иг 22

 <210> 22
 <211> 22
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический

олигонуклеотид"

<400> 22
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 23
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 23
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 24
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 24
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 25
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 25
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 26
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 26
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 27
<211> 22

<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 27
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 28
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 28
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 29
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 29
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 30
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 30
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 31
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 31
 гуиуиуагагс иаугсигуиу иг 22

<210> 32
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 32
 ссагиссагс гаггсааагг гуиуиуагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 33
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 33
 ссагиссагс гаггсааагг гуиуиуагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 34
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 34
 ссагиссагс гаггсааагг гуиуиуагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 35
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 35
 ссагиссагс гаггсааагг гуиуиуагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 36
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 36
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу ug 42

<210> 37
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 37
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу ug 42

<210> 38
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 38
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу ug 42

<210> 39
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 39
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу ug 42

<210> 40
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 40
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иаугсигуиу ug 42

<210> 41
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 41
 ссагуиссагс гаггсааагг гуиуиагагс уаугсигуиу иг 42

 <210> 42
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 42
 ссагуиссагс гаггсааагг гуиуиагагс уаугсигуиу иг 42

 <210> 43
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 43
 ссагуиссагс гаггсааагг гуиуиагагс уаугсигуиу иг 42

 <210> 44
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 44
 ссагуиссагс гаггсааагг гуиуиагагс уаугсигуиу иг 42

 <210> 45
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 45
сгагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иагсигуиу иг 42

<210> 46
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 46
сгагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иагсигуиу иг 42

<210> 47
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 47
сгагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иагсигуиу иг 42

<210> 48
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 48
сгагиссагс гаггсааагг гисисагагс иагсигуиу иг 42

<210> 49
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 49
сгагиссагс гаггсааагг гсиуиагагс иагсигуиу иг 42

<210> 50
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 50
ссагиссагс гаггсааагг гуиуагагс уаугсигуиу уг 42

<210> 51
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 51
ссагиссагс гаггсааагг гуиуагагс уаугсигуиу уг 42

<210> 52
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 52
ссагиссагс гаггсааагг гуиуагагс уаугсигуиу уг 42

<210> 53
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 53
гуиууагагс уаугсигуиу уг 22

<210> 54
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический

олигонуклеотид"

<400> 54
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 55
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 55
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 56
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 56
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 57
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 57
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 58
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 58
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 59
<211> 22

<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 59
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 60
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 60
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 61
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 61
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 62
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 62
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 63
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 63	
guuuuagagc uaugciguuu ug	22
<210> 64	
<211> 22	
<212> РНК	
<213> Искусственная Последовательность	
<220>	
<221> источник	
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"	
<400> 64	
guuuuagagc uaugciguuu ug	22
<210> 65	
<211> 22	
<212> РНК	
<213> Искусственная Последовательность	
<220>	
<221> источник	
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"	
<400> 65	
guuuuagagc uaugciguuu ug	22
<210> 66	
<211> 22	
<212> РНК	
<213> Искусственная Последовательность	
<220>	
<221> источник	
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"	
<400> 66	
guuuuagagc uaugciguuu ug	22
<210> 67	
<211> 22	
<212> РНК	
<213> Искусственная Последовательность	
<220>	
<221> источник	
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"	
<400> 67	
guuuuagagc uaugciguuu ug	22
<210> 68	
<211> 22	
<212> РНК	
<213> Искусственная Последовательность	

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 68
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 69
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 69
gucucagagc uaugciguuu ug 22

<210> 70
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 70
gcuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 71
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 71
gucuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 72
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 72
guucagagc uaugciguuu ug 22

<210> 73
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 73
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 74
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 74
uuagagssac gucuagagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 75
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 75
uuagagssac gucuagagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 76
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 76
uuagagssac gucuagagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 77
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 77
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 78
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 78
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 79
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 79
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 80
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 80
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 81
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 81
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 82
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 82
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 83
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 83
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 84
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 84
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 85
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 85
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 86
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический

олигонуклеотид"

<400> 86
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 87
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 87
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 88
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 88
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 89
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 89
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 90
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 90
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 91
<211> 42

<212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 91
 uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

 <210> 92
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 92
 uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

 <210> 93
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 93
 uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

 <210> 94
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 94
 uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugciguuu ug 42

 <210> 95
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 95
 uуасасссас гисуасасга гуиуиуагагс уаугсигуиу иг 42

<210> 96
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 96
 uуасасссас гисуасасга гуиуиуагагс уаугсигуиу иг 42

<210> 97
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 97
 uуасасссас гисуасасга гуиуиуагагс уаугсигуиу иг 42

<210> 98
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 98
 uуасасссас гисуасасга гуиуиуагагс уаугсигуиу иг 42

<210> 99
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 99
 uуасасссас гисуасасга гуиуиуагагс уаугсигуиу иг 42

<210> 100
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 100
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 101
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 101
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 102
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 102
uuacagssac gucuacagca ggcgcagagc uaugcuguuu ug 42

<210> 103
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 103
uuacagssac gucuacagca guuuuagagc uaugcuggcg cg 42

<210> 104
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 104
guuuuagagc uaugcuguuu ug 22

<210> 105
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 105
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 106
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 106
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 107
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 107
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 108
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 108
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 109
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 109
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 110
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 110
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 111
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 111
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 112
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 112
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 113
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 113
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 114
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 114
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 115
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 115
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 116
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 116
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 117
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 117
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 118
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический

олигонуклеотид"

<400> 118
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 119
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 119
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 120
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 120
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 121
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 121
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 122
<211> 16
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 122
gagcuagcu guuuug 16

<210> 123
<211> 16

<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 123
gagcuauugcu guuuuug 16

<210> 124
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 124
guuuuagagc uauugcuuuu ug 22

<210> 125
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 125
guuuuagagc uauugcuuuu ug 22

<210> 126
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 126
guuuuagagc uauugcuuuu ug 22

<210> 127
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 127 guuuuagagc uaugciguuu ug	22
<210> 128 <211> 22 <212> РНК <213> Искусственная Последовательность	
<220> <221> источник <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"	
<400> 128 guuuuagagc uaugciguuu ug	22
<210> 129 <211> 22 <212> РНК <213> Искусственная Последовательность	
<220> <221> источник <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"	
<400> 129 guuuuagagc uaugciguuu ug	22
<210> 130 <211> 22 <212> РНК <213> Искусственная Последовательность	
<220> <221> источник <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"	
<400> 130 guuuuagagc uaugciguuu ug	22
<210> 131 <211> 42 <212> РНК <213> Искусственная Последовательность	
<220> <221> источник <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"	
<400> 131 cagggcсuu gaагаuciss guuuuagagc uaugciguuu ug	42
<210> 132 <211> 42 <212> РНК <213> Искусственная Последовательность	

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 132
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 133
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 133
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 134
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 134
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 135
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 135
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 136
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 136
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 137
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 137
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 138
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 138
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 139
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 139
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 140
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 140
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 141
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 141
cagggcсисии гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 142
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 142
cagggcсисии гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 143
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 143
cagggcсисии гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 144
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 144
cagggcсисии гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 145
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 145
cagggcсисии гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 146
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 146
 саgggcсисuu гаагаусисс гуuuuагагс uаугсигuuu ug 42

 <210> 147
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 147
 саgggcсисuu гаагаусисс гуuuuагагс uаугсигuuu ug 42

 <210> 148
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 148
 саgggcсисuu гаагаусисс гуuuuагагс uаугсигuuu ug 42

 <210> 149
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 149
 саgggcсисuu гаагаусисс гуuuuагагс uаугсигuuu ug 42

 <210> 150
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический

олигонуклеотид"

<400> 150
cagggcсисии гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 151
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 151
cagggcсисии гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 152
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 152
cagggcсисии гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 153
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 153
cagggcсисии гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 154
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 154
cagggcсисии гаагаусисс гуиуиагагс иаугсигуиу иг 42

<210> 155
<211> 42

<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 155
caggggcisuu gaagauciss guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 156
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 156
caggggcisuu gaagauciss guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 157
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 157
caggggcisuu gaagauciss guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 158
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 158
caggggcisuu gaagauciss guuuuagagc uaugciguuu ug 42

<210> 159
<211> 42
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 159
 cagggcсисии гаагаусисс ggcgcagagc uаугсигиии ug 42

<210> 160
 <211> 42
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 160
 cagggcсисии гаагаусисс гиииагагс uаугсигggcг сг 42

<210> 161
 <211> 22
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 161
 гиииагагс uаугсигиии ug 22

<210> 162
 <211> 22
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 162
 гиииагагс uаугсигиии ug 22

<210> 163
 <211> 22
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 163
 гиииагагс uаугсигиии ug 22

<210> 164
 <211> 22
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 164
guuuuagagc uaugсигuuu ug 22

<210> 165
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 165
guuuuagagc uaugсигuuu ug 22

<210> 166
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 166
guuuuagagc uaugсигuuu ug 22

<210> 167
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 167
guuuuagagc uaugсигuuu ug 22

<210> 168
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 168
guuuuagagc uaugсигuuu ug 22

<210> 169
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 169
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 170
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 170
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 171
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 171
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 172
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 172
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 173
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>

<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 173
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 174
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 174
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 175
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 175
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 176
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 176
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 177
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 177
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 178
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 178
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 179
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 179
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 180
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 180
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 181
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 181
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 182
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический

олигонуклеотид"

<400> 182
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 183
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 183
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 184
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 184
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 185
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 185
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 186
<211> 22
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 186
guuuuagagc uaugciguuu ug 22

<210> 187
<211> 22

<212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 187
 guuuuagagc uaugcuguuu ug 22

 <210> 188
 <211> 74
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 188
 aacagcauag caaguuaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaaag uggcassgag 60
 ucggugcuuu uuuu 74

 <210> 189
 <211> 71
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 189
 aacagcauag caaguuaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaaag uggcassgag 60
 ucggugcuuu u 71

 <210> 190
 <211> 71
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 <400> 190
 aacagcauag caaguuaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaaag uggcassgag 60
 ucggugcuuu u 71

 <210> 191
 <211> 71
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 191

aacagcauaq caaguaaaa uaagqcuagu ccguaucaa cuugaaaaaag uggcaccgaq 60

ucggugcuuu u 71

<210> 192

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 $\langle 400 \rangle$ 192

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

<210> 193

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 193

aacagcauaq caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgaq 60

ucqququuu u 71

<210> 194

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 194

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

<210> 195

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 195

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuaqu ccguaucaa cuugaaaaag uggcaccgaq 60

ucggugcuuu u 71

<210> 196

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 196

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

<210> 197

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 197

aacagcauag caaguaaaa uaaqgcuaqu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

սոցիալական և 71

<210> 198

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 198

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

<210> 199

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

<22> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 199

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

$\langle 210 \rangle$ 200

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 $\langle 400 \rangle$ 200

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguaucaaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

$\langle 210 \rangle$ 201

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 201

aacagcauag caaguugcgc uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

$\langle 210 \rangle$ 202

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 202

gccagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

$\langle 210 \rangle$ 203

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 203
gссагсаиаг саагиигсгс иааггсиаги ссгиаиасаа сиугаааааг уггсассгаг 60
исггигсиии и 71

<210> 204
<211> 74
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 204
аасагсаиаг саагиаааа иааггсиаги ссгиаиасаа сиугаааааг уггсассгаг 60
исггигсиии ииии 74

<210> 205
<211> 71
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 205
аасагсаиаг саагиаааа иааггсиаги ссгиаиасаа сиугаааааг уггсассгаг 60
исггигсиии и 71

<210> 206
<211> 71
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 206
аасагсаиаг саагиаааа иааггсиаги ссгиаиасаа сиугаааааг уггсассгаг 60
исггигсиии и 71

<210> 207
<211> 71
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 207

aacagcauaq caaguuaaaa uaagqcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgaq 60

ucggugcuuu u 71

<210> 208

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 $\langle 400 \rangle$ 208

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucgugucuuu u 71

<210> 209

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 209

aacagcauaq caaguaaaa uaagqcuagu ccguuaucaa cuugaaaaaag uggcaccqag 60

սոցիալական և 71

 $\langle 210 \rangle$ 210

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 210

aacagcauag caaquaaaa uaaggcuaqu ccquuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

սօցիալական և 71

 $\langle 210 \rangle$ 211

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 211

aacagcauaq caaguuaaaa uaagqcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgaq 60

ucggugcuuu u 71

<210> 212

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 $\langle 400 \rangle$ 212

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

$\langle 210 \rangle$ 213

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 $\langle 400 \rangle$ 213

aacagcauaq caaguaaaa uaagqcuagu ccguuaucaa cuugaaaaaag uggcaccqag 60

սոցիալական և 71

 $\langle 210 \rangle$ 214

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

$\langle 400 \rangle$ 214

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

<210> 215

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 215

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

$\langle 210 \rangle$ 216

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 $\langle 400 \rangle$ 216

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguaucaaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

<210> 217

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> источник

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 217

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

<210> 218

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 218

aacagcauag caaguuaaaa uaaggcuagu ccguuaucac cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

<210> 219

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 219

aacagcauaq caaquaaaaa uaagqcuagu ccguaucaa cuugaaaaaaq uggcaccgaq 60

ucggugcuuu u 71

$\langle 210 \rangle$ 220

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 $\langle 400 \rangle$ 220

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

$\langle 210 \rangle$ 221

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

 $\langle 400 \rangle$ 221

aacagcauaq caaguaaaa uaagqcuagu ccguaucaa cuugaaaaag uggcaccgaq 60

ucqququuu u 71

 $\langle 210 \rangle$ 222

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

 $\langle 220 \rangle$

<221> ИСТОЧНИК

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

$\langle 400 \rangle$ 222

aacagcauag caaguaaaa uaaggcuagu ccguuaucaa cuugaaaaag uggcaccgag 60

ucggugcuuu u 71

$\langle 210 \rangle$ 223

<211> 71

<212> PHK

<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 223
аасагсаааг саагуаага аааггсаагу ссгуааусаа суугаааааг уггсассгаг 60
усггуагсууи и 71

<210> 224
<211> 71
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 224
аасагсаааг саагуааааг аааггсаагу ссгуааусаа суугаааааг уггсассгаг 60
усггуагсууи и 71

<210> 225
<211> 71
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 225
аасагсаааг саагуааааг аааггсаагу ссгуааусаа суугаааааг уггсассгаг 60
усггуагсууи и 71

<210> 226
<211> 71
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 226
аасагсаааг саагуааааг аааггсаагу ссгуааусаа суугаааааг уггсассгаг 60
усггуагсууи и 71

<210> 227
<211> 71
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 227
аасагсаааг саагуигааа иааггсиагу ссгуиасаа сиугаааааг уггсассгаг 60
исггугсиии и 71

<210> 228
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 228
ссагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсиагис 60
сгуиасаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиии 100

<210> 229
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 229
ссагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсиагис 60
сгуиасаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиии 100

<210> 230
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 230
ссагиссагс гаггсааагг гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсиагис 60
сгуиасаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиии 100

<210> 231
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 231
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иагааиагс аагуиаааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу гgcaccгaгу cгguгсииии 100

<210> 232
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 232
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иагааиагс аагуиаааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу гgcaccгaгу cгguгсииии 100

<210> 233
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 233
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иагааиагс аагуиаааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу гgcaccгaгу cгguгсииии 100

<210> 234
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 234
ссадиссагс gaggсааагг гуиуиагагс иагааиагс аагуиаааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу гgcaccгaгу cгguгсииии 100

<210> 235
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 235
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 236
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 236
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 237
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 237
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 238
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 238
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 239
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 239
гуиуиуагагс иагаааиагс аагуиааааи ааггсиагис сгуиуаусаас иугааааагу 60
ггсасссгагу сггугсииии 80

<210> 240
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 240
гуиуиуагагс иагаааиагс аагуиааааи ааггсиагис сгуиуаусаас иугааааагу 60
ггсасссгагу сггугсииии 80

<210> 241
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 241
иуасагссас гусиасагса гуиуиуагагс иагаааиагс аагуиааааи ааггсиагис 60
сгуиуаусаас иугааааагу ггсасссгагу сггугсииии 100

<210> 242
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 242
иуасагссас гусиасагса гуиуиуагагс иагаааиагс аагуиааааи ааггсиагис 60
сгуиуаусаас иугааааагу ггсасссгагу сггугсииии 100

<210> 243
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 243
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 244
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 244
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 245
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 245
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 246
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 246
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 247
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 247
уаасагссас гисуасагса гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 248
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 248
уаасагссас гисуасагса гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 249
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 249
уаасагссас гисуасагса гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 250
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 250
уаасагссас гисуасагса гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 251
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 251
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсуагс 60
сгуиуаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 252
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 252
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсуагс 60
сгуиуаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 253
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 253
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсуагс 60
сгуиуаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 254
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 254
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсуагс 60
сгуиуаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 255
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 255
уаасагссас гисуасагса гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 256
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 256
уаасагссас гисуасагса гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 257
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 257
уаасагссас гисуасагса гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 258
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 258
уаасагссас гисуасагса гуиуиагагс иагааиагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 259
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 259
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 260
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 260
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 261
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 261
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 262
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 262
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 263
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 263
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиуаусаас иугааааагу ггсасссгау сггугсиуиу 100

<210> 264
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 264
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиуаусаас иугааааагу ггсасссгау сггугсиуиу 100

<210> 265
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 265
гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс сгуиуаусаас иугааааагу 60
ггсасссгау сггугсиуиу 80

<210> 266
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 266
гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс сгуиуаусаас иугааааагу 60
ггсасссгау сггугсиуиу 80

<210> 267
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 267
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 268
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 268
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 269
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 269
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 270
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 270
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 271
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 271
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 272
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 272
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 273
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 273
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 274
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 274
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 275
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 275
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaаааи aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcaccsgаgu cggugcuuuu 80

<210> 276
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 276
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaаааи aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcaccsgаgu cggugcuuuu 80

<210> 277
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 277
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaаааи aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcaccsgаgu cggugcuuuu 80

<210> 278
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 278
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaаааи aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcaccsgаgu cggugcuuuu 80

<210> 279
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 279
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 280
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 280
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 281
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 281
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 282
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 282
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 283
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 283
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 284
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 284
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 285
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 285
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 286
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 286
cagggcucuу gaаgаucucc guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60
cguuaucaac uugaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 287
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 287
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуиу 100

<210> 288
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 288
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуиу 100

<210> 289
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 289
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуиу 100

<210> 290
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 290
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуиу 100

<210> 291
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 291
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиусаас иугааааагу гgcaccгaгу cгguгсисуи 100

<210> 292
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 292
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиусаас иугааааагу гgcaccгaгу cгguгсисуи 100

<210> 293
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 293
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиусаас иугааааагу гgcaccгaгу cгguгсисуи 100

<210> 294
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 294
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааггсиагс 60
сгуиусаас иугааааагу гgcaccгaгу cгguгсисуи 100

<210> 295
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 295
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуи 100

<210> 296
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 296
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуи 100

<210> 297
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 297
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуи 100

<210> 298
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 298
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуи 100

<210> 299
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 299
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуиу 100

<210> 300
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 300
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуиу 100

<210> 301
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 301
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуиу 100

<210> 302
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 302
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуиу 100

<210> 303
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 303
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу сggugсиуиу 100

<210> 304
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 304
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу сggugсиуиу 100

<210> 305
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 305
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу сggugсиуиу 100

<210> 306
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 306
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи ааggсuаgис 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу сggugсиуиу 100

<210> 307
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 307
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиагс аагуиаааи ааggсiагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуи 100

<210> 308
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 308
cagggcсисуи гаагаусисс гуиуиагагс иагааиагс аагуиаааи ааggсiагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ggcaccсaгу cggugсиуи 100

<210> 309
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 309
гуиуиагагс иагааиагс аагуиаааи ааggсiагс сгуиаусаас иугааааагу 60
ggcaccсaгу cggugсиуи 80

<210> 310
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 310
гуиуиагагс иагааиагс аагуиаааи ааggсiагс сгуиаусаас иугааааагу 60
ggcaccсaгу cggugсиуи 80

<210> 311
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 311
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 312
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 312
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 313
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 313
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 314
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 314
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcacccgagu cggugcuuuu 80

<210> 315
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 315
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 316
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 316
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 317
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 317
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 318
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 318
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaau aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 319
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 319
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcacccgаgu cggugcuuuu 80

<210> 320
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 320
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcacccgаgu cggugcuuuu 80

<210> 321
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 321
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcacccgаgu cggugcuuuu 80

<210> 322
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 322
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcacccgаgu cggugcuuuu 80

<210> 323
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 323
uuuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaaau aaggcuaguc sguuausaac uuuaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 324
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 324
uuuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaaau aaggcuaguc sguuausaac uuuaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 325
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 325
uuuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaaau aaggcuaguc sguuausaac uuuaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 326
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 326
uuuuuagagc uagaaauagc aaguuaaaaau aaggcuaguc sguuausaac uuuaaaaagu 60
ggcaccgagu cggugcuuuu 80

<210> 327
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 327
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcaccgаgu cggugcuuuu 80

<210> 328
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 328
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcaccgаgu cggugcuuuu 80

<210> 329
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический олигонуклеотид"

<400> 329
guuuuagagc uagaaaуagc aaguuaaaaу aaggcuaguc cguuaucaac uugaaaaаgu 60
ggcaccgаgu cggugcuuuu 80

<210> 330
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 330
сссауасисс uаsаgсасса guuuuаgаgс uаgаааuаgс ааguuааааu ааggсuаguc 60
сguuаucaас uugаааааgu ggcaccgаgu cggugcuuuu 100

<210> 331
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 331
сссаиасисс иасассасса гуиуиагагс иагааиагс аагуиаааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсасссгау сггуигсиуи 100

<210> 332
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 332
сссаиасисс иасассасса гуиуиагагс иагааиагс аагуиаааи ааггсуагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсасссгау сггуигсиуи 100

<210> 333
<211> 24
<212> DNA
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический праймер"

<400> 333
agtcaataat cagaatcagc aggt 24

<210> 334
<211> 24
<212> DNA
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический праймер"

<400> 334
gttttgttcc agagtctatc accg 24

<210> 335
<211> 24
<212> DNA
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический

праймер"

<400> 335
attaccagct tagcatcctg tgaa 24

<210> 336
<211> 24
<212> DNA
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический
праймер"

<400> 336
agcacatgag accttctggt tctc 24

<210> 337
<211> 27
<212> DNA
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический
праймер"

<400> 337
agaaggcact tcttctttat ctaaggt 27

<210> 338
<211> 24
<212> DNA
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический
праймер"

<400> 338
acacgaataa gagcaaatgg gaac 24

<210> 339
<211> 24
<212> DNA
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический
праймер"

<400> 339
acacggttta tagagcaaga acac 24

<210> 340
<211> 24

<212> DNA
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический праймер"

<400> 340
gacatagggtg tgaccctcac aatc 24

<210> 341
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 341
сгагуссгас gaggсааagg гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи аaggсуагс 60
сгуиаусаас иидааааагу ggcaccгаи сggигсиии 100

<210> 342
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 342
иуасгссас гисуасгсa гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи аaggсуагс 60
сгуиаусаас иидааааагу ggcaccгаи сggигсиии 100

<210> 343
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 343
иуасгссас гисуасгсa гуиуиагагс иагааиуагс аагуиаааи аaggсуагс 60
сгуиаусаас иидааааагу ggcaccгаи сggигсиии 100

<210> 344
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 344
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиуаусаас иугаааааагу ггсасссгагу сгдигсиуиу 100

<210> 345
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 345
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиуаусаас иугаааааагу ггсасссгагу сгдигсиуиу 100

<210> 346
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 346
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиуаусаас иугаааааагу ггсасссгагу сгдигсиуиу 100

<210> 347
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 347
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсуагс 60
сгуиуаусаас иугаааааагу ггсасссгагу сгдигсиуиу 100

<210> 348
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 348
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 349
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 349
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 350
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 350
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 351
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 351
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггигсиуиу 100

<210> 352
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 352
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 353
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 353
уиасагссас гисиасагса гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 354
<211> 100
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<220>
<221> разное
<222> (1) .. (20)
<223> n является a, c, g, или u

<400> 354
nnnnnnnnnnnn nnnnnnnnnnnn гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсиагс 60
сгуиаусаас иугааааагу ггсассгагу сггугсиуиу 100

<210> 355
<211> 80
<212> РНК
<213> Искусственная Последовательность

<220>
<221> источник
<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Синтетический полинуклеотид"

<400> 355
гуиуиагагс иагааиуагс аагуиааааи ааггсиагс сгуиаусаас иугааааагу 60
ггсассгагу сггугсиуиу 80

<223> N = любой нуклеотид

<220>

<221> разное

<222> (2) .. (3)

<223> Фосфотиоатная связь

<220>

<221> разное

<222> (3) .. (4)

<223> Фосфотиоатная связь

<220>

<221> разное

<222> (5) .. (20)

<223> n является a, c, g, или u

<220>

<221> модифицированное_основание

<222> (29) .. (40)

<223> Модифицированные нуклеотиды 2'-O-Me

<220>

<221> модифицированное_основание

<222> (69) .. (100)

<223> Модифицированные нуклеотиды 2'-O-Me

<220>

<221> разное

<222> (97) .. (98)

<223> Фосфотиоатная связь

<220>

<221> разное

<222> (98) .. (99)

<223> Фосфотиоатная связь

<220>

<221> разное

<222> (99) .. (100)

<223> Фосфотиоатная связь

<400> 358

nnnnnnnnnnn nnnnnnnnnn guuuuagagc uagaaaagc aaguuaaaau aaggcuaguc 60

sguuausaac uuuaaaaagu ggcaccgagu cggugcuuuu 100

<210> 359

<211> 4514

<212> РНК

<213> Искусственная Последовательность

<220>

<221> источник

<223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Транскрипция мРНК"

<400> 359

gggucccgca gucggcguc agcggcucug cuuguucgug ugugugucgu ugcaggccuu 60

auucggauc auggauaaga aguacusaau cgggucggau aucggaacua auucsguggg 120

uugggcagug aucasggaug aaucasaagu gccguccaag aaguucaagg ucsggggga 180

caccgauaga	cacagcauca	agaaaaaucu	caucggagcc	cugcuguuug	acuccggcga	240
aaccgcagaa	gcgacccggc	ucaaacguac	cgcgaggcga	cgcuacaccc	ggcggaagaa	300
ucgcaucugc	uauugcaag	agaucuuuuc	gaacgaaug	gcaaaggucg	acgacagcuu	360
cuuccaccgc	cuggaagaau	cuuuccuggu	ggaggaggac	aagaagcaug	aacggcaucc	420
uauuuugga	aauaucgucg	acgaaguggc	guaccacgaa	aaguacccga	ccaucuacca	480
ucugcggaag	aaguugguug	acucaacuga	caaggccgac	cucagauuga	ucuacuuggc	540
ccucgcccac	augaucaau	uccgcggaca	cuuccugauc	gaaggcgau	ugaaccucga	600
uaacuccgac	guggauaagc	uuuucuuca	acuggugcag	accuacaacc	aacuguuuca	660
agaaaaccca	aucaaugcua	gcggcgucga	ugccaaggcc	auccuguccg	cccggcgucg	720
gaagucgagg	cgccucgaaa	accugaucgc	acagcugccg	ggagagaaaa	agaacggacu	780
uuucggcaac	uugaucgcuc	ucucacuggg	acucacucgc	aaauucaagu	ccaauuuuga	840
ccuggccgag	gacgcgaagc	ugcaacucuc	aaaggacacc	uacgacgacg	acuuggacaa	900
uuugcuggca	caauuuggcg	aucaguacgc	ggaucuguuc	cuugccgcua	agaaccuuuc	960
ggacgcaauc	uugcuguccg	auauccugcg	cgugaacacc	gaaauaacca	aagcgccgcu	1020
uagcgccucg	augauuaagc	gguacgacga	gcaucaccag	gaucucacgc	ugcucaaagc	1080
gcucgugaga	cagcaacugc	cugaaaagua	caaggagauc	uucuucgacc	aguccaagaa	1140
uggguacgca	ggguacaucg	auggaggcgc	uagccaggaa	gaguucuaua	aguucaucaa	1200
gccauuccug	gaaaagaugg	acggaaccga	agaacugcug	gucaagcuga	acagggagga	1260
ucugcuccgg	aaacagagaa	ccuuugacaa	cggauccauu	ccccaccaga	uccaucuggg	1320
ugagcugcac	gccaucuugc	ggcgccagga	ggacuuuuac	ccaauccuca	aggacaaccg	1380
ggaaaagauc	gagaaaauuc	ugacguuccg	caucccgauu	uacguggggc	cacuggcgcg	1440
cggcaauucg	cgcuucgcu	ggaugacuag	aaaauacagag	gaaaccauca	cuccuuggaa	1500
uuucgaggaa	guuguggaua	agggagcuuc	ggcaciaaagc	uucaucgaac	gaaugaccaa	1560
cuucgacaag	aaucucccaa	acgagaaggu	gcuuccuaag	cacagccucc	uuuacgaaua	1620
cuucacuguc	uacaacgaac	ugacuaaagu	gaaauacguu	acugaaggaa	ugaggaagcc	1680
ggccuuucug	uccggagaac	agaagaaagc	aaauugcgau	cugcuguuca	agaccaaccg	1740
caaggugacc	gucaagcagc	uuaaagagga	cuacuuaag	aagaucgagu	guuucgacuc	1800
aguggaaauc	agcggggugg	aggacagauu	caacgcuucg	cugggaaccu	aucaugaucu	1860
ccugaagauc	aucaaggaca	aggacuuccu	ugacaacgag	gagaacgagg	acauccugga	1920
agauaucguc	cugaccuuga	cccuuuucga	ggaucgcgag	augaucgagg	agaggcuuaa	1980
gaccuacgcu	caucucuucg	acgaauaggu	caugaaacaa	cucaagcgcc	gccgguacac	2040
ugguuggggc	cgccucucgc	gcaagcugau	caacgguaau	cgcgauaaac	agagcgguua	2100

aacuauccug	gauuuccuca	aaucggaugg	cuucgcuaau	cguaacuuca	ugcaauugau	2160
ccacgacgac	agccugaccu	uuaaggagga	cauccaaaaa	gcacaagugu	ccggacaggg	2220
agacucacuc	caugaacaca	ucgcgaauuc	ggccgguucg	ccggcgauua	agaagggau	2280
ucugcaaacu	gugaaggugg	ucgacgagcu	ggugaagguc	augggacggc	acaaaccgga	2340
gaauaucgug	auugaaaugg	cccgagaaaa	ccagacuacc	cagaagggcc	agaaaaacuc	2400
ccgcgaaagg	augaagcgga	ucgaagaagg	aaucaaggag	cugggcagcc	agauccugaa	2460
agagcacccg	guggaaaaca	cgacgagcu	gaacgagaag	cucuaccugu	acuaauugca	2520
aaauggacgg	gacauguacg	uggaccaaga	gcuggacauc	aaucgguugu	cugauuacga	2580
cguggaccac	aucguuccac	aguccuuucu	gaaggauac	ucgaucgaua	acaagguguu	2640
gacucgcagc	gacaagaaca	gagggaaguc	agauaaugug	ccaucggagg	aggucgugaa	2700
gaagaugaag	aauuacuggc	ggcagcuccu	gaaugcgaag	cugauuaccc	agagaaaguu	2760
ugacaaucuc	acuaaagccg	agcgcggcgg	acucucagag	cuggauaagg	cuggauucau	2820
caaacggcag	cuggucgaga	cucggcagau	uaccaagcac	guggcgagca	ucuuggacuc	2880
ccgcaugaac	acuaaaauacg	acgagaacga	uaagcucauc	cgggaaguga	aggugauuac	2940
ccugaaaagc	aaacuugugu	cggacuucg	gaaggacuuu	caguuuuaca	aagugagaga	3000
aaucaacaac	uaccaucacg	cgcaugacgc	auaccucaac	gcuguggucg	guaccgccc	3060
gaucaaaaag	uaccuuaaac	uugaaucgga	guuuguguac	ggagacuaca	aggucuacga	3120
cgugaggaag	augauagcca	aguccgaaca	ggaaaucggg	aaagcaacug	cgaaauacuu	3180
cuuuuacuca	aacauauga	acuuuuucaa	gacugaaauu	acgcuggcca	auggagaaau	3240
caggaagagg	ccacugaucg	aaacuaacgg	agaaacgggc	gaaaucgugu	gggacaaggg	3300
cagggacuuc	gcaacuguuc	gcaaagugcu	cucuaugccg	caagucaaua	uugugaagaa	3360
aaccgaagug	caaaccggcg	gauuuucaaa	ggaaucgauc	cucccaaaga	gaaauagcga	3420
caagcucauu	gcacgcaaga	aagacuggga	cccgaagaag	uacggaggau	ucgauucgcc	3480
gacugucgca	uacuccgucc	ucgugguggc	caagguggag	aagggaaaga	gcaaaaagcu	3540
caaauccguc	aaagagcugc	uggggauuac	caucauggaa	cgauccucgu	ucgagaagaa	3600
cccgauugau	uuccucgagg	cgaaggguaa	caaggaggug	aagaaggau	ugaucaucaa	3660
acuccccaag	uacucacugu	ucgaacugga	aaauggucgg	aagcgcaugc	uggcuucggc	3720
cggagaacuc	caaaaaggaa	augagcuggc	cuugccuagc	aaguacguca	acuuccucua	3780
ucuugcuucg	cacuacgaaa	aacucaaagg	gucaccggaa	gauaacgaac	agaagcagcu	3840
uuucguggag	cagcacaagc	auuaucugga	ugaaaauauc	gaacaaauuc	ccgaguuuuc	3900
aaagcgcgug	auccucgccg	acgccaaccu	cgacaaaguc	cugucggccu	acaauaagca	3960
uagagauaag	ccgaucagag	aacaggccga	gaacauuau	cacuuguuca	cccugacuaa	4020

ccugggagcc ccagccgccu ucaaguacuu cgaucacuac aucgaucgca aaagauacac	4080
guccaccaag gaaguucugg acgcgacccu gauccaccaaa agcaucacug gacucuaacga	4140
aacuaggauc gaucugucgc agcuggggugg cgauggcggu ggaucuccga aaaagaagag	4200
aaagguguaa ugagcuagcc auctacuuua aaagcaucuc agccuaccuu gagaauaaga	4260
gaaagaaaau gaagaucaau agcuuauuca ucucuuuuuc uuuuucguug guguaaagcc	4320
aacaccsugu cuaaaaaaca uaaauuuucuu uaaucuuuuu gccucuuuuu ucugugcuuc	4380
aauuauuaaa aaauaggaaag aaccucgaga aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	4440
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	4500
aaaaaaaaau cuag	4514

<210> 360
 <211> 4603
 <212> РНК
 <213> Искусственная Последовательность

 <220>
 <221> источник
 <223> /примечание="Описание Искусственной Последовательности: Транскрипция мРНК"

<400> 360	
gggucccgca gucggcgucc agcggcucug cuuguucgug ugugugucgu ugcaggccuu	60
auucggaucc auggaauaaga aguacucaau cgggucggau aucggaacua auuccguggg	120
uugggcagug aucacggaug aaucacaaagu gccgucsaag aaguucaagg uccuggggaa	180
caccgauaga cacagcauca agaaaaucuu caucggagcc cugcuguuug acuccggcgca	240
aaccgcagaa gcgaccggc ucaaacguac cgcgaggcgca cgcuaacccc ggcggaagaa	300
ucgcaucugc uaucugsaag agaucuuuuc gaacgaaug gcaaaggucg acgacagcuu	360
cuuccaccgc cuggaagaau cuuuccuggu ggaggaggac aagaagcaug aacggcaucc	420
uauuuugga aacaucgucg acgaaguggc guaccacgaa aaguaccgca ccaucuaacca	480
ucugcggaag aaguugguug acucaacuga caaggccgac cucagauuga ucuacuuggc	540
ccucgcccua augaucaau uccgcggaca cuuccugauc gaaggcgau ugaaccsuga	600
uaacuccgac guggauaagc uuuucauua acuggugcag accuacaacc aacuguuca	660
agaaaacca aucaaugcua gcggcgucga ugccaaggcc auccuguccg cccggcuguc	720
gaagucgagg cgccucgaaa accugaucgc acagcugccg ggagagaaaa agaacggacu	780
uuucggcaac uugaucgcuc ucucacuggg acucacuccc aauuucaagu ccauuuuuga	840
ccuggccgag gacgcgaagc ugcaacucuc aaaggacacc uacgacgacg acuuggacaa	900
uuugcuggca caauuuggcg aucaguacgc ggaucuguuc cuugccgcu agaaccuuuc	960
ggacgcaauc uugcuguccg auauccugcg cgugaacacc gaaauaacca aagcgccgcu	1020

uagcgccucg	augauuaagc	gguacgacga	gcaucaccag	gaucucacgc	ugcucaaagc	1080
gcucgugaga	cagcaacugc	cugaaaagua	caaggagauc	uucuucgacc	aguccaagaa	1140
uggguacgca	ggguacaucg	auggaggcgc	uagccaggaa	gaguucuaua	aguucaucaa	1200
gccaauccug	gaaaagaugg	acggaaccga	agaacugcug	gucaagcuga	acagggagga	1260
ucugcuccgg	aaacagagaa	ccuuugacaa	cggauccauu	ccccaccaga	uccaucuggg	1320
ugagcugcac	gccaucuugc	ggcgccagga	ggacuuiuac	ccauuccuca	aggacaaccg	1380
ggaaaagauc	gagaaaauuc	ugacguuccg	caucccgauu	uacguggggc	cacuggcgcg	1440
cggcaauucg	cgcuucgcgu	ggaugacuag	aaaaucagag	gaaaccauca	cuccuuggaa	1500
uuucgaggaa	guuguggaua	agggagcuuc	ggcacaaagc	uucaucgaac	gaaugaccaa	1560
cuucgacaag	aaucucccaa	acgagaaggu	gcuuccuaag	cacagccucc	uuuacgaaua	1620
cuucacuguc	uacaacgaac	ugacuaaagu	gaaauacguu	acugaaggaa	ugaggaagcc	1680
ggccuuucug	uccggagaa	agaagaaagc	aaugucgau	cugcuguuca	agaccaaccg	1740
caaggugacc	gucaagcagc	uuaaagagga	cuacuuaag	aagaucgagu	guuucgacuc	1800
aguggaaauc	agcggggugg	aggacagauu	caacgcuucg	cugggaaccu	aucaugaucu	1860
ccugaagauc	aucaaggaca	aggacuuccu	ugacaacgag	gagaacgagg	acauccugga	1920
agauaucguc	cugaccuuga	ccuuuucga	ggaucgagag	augaucgagg	agaggcuuaa	1980
gaccuacgcu	caucucuucg	acgauaaggu	caugaaacaa	cucaagcgcc	gccgguacac	2040
ugguuggggc	cgccucuccc	gcaagcugau	caacggauuu	cgcgauaaac	agagcgguaa	2100
aacuauccug	gauuuccuca	aaucggaugg	cuucgcuaau	cguaacuuca	ugcaauugau	2160
ccacgacgac	agccugaccu	uuaggagga	cauccaaaaa	gcacaagugu	ccggacaggg	2220
agacucacuc	caugaacaca	ucgcgaauuc	ggccgguucg	ccggcgauua	agaagggauu	2280
ucugcaaacu	gugaaggugg	ucgacgagcu	ggugaagguc	augggacggc	acaaaccgga	2340
gaauaucgug	auugaaaugg	cccagagaaa	ccagacuacc	cagaagggcc	agaaaaacuc	2400
ccgcgaaagg	augaagcgga	ucgaagaagg	aaucaaggag	cugggcagcc	agauccugaa	2460
agagcaccgc	guggaaaaca	cgcagcugca	gaacgagaag	cucuaccugu	acuaauugca	2520
aaauggacgg	gacauguacg	uggaccaaga	gcuggacauc	aaucgguugu	cugauuacga	2580
cguggaccac	aucguuccac	aguccuuucu	gaaggauag	ucgaucgaua	acaagguguu	2640
gacucgcagc	gacaagaaca	gagggaaguc	agauaaugug	ccaucggagg	aggucgugaa	2700
gaagaugaag	aauiacuggc	ggcagcuccu	gaaugcgaag	cugauuaccc	agagaaaguu	2760
ugacaaucuc	acuaaagccg	agcgcggcgg	acucucagag	cuggauaagg	cuggauucau	2820
caaacggcag	cuggucgaga	cucggcagau	uaccaagcac	guggcgagga	ucuuggacuc	2880
ccgcaugaac	acuaaaucg	acgagaacga	uaagcucauc	cggaaguga	aggugauuac	2940

ccugaaaagc	aaacuugugu	cggacuucg	gaaggacuuu	caguuuuaca	aagugagaga	3000
aaucaacaac	uaccaucacg	cgcaugacgc	auaccucaac	gcuguggucg	guaccgcccc	3060
gaucaaaaag	uacc cuaaac	uugaaucgga	guuuguguac	ggagacuaca	aggucuacga	3120
cgugaggaag	augauagcca	aguccgaaca	ggaaaucggg	aaagcaacug	cgaaauacuu	3180
cuuuuacuca	aacaucauga	acuuuuucaa	gacugaaaau	acgcuggcca	auggagaaaau	3240
caggaagagg	ccacugaucg	aaacuaacgg	agaaacgggc	gaaaucgugu	gggacaaggg	3300
cagggacuuc	gcaacuguuc	gcaaagugcu	cucuaugccg	caagucaaua	uugugaagaa	3360
aaccgaagug	caaaccggcg	gauuuucaa	ggaaucgauc	cucccaaaga	gaaauagcga	3420
caagcucuu	gcacgcaaga	aagacuggga	cccgaagaag	uacggaggau	ucgauucgcc	3480
gacugucgca	uacuccgucc	ucgugguggc	caagguggag	aagggaaaga	gcaaaaagcu	3540
caaauccguc	aaagagcugc	uggggauuac	caucauggaa	cgauccucgu	ucgagaagaa	3600
cccgauugau	uuccucgagg	cgaagggua	caaggaggug	aagaaggau	ugaucaucaa	3660
acuccccaag	uacucacugu	ucgaacugga	aaauggucgg	aagcgcaugc	uggcuucggc	3720
cggagaacuc	caaaaaggaa	augagcuggc	cuugccuagc	aaguacguca	acuuccucua	3780
ucuugcuucg	cacuacgaaa	aacucaaagg	gucaccggaa	gauaacgaac	agaagcagcu	3840
uuucguggag	cagcacaagc	auuaucugga	ugaaaucauc	gaacaaaucu	ccgaguuuuc	3900
aaagcgcgug	auccucgccg	acgccaaccu	cgacaaaguc	cugucggccu	acaauaagca	3960
uagagauaag	ccgaucagag	aacaggccga	gaacauuau	cacuuguuca	cccugacuaa	4020
ccugggagcc	ccagccgccu	ucaaguacuu	cgauacuacu	aucgaucgca	aaagauacac	4080
guccaccaag	gaaguucugg	acgcgacccu	gauccaccaa	agcaucacug	gacucuacga	4140
aacuaggau	gaucugucgc	agcugggugg	cgauggcucg	gcuuaccuau	acgacgugcc	4200
ugacuacgcc	ucgcucggau	cgggcucucc	caaaaagaaa	cggagguggg	acggaucccc	4260
gaaaaagaag	agaaaggugg	acuccggaug	agaauuau	agucuagcca	ucacauuuua	4320
aagcaucuca	gccuaccaug	agaauaagag	aaagaaaaug	aagaucaaua	gcuuauucau	4380
cucuuuuucu	uuuucguugg	uguaaagcca	acaccuguc	uaaaaaacau	aaauuucuuu	4440
aaucuuuuug	ccucuuuucu	cugugcuuca	auuaauaaaa	aauggaaaga	accucgagaa	4500
aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	4560
aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	uag		4603

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая 5'-концевую модификацию и одну или более из модификаций в одной или более из:

области верхнего стебля;

области шпильки 1; и

области шпильки 2,

причем 5'-концевая модификация содержит по меньшей мере две фосфоротиоатных (PS) связи в пределах первых семи нуклеотидов на 5'-конце 5'-концевой области.

2. sgРНК по п. 1, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна модификация включает 2'-О-метил (2'-O-Me) модифицированный нуклеотид.

3. sgРНК по пп. 1 или 2, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна модификация включает 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид.

4. sgРНК по любому из пп. 1-3, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна модификация включает фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами.

5. sgРНК по любому из пп. 1-4, отличающаяся тем, что sgРНК содержит одну или более из модификаций в области верхнего стебля.

6. sgРНК по п. 5, отличающаяся тем, что содержит модификации в положениях US1 - US12.

7. sgРНК по любому из пп. 1-6, отличающаяся тем, что sgРНК содержит одну или более из модификаций в области шпильки 1.

8. sgРНК по п. 7, отличающаяся тем, что sgРНК содержит модификацию в положении H1-1.

9. sgРНК по любому из пп. 1-8, отличающаяся тем, что sgРНК содержит одну или более из модификаций в области шпильки 2.

10. sgРНК по п. 9, отличающаяся тем, что sgРНК содержит модификацию в положении H2-1.

11. sgРНК по любому из пп. 1-10, отличающаяся тем, что sgРНК содержит модификации в положениях H1-1 - H1-12.

12. sgРНК по любому из пп. 1-11, отличающаяся тем, что sgРНК содержит модификации в положениях H2-1 - H2-15.

13. sgРНК по любому из пп. 1-12, отличающаяся тем, что sgРНК содержит одну или более модификации в каждой из области верхнего стебля, области шпильки 1 и области шпильки 2.

14. sgРНК по любому из пп. 1-13, отличающаяся тем, что

sgРНК содержит модифицированный нуклеотид между областями шпильки 1 и шпильки 2.

15. sgРНК по любому из пп. 1–14, отличающаяся тем, что дополнительно содержит область нижнего стебля, содержащую модификацию.

16. sgРНК по любому из пп. 1–15, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 3'-концевую область, содержащую модификацию.

17. sgРНК по п. 16, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 3'-концевую модификацию в 3'-концевой области.

18. sgРНК по п. 17, отличающаяся тем, что по меньшей мере два из последних четырех нуклеотидов на 3'-конце 3'-концевой области являются модифицированными.

19. sgРНК по п. 17, отличающаяся тем, что по меньшей мере два из последних четырех нуклеотидов на 3'-конце 3'-концевой области модифицированы 2'-O-Me, 2'-F или 2'-O-moe.

20. sgРНК по любому из пп. 17–19, отличающаяся тем, что дополнительно содержит фосфоротиоатные (PS) связи между одним или более из последних четырех нуклеотидов на 3'-конце 3'-концевой области.

21. sgРНК по любому из пп. 1–20, отличающаяся тем, что дополнительно содержит область расширения, содержащую модификацию.

22. sgРНК по любому из пп. 1–21, отличающаяся тем, что дополнительно содержит область связки, содержащую модификацию.

23. sgРНК по любому из пп. 1–22, отличающаяся тем, что по меньшей мере первые три нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области являются модифицированными.

24. sgРНК по любому из пп. 1–23, отличающаяся тем, что первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области соединены фосфоротиоатными (PS) связями.

25. sgРНК по п. 24, отличающаяся тем, что концевые модификации включают 2'-O-Me.

26. sgРНК по п. 24, отличающаяся тем, что концевые модификации включают 2'-F.

27. sgРНК по любому из пп. 1–26, отличающаяся тем, что первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области

соединены PS связью, а первые три нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области содержат 2'-O-Me модификации.

28. sgРНК по любому из пп. 1-26, отличающаяся тем, что первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области соединены PS связью, а первые три нуклеотида в 5'-концевой области и последние три нуклеотида в 3'-концевой области содержат 2'-O-Me, 2'-F и/или 2'-O-ное модификации.

29. sgРНК по любому из пп. 1-28, отличающаяся тем, что LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и/или LS12 модифицированы 2'-O-Me.

30. sgРНК по любому из пп. 1-29, отличающаяся тем, что каждый из нуклеотидов в области расширения модифицирован 2'-O-Me.

31. sgРНК по любому из пп. 1-29, отличающаяся тем, что по меньшей мере 50% нуклеотидов в области расширения модифицированы 2'-O-Me.

32. sgРНК по любому из пп. 1-31, отличающаяся тем, что каждый из нуклеотидов в области верхнего стебля модифицирован 2'-O-Me.

33. sgРНК по любому из пп. 1-32, отличающаяся тем, что N16, N17 и/или N18 в области связки модифицированы 2'-O-Me.

34. sgРНК по любому из пп. 1-32, отличающаяся тем, что N15, N16, N17 и/или N18 в области связки являются модифицированными.

35. sgРНК по п. 33 или п. 34, отличающаяся тем, что модификации в области связки выбраны из 2'-O-Me и 2'-F.

36. sgРНК по любому из пп. 32-35, отличающаяся тем, что N16, N17 и N18 соединены PS связями.

37. sgРНК по любому из пп. 1-36, отличающаяся тем, что каждый из нуклеотидов в области шпильки 1 модифицирован 2'-O-Me.

38. sgРНК по любому из пп. 1-37, отличающаяся тем, что каждый из нуклеотидов в области шпильки 2 модифицирован 2'-O-Me.

39. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в следующих положениях:

первых четырех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;
LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и/или LS12 в области нижнего стебля;

B1 и/или B2 в области расширения;

каждом нуклеотиде в области верхнего стебля;

N16, N17 и/или N18 в области связки;

каждом нуклеотиде в области шпильки 1;
 каждом нуклеотиде в области шпильки 2; и
 последних четырех нуклеотидах в 3'-концевой области.

40. sgРНК по п. 39, отличающаяся тем, что В3-В6 модифицированы 2'-О-Ме.

41. sgРНК по п. 39, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

42. sgРНК по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что LS9 и LS10 модифицированы, например, 2'-F или 2'-ОМе.

43. sgРНК по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что N15, N16, N17 и N18 модифицированы, например, 2'-F или 2'-ОМе.

44. sgРНК по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что H2-9, H2-10, H2-11, H2-12, H2-13, H2-14 и H2-15 модифицированы 2'-F.

45. sgРНК по любому из предшествующих пунктов, отличающаяся тем, что второй от последнего, третий от последнего и четвертый от последнего нуклеотиды 3'-концевой области модифицированы 2'-F.

46. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая 2'-F-модифицированные нуклеотиды в следующих положениях:

LS9 и LS10 в области нижнего стебля;

N15, N16, N17 и N18 в области связки; и

H2-9, H2-10, H2-11, H2-12, H2-13, H2-14 и H2-15 в области шпильки 2.

47. sgРНК по п. 46, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-F модифицированные нуклеотиды во втором от последнего, в третьем от последнего и в четвертом от последнего нуклеотидах в 3'-концевой области.

48. sgРНК по пп. 46 или 47, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

49. sgРНК по любому из пп. 46-48, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-О-Ме или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой

области и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в трех из последних четырех нуклеотидов на 3'-конце 3'-концевой области.

50. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая:

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

51. sgРНК по п. 50, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS1 и/или LS6;

52. sgРНК по пп. 50 или 51, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2.

53. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая:

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS1-LS6;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

54. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая:

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS2-LS5;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS1 и LS6;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

55. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS8, LS11 и LS12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

56. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS8, LS11 и LS12;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS9 и LS10;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

57. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS8, LS10 и LS12;

2'-O-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS9 и LS11;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

58. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая:

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

59. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях LS1, LS6, LS7, LS8, LS11 и LS12;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS9 и LS10;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-15; и

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

60. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1 - H1-12;

2'-O-Me модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1 - H2-8;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H2-9 - H2-15;

2'-F модифицированные нуклеотиды во втором от последнего, в третьем от последнего и в четвертом от последнего нуклеотиде 3'-концевой области; и

2'-O-Me модифицированный нуклеотид в последнем нуклеотиде на 3'-конце 3'-концевой области.

61. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях US1-US12;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H1-2, H1-4, H1-6, H1-8, H1-10 и H1-12;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H1-1, H1-3, H1-5, H1-7, H1-9 и H1-11;

2'-F модифицированный нуклеотид между шпилькой 1 и шпилькой 2;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях H2-2, H2-4, H2-6, H2-8, H2-10, H2-12; и H2-14;

2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях H2-1, H2-3, H2-5, H2-7, H2-9, H2-11; H2-13 и H2-15;

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях во втором от последнего и в четвертом от последнего нуклеотиде 3'-концевой области; и

2'-O-Me модифицированный нуклеотид в третьем от последнего и в последнем нуклеотиде на 3'-конце 3'-концевой области,

62. sgРНК по любому из пп. 50-61, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой

области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

63. sgРНК по любому из пп. 50-61, отличающаяся тем, что дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную (PS) связь в пределах первых семи нуклеотидов на 5'-конце 5'-концевой области.

64. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды LS8, LS10, LS12, H1-2, H1-4, H1-6, H1-8, H1-10, H1-12, H2-1, H2-3, H2-5, H2-7, H2-9, H2-11, H2-13 и H2-15; и

2'-F модифицированные нуклеотиды в положениях LS7, LS9, LS11; H1-1, H1-3, H1-5, H1-7, H1-9, H1-11, H1-13, H2-2, H2-4, H2-6, H2-8, H2-10, H2-12 и H2-14.

65. sgРНК по п. 64, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

66. sgРНК по пп. 64 или 65, отличающаяся тем, что дополнительно содержит

2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в последнем и в третьем от последнего нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области; и

2'-F модифицированные нуклеотиды во втором от последнего и в четвертом от последнего нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

67. sgРНК, содержащая любую из SEQ ID No: 228-332, включая модификации, перечисленные в таблице 4.

68. sgРНК, содержащая любую из SEQ ID No: 235-240, 265-285 и 309-329, включая модификации, перечисленные в таблице 4.

69. sgРНК, содержащая SEQ ID No: 240.

70. sgРНК, содержащая SEQ ID No. 240, включая модификации, перечисленные в таблице 4.

71. sgРНК, содержащая SEQ ID No: 242, включая модификации, перечисленные в таблице 4.

72. sgРНК, содержащая модификации SEQ ID No: 242, описанные в таблице 4.

73. sgРНК, содержащая SEQ ID No: 358.

74. sgРНК, содержащая нуклеиновые кислоты, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к нуклеиновым кислотам

согласно любой одной из SEQ ID No: 235–240, 265–285 и 309–329, причем модификация каждого нуклеотида sgРНК, соответствующего нуклеотиду идентификатора эталонной последовательности в таблице 4, идентична или эквивалентна модификации, показанной в идентификаторе эталонной последовательности в таблице 4.

75. sgРНК по любому из пп. 66–74, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида в 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида в 3'-концевой области.

75. sgРНК по любому из пп. 1–74, отличающаяся тем, что дополнительно содержит по меньшей мере три PS связи, связывающие нуклеотиды в области шпильки 1.

76. sgРНК по любому из пп. 1–75, отличающаяся тем, что дополнительно содержит по меньшей мере три PS связи, связывающие нуклеотиды в области шпильки 2.

77. sgРНК по любому из пп. 1–76, отличающаяся тем, что дополнительно содержит по меньшей мере три PS связи, связывающие нуклеотиды в области верхнего стебля.

78. sgРНК по любому из пп. 1–77, отличающаяся тем, что sgРНК образует рибонуклеопротеиновый комплекс с Cas9 *S. pyogenes*.

79. Направляющая РНК, содержащая 2'-O-Me модификации в каждом нуклеотиде в области верхнего стебля.

80. Направляющая РНК, содержащая 2'-O-Me модификации в одном, двух, трех или четырех, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти или одиннадцати из следующих нуклеотидов: US1, US2, US3, US4, US5, US6, US7, US8, US9, US10, US11 и US12.

81. Направляющая РНК, содержащая 2'-O-Me модификации в 50% или более из нуклеотидов в областях шпильки 1 и шпильки 2.

82. Направляющая РНК, содержащая 2'-O-Me модификации в каждом нуклеотиде в области верхнего стебля и 2'-O-Me модификации в 50% или более из нуклеотидов в областях шпильки 1 и шпильки 2.

83. Направляющая РНК, содержащая или состоящая из 2'-O-Me модификаций в каждом нуклеотиде, начиная от H2-1 или H2-2 и до последнего нуклеотида 3'-концевой области.

84. Направляющая РНК, содержащая или состоящая из 2'-O-Me модификаций в LS1 и/или LS6 и не содержащая модификаций в LS2–LS5.

85. Направляющая РНК, содержащая 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в 2 или более положениях LS8, LS9, LS10, LS11 и/или LS12.

86. Направляющая РНК по п. 85, отличающаяся тем, что по меньшей мере LS8 и LS10 модифицированы 2'-О-Ме.

87. Направляющая РНК по любому из пп. 79-86, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-О-Ме модификации в 50% или более из нуклеотидов в области связки.

88. Направляющая РНК по п. 87, отличающаяся тем, что по меньшей мере 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 9%, 98 или 99% нуклеотидов в области связки модифицированы 2'-О-Ме.

89. Направляющая РНК, содержащая 2'-О-Ме модификации в до 50% нуклеотидов в области связки.

90. Направляющая РНК, содержащая 2'-О-Ме модификации в четырех или более нуклеотидах в области связки.

91. Направляющая РНК по п. 90, отличающаяся тем, что по меньшей мере один, два, три, четыре или пять из нуклеотидов N2-N6 в области связки модифицированы 2'-О-Ме.

92. Направляющая РНК, содержащая 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в десяти или более нуклеотидах в области связки.

93. Направляющая РНК по п. 92, отличающаяся тем, что по меньшей мере N2-N6 модифицированы 2'-О-Ме.

94. Направляющая РНК, содержащая 2'-О-Ме модификации в 50% или более нуклеотидов в области расширения.

95. Направляющая РНК по п. 94, отличающаяся тем, что по меньшей мере 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% нуклеотидов в области расширения модифицированы 2'-О-Ме.

96. Направляющая РНК по п. 94, отличающаяся тем, что В2, В3 и/или В4 модифицированы 2'-О-Ме.

97. Направляющая РНК, содержащая 2'-О-Ме модифицированные нуклеотиды в трех или более нуклеотидах в области расширения.

98. Направляющая РНК по п. 97, отличающаяся тем, что В2, В3 и/или В4 модифицированы 2'-О-Ме.

99. Направляющая РНК, содержащая нуклеотиды SEQ ID NO: 357 с шаблоном модификации направляющей РНК по любому из предшествующих пунктов.

100. Направляющая РНК, содержащая нуклеотиды SEQ ID NO: 356 с шаблоном модификации направляющей РНК по любому из предшествующих пунктов.

101. Направляющая РНК по любому из пп. 79–100, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-О-Ме модификации в первых трех, четырех или пяти нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области.

102. Направляющая РНК по любому из пп. 79–100, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-О-Ме модификации в последних трех, последних четырех или последних пяти нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

103. Направляющая РНК по п. 102, отличающаяся тем, что последний нуклеотид на 3'-конце 3'-концевой области не является модифицированным.

104. Направляющая РНК по п. 102, отличающаяся тем, что лишь второй от последнего и третий от последнего нуклеотиды на 3'-конце 3'-концевой области являются модифицированными.

105. Направляющая РНК по п. 102, отличающаяся тем, что лишь второй от последнего, третий от последнего и четвертый от последнего нуклеотиды в 3'-концевой области являются модифицированными.

106. Направляющая РНК по любому из пп. 79–100, отличающаяся тем, что дополнительно содержит PS связи между первыми тремя, четырьмя или пятью нуклеотидами на 5'-конце 5'-концевой области.

107. Направляющая РНК по п. 106, отличающаяся тем, что первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области соединены PS связями.

108. Направляющая РНК по любому из пп. 79–100, отличающаяся тем, что дополнительно содержит PS связи в последних трех, четырех или пяти нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

109. Направляющая РНК по п. 108, отличающаяся тем, что последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области соединены PS связями.

110. Направляющая РНК по любому из пп. 79–100, отличающаяся тем, что первые три или четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три или четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области содержат 2'-О-Ме модификации.

111. Направляющая РНК по любому из пп. 79–100, отличающаяся тем, что первые три или четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области соединены PS связями и последние три или четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области соединены PS связями.

112. Направляющая РНК по любому из пп. 79–100, отличающаяся тем, что первые три или четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-

концевой области содержат 2'-O-Me модификации и соединены PS связями, и последние три или четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области содержат 2'-O-Me модификации и соединены PS связями.

113. Направляющая РНК по любому из пп. 79-100, отличающаяся тем, что по меньшей мере два из нуклеотидов LS8, LS9, LS10, LS11 и LS12 содержат 2'-O-Me модификации.

114. Направляющая РНК по любому из пп. 79 -100, отличающаяся тем, что по меньшей мере LS8 и LS10 модифицированы 2'-O-Me.

115. Направляющая РНК по любому из пп. 79-100, отличающаяся тем, что по меньшей мере 50% нуклеотидов в области связки модифицированы 2'-O-Me.

116. Направляющая РНК по п. 115, отличающаяся тем, что по меньшей мере 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% нуклеотидов в области связки модифицированы 2'-O-Me.

117. Направляющая РНК по п. 115, отличающаяся тем, что по меньшей мере N2-N6 модифицированы 2'-O-Me.

118. Направляющая РНК по любому из пп. 79-100, отличающаяся тем, что по меньшей мере десять из нуклеотидов в области связки модифицированы 2'-O-Me.

119. Направляющая РНК по п. 115, отличающаяся тем, что по меньшей мере N2-N6 модифицированы 2'-O-Me.

120. Направляющая РНК по любому из пп. 79-100, отличающаяся тем, что по меньшей мере 50% нуклеотидов в области расширения модифицированы 2'-O-Me.

121. Направляющая РНК по п. 120, отличающаяся тем, что по меньшей мере 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% нуклеотидов в области расширения модифицированы 2'-O-Me.

122. Направляющая РНК по п. 121, отличающаяся тем, что В2, В3 и/или В4 модифицированы 2'-O-Me.

123. Направляющая РНК по любому из пп. 79-100, отличающаяся тем, что по меньшей мере три нуклеотида в области расширения модифицированы 2'-O-Me.

124. Направляющая РНК по п. 123, отличающаяся тем, что В2, В3 и/или В4 модифицированы 2'-O-Me.

125. Направляющая РНК по любому из пп. 79 -124, отличающаяся тем, что указанная направляющая РНК является sgРНК.

126. Направляющая РНК по любому из пп. 79 -125, отличающаяся тем, что указанная направляющая РНК является dgРНК.

127. Направляющая РНК по п. 81 или 82, отличающаяся тем, что по меньшей мере 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99% нуклеотидов в областях шпильки 1 и шпильки 2 модифицированы 2'-ОМе.

128. Направляющая РНК по любому из пп. 79–127, отличающаяся тем, что gРНК образует рибонуклеопротеиновый комплекс с Cas9 *S. pyogenes*.

129. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая или состоящая из 2'-О-Ме модифицированных нуклеотидов в:

первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;
каждом нуклеотиде в области верхнего стебля;
каждом нуклеотиде в области шпильки 1;
нуклеотиде между шпилькой 1 и шпилькой 2;
каждом нуклеотиде в области шпильки 2; и
последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

130. sgРНК по п. 129, отличающаяся тем, что дополнительно содержит PS связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

131. sgРНК, содержащая шаблон модификации, показанный в SEQ ID NO: 350, 351, 352 или 353, как описано в таблице 4.

132. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая или состоящая из 2'-О-Ме модифицированных нуклеотидов в:

первых трех, четырех, пяти или семи нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;
каждом нуклеотиде в области верхнего стебля;
каждом нуклеотиде в области шпильки 1;
нуклеотиде между шпилькой 1 и шпилькой 2;
каждом нуклеотиде в области шпильки 2; и
последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

133. Одиночная направляющая РНК (sgРНК), содержащая или состоящая из 2'-О-Ме модифицированных нуклеотидов в:

первых трех, четырех, пяти или семи нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;

каждом из нуклеотидов US1, US2, US3, US4, US5, US6, US7, US8, US9, US10, US11 и US12;

каждом из нуклеотидов H1-1, H1-2, H1-3, H1-4, H1-5, H1-6, H1-7, H1-8, H1-9, H1-10, H1-11 и H1-12;

нуклеотиде между шпилькой 1 и шпилькой 2;
 каждым из нуклеотидов Н2-1, Н2-2, Н2-3, Н2-4, Н2-5, Н2-6, Н2-7, Н2-8, Н2-9, Н2-10, Н2-11, Н2-12, Н2-13, Н2-14 и Н2-15; и
 последних четырех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

134. sgРНК по любому из пп. 129-133, отличающаяся тем, что дополнительно содержит PS связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области, и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

135. sgРНК, содержащая шаблон модификации согласно SEQ ID NO: 350, 351, 352 или 353, как показано в таблице 4.

136. sgРНК по любому из пп. 129-135, отличающаяся тем, что sgРНК образует рибонуклеопротеиновый комплекс с Cas9 *S. pyogenes*.

137. Crispr РНК (crРНК), содержащая одну или более из модификаций в одной или более из следующих областей:

первых пяти нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;
 области нижнего стебля;
 области расширения;
 области верхнего стебля; и
 последних пяти нуклеотидах на 3'-конце crРНК.

138. crРНК по п. 136, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 5'-концевую модификацию, причем 5'-концевая модификация содержит одну или более фосфоротиоатных связей в пределах первых семи нуклеотидов на 5'-конце 5'-концевой области.

139. crРНК по п. 136, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 5'-концевую модификацию, причем 5'-концевая модификация содержит по меньшей мере две фосфоротиоатных связи в пределах первых семи нуклеотидов на 5'-конце 5'-концевой области.

140. crРНК по любому из пп. 137-139, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна модификация включает 2'-О-метил (2'-O-Me) модифицированный нуклеотид.

141. crРНК по любому из пп. 137-140, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна модификация включает 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид.

142. crРНК по любому из пп. 137-141, отличающаяся тем, что меньшей мере одна модификация включает фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами.

143. crРНК по любому из пп. 137-142, отличающаяся тем, что первые три нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области являются модифицированными.

144. crРНК по любому из пп. 137-143, отличающаяся тем, что первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области соединены фосфоротиоатными (PS) связями.

145. crРНК по п. 143, отличающаяся тем, что модификация включает 2'-O-Me.

146. crРНК по п. 143, отличающаяся тем, что модификация включает 2'-F.

147. crРНК по любому из пп. 137-146, отличающаяся тем, что первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области соединены PS связью, а первые три нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области содержат 2'-O-Me модификации.

148. crРНК по любому из пп. 137-146, отличающаяся тем, что первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области соединены PS связью, а первые три нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области содержат 2'-F модификации.

149. crРНК по любому из пп. 137-148, отличающаяся тем, что LS1 и LS6 модифицированы 2'-O-Me.

150. crРНК по любому из пп. 137-149, отличающаяся тем, что каждый из нуклеотидов в области верхнего стебля модифицирован 2'-O-Me.

151. Crispr РНК (crРНК), содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в положениях:

LS1 и LS6 в области нижнего стебля; и

каждом нуклеотиде в области верхнего стебля.

152. crРНК по п. 151, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

153. crРНК по п. 151 или п. 152, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-O-Me или 2'-F модифицированные

нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних трех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

154. crPHK по любому из пп. 137-153, отличающаяся тем, что LS1, LS2 и LS6 модифицированы 2'-F.

155. crPHK по любому из пп. 137-154, отличающаяся тем, что каждый нуклеотид в области расширения модифицирован 2'-F.

156. Crispr PHK (crPHK), содержащая 2'-F модифицированные нуклеотиды в:

положениях LS1, LS2 и LS6 в области нижнего стебля; и
каждом нуклеотиде в области расширения.

157. crPHK по любому из пп. 137-156, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

158. crPHK по любому из пп. 137-157, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних трех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

159. crPHK, содержащая любую из SEQ ID No: 1-187, включая модификации, перечисленные в таблице 4.

160. crPHK, содержащая любую из SEQ ID No: 19-31, 53-73, 104-130 и 161-187, включая модификации, перечисленные в таблице 4.

161. crPHK, содержащая нуклеиновые кислоты, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к любой одной из SEQ ID No: 19-31, 53-73, 104-130 и 161-187, причем модификация каждого нуклеотида crPHK, соответствующего нуклеотиду идентификатора эталонной последовательности в таблице 4, идентична или эквивалентна модификации, показанной в идентификаторе эталонной последовательности в таблице 4.

162. crPHK по любому из пп. 159-161, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

163. crРНК по любому из пп. 137-162, отличающаяся тем, что crРНК, объединенная с trРНК, образует рибонуклеопротеиновый комплекс с Cas9 *S. pyogenes*.

164. Tracr РНК (trРНК), содержащая одну или более из модификаций в одной или более из следующих областей:

первых пяти нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области;
 области верхнего стебля;
 области расширения;
 области нижнего стебля;
 области связки;
 области шпильки 1;
 области шпильки 2; и

последних пяти нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

165. trРНК по п. 164, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна модификация включает 2'-О-метил (2'-О-Me) модифицированный нуклеотид.

166. trРНК по пп. 164 или 165, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна модификация включает 2'-фтор (2'-F) модифицированный нуклеотид.

167. trРНК по любому из пп. 164-166, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна модификация включает фосфоротиоатную (PS) связь между нуклеотидами.

168. trРНК по любому из пп. 164-167, отличающаяся тем, что первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области соединены фосфоротиоатными (PS) связями.

169. trРНК по любому из пп. 164-168, отличающаяся тем, что первые три нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области являются модифицированными.

170. trРНК по п. 169, отличающаяся тем, что модификация включает 2'-О-Me.

171. trРНК по п. 169, отличающаяся тем, что модификация включает 2'-F.

172. trРНК по любому из пп. 164-171, отличающаяся тем, что первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области соединены PS связью, а первые три нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области содержат 2'-О-Me модификации.

173. trPHK по любому из пп. 164-171, отличающаяся тем, что первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области соединены PS связью, а первые три нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и последние три нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области содержат 2'-F модификации.

174. trPHK по любому из пп. 164-173, отличающаяся тем, что каждый нуклеотид в области верхнего стебля модифицирован 2'-O-Me.

175. trPHK по любому из пп. 164-174, отличающаяся тем, что B1 и B2 в области расширения модифицированы 2'-O-Me.

176. trPHK по любому из пп. 164-175, отличающаяся тем, что N3, N4, N5, N15, N16, N17 и/или N18 в области связки модифицированы 2'-O-Me.

177. trPHK по любому из пп. 164-176, отличающаяся тем, что каждый нуклеотид в области шпильки 1 модифицирован 2'-O-Me.

178. trPHK по любому из пп. 164-177, отличающаяся тем, что каждый нуклеотид в области шпильки 2 модифицирован 2'-O-Me.

179. Tracr PHK (trPHK), содержащая 2'-O-Me модифицированные нуклеотиды в:

каждом нуклеотиде в верхнем стебле;

B1 и/или B2 в области расширения;

N3, N4, N5, N15, N16, N17 и/или N18 в области связки;

каждом нуклеотиде в области шпильки 1; и

каждом нуклеотиде в области шпильки 2.

180. trPHK по п. 179, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

181. trPHK по пп. 179 или 180, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних трех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

182. trPHK по любому из пп. 164-181, отличающаяся тем, что N15, N16, N17 и N18 модифицированы 2'-F.

183. trPHK по любому из пп. 164-182, отличающаяся тем, что LS1, LS3 и LS5 модифицированы 2'-F, а LS2, LS4 и LS6 модифицированы 2'-O-Me.

184. trРНК по любому из пп. 164–183, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

185. trРНК по любому из пп. 164–184, отличающаяся тем, что дополнительно содержит 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в первых трех нуклеотидах на 5'-конце 5'-концевой области и 2'-O-Me или 2'-F модифицированные нуклеотиды в последних трех нуклеотидах на 3'-конце 3'-концевой области.

186. trРНК, содержащая любую одну из SEQ ID No: 188–227, включая модификации, перечисленные в таблице 4.

187. trРНК, содержащая нуклеиновые кислоты, обладающие по меньшей мере 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75 или 70% идентичностью по отношению к любой из SEQ ID No: 188–227, причем модификация каждого нуклеотида trРНК, соответствующего нуклеотиду идентификатора эталонной последовательности в таблице 4, идентична или эквивалентна модификации, показанной в идентификаторе эталонной последовательности в таблице 4.

188. trРНК по любому из пп. 186–187, отличающаяся тем, что дополнительно содержит три фосфоротиоатные (PS) связи, соединяющие первые четыре нуклеотида на 5'-конце 5'-концевой области и три PS связи, соединяющие последние четыре нуклеотида на 3'-конце 3'-концевой области.

189. trРНК по любому из пп. 164–188, отличающаяся тем, что trРНК, объединенная с crРНК, образует рибонуклеопротеиновый комплекс с Cas9 *S. pyogenes*.

190. Двойная направляющая РНК, содержащая crРНК и trРНК, в которой crРНК содержит любую одну из SEQ ID No: 1–187, описанных в таблице 4, а trРНК содержит нуклеиновые кислоты согласно любой одной из SEQ ID No: 188–227, описанных в таблице 4.

191. Двойная направляющая РНК, содержащая crРНК по любому из пп. 137–163 и trРНК по любому из пп. 164–189.

192. Двойная направляющая РНК, содержащая crРНК по любому из пп. 137–163 и немодифицированную trРНК.

193. Двойная направляющая РНК, содержащая немодифицированную crРНК и trРНК по любому из пп. 137–189.

194. Двойная направляющая РНК по любому из пп. 190–193, отличающаяся тем, что двойная направляющая РНК образует рибонуклеопротеиновый комплекс с Cas9 *S. pyogenes*.

195. Композиция LNP, содержащая sgРНК по любому из пп. 1–78 и 129–136.

196. Композиция LNP, содержащая gРНК, содержащую или состоящую из РНК по любому из пп. 1–193.

197. Композиция, содержащая sgРНК по любому из пп. 1–78 и 129–136, ассоциированную с липидной наночастицей (LNP).

198. Композиция, содержащая crРНК по любому из пп. 137–163, ассоциированную с липидной наночастицей (LNP).

199. Композиция, содержащая trРНК по любому из пп. 164–189, ассоциированную с липидной наночастицей (LNP).

200. Композиция, содержащая sgРНК по любому из пп. 1–78 и 129–136, gРНК по любому из пп. 79–128, crРНК по любому из пп. 137–163, trРНК по любому из пп. 164–189, dgРНК по любому из пп. 190–194 или композицию по любому из пп. 195–199, дополнительно содержащую нуклеазу или мРНК, кодирующую нуклеазу.

201. Композиция по п. 200, отличающаяся тем, что нуклеаза является белком Cas.

202. Композиция по п. 201, отличающаяся тем, что белок Cas является Cas9.

203. Композиция по п. 202, отличающаяся тем, что Cas9 является Cas9 *S. pyogenes*.

204. Композиция по любому из пп. 200–203, отличающаяся тем, что нуклеаза является нуклеазой.

205. Композиция по любому из пп. 200–204, отличающаяся тем, что нуклеаза является модифицированной.

206. Композиция по п. 205, отличающаяся тем, что модифицированная нуклеаза содержит сигнал ядерной локализации (NLS).

207. Композиция по любому из пп. 200–206, отличающаяся тем, что содержит мРНК, кодирующую нуклеазу.

208. Фармацевтический состав, содержащий sgРНК по любому из пп. 1–78 и 129–136, gРНК по любому из пп. 79–128, crРНК по любому из пп. 137–163, trРНК по любому из пп. 164–189, dgРНК по любому из пп. 190–194 или композицию по любому из пп. 195–207 и фармацевтически приемлемый носитель.

209. Способ модификации ДНК-мишени, включающий доставку в клетку белка Cas или нуклеиновой кислоты, кодирующей белок Cas, а также любого из следующих компонентов:

sgРНК по любому из пп. 1-78 и 129 -136.

gРНК по любому из пп. 79-128;

crРНК по любому из пп. 137-163;

trРНК по любому из пп. 164-189;

dgРНК по любому из пп. 190-194;

композиции по любому из пп. 195-207; или

фармацевтического состава по п. 208.

210. Способ по п. 209, отличающийся тем, что способ приводит к образованию инсерции или делеции в гене.

211. Способ по п. 209, отличающаяся тем, что дополнительно включает доставку матрицы в клетку, причем по меньшей мере часть матрицы включается в ДНК-мишень в сайте двуцепочечного разрыва, индуцируемого белком Cas, или рядом с ним.

212. sgРНК по любому из пп. 1-78 и 129 -136 для применения при получении медикамента для лечения заболевания или расстройства.

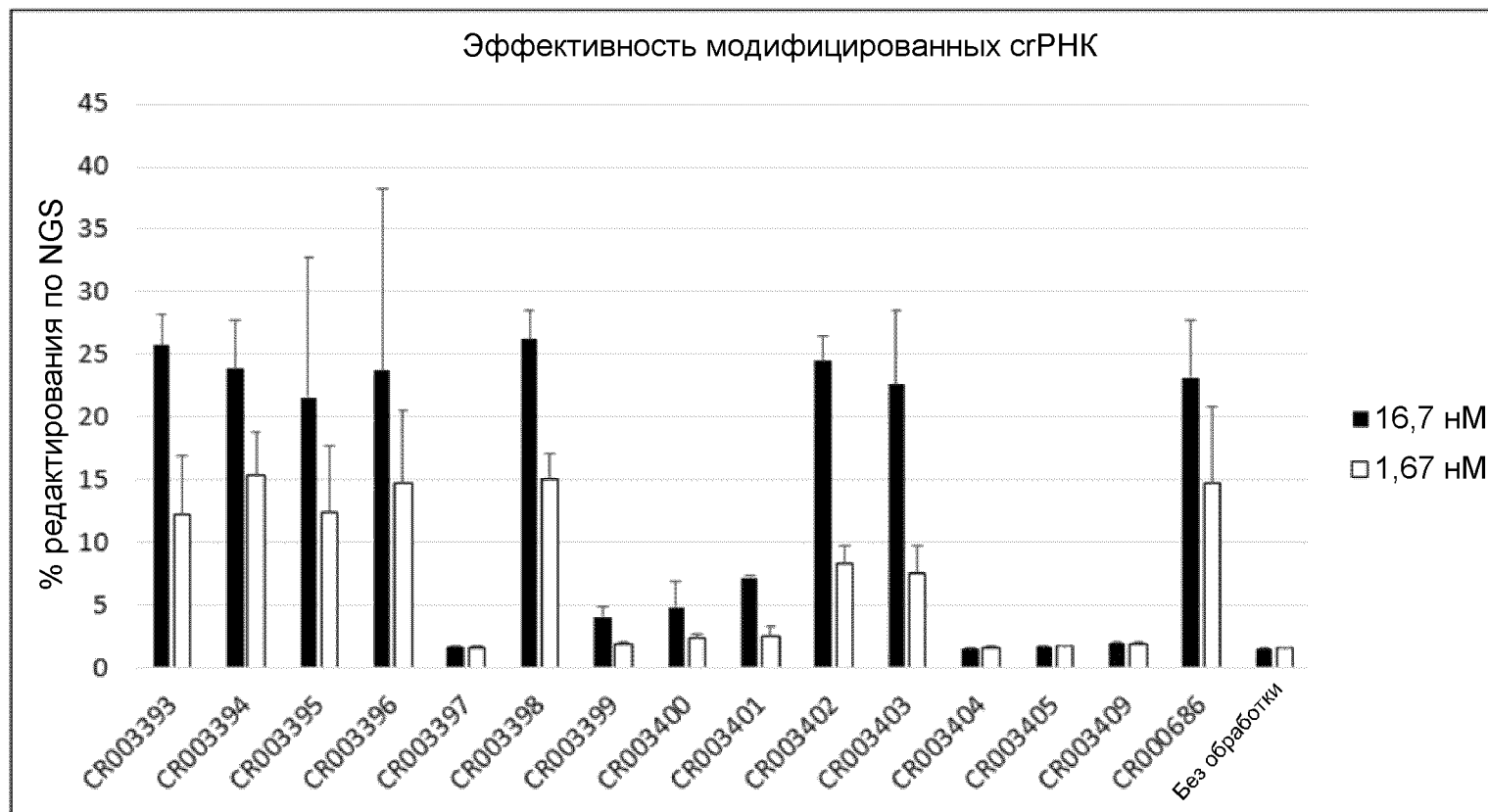
213. crРНК по любому из пп. 737-163 для применения при получении медикамента для лечения заболевания или расстройства.

214. trРНК по любому из пп. 164-189 для применения при получении медикамента для лечения заболевания или расстройства.

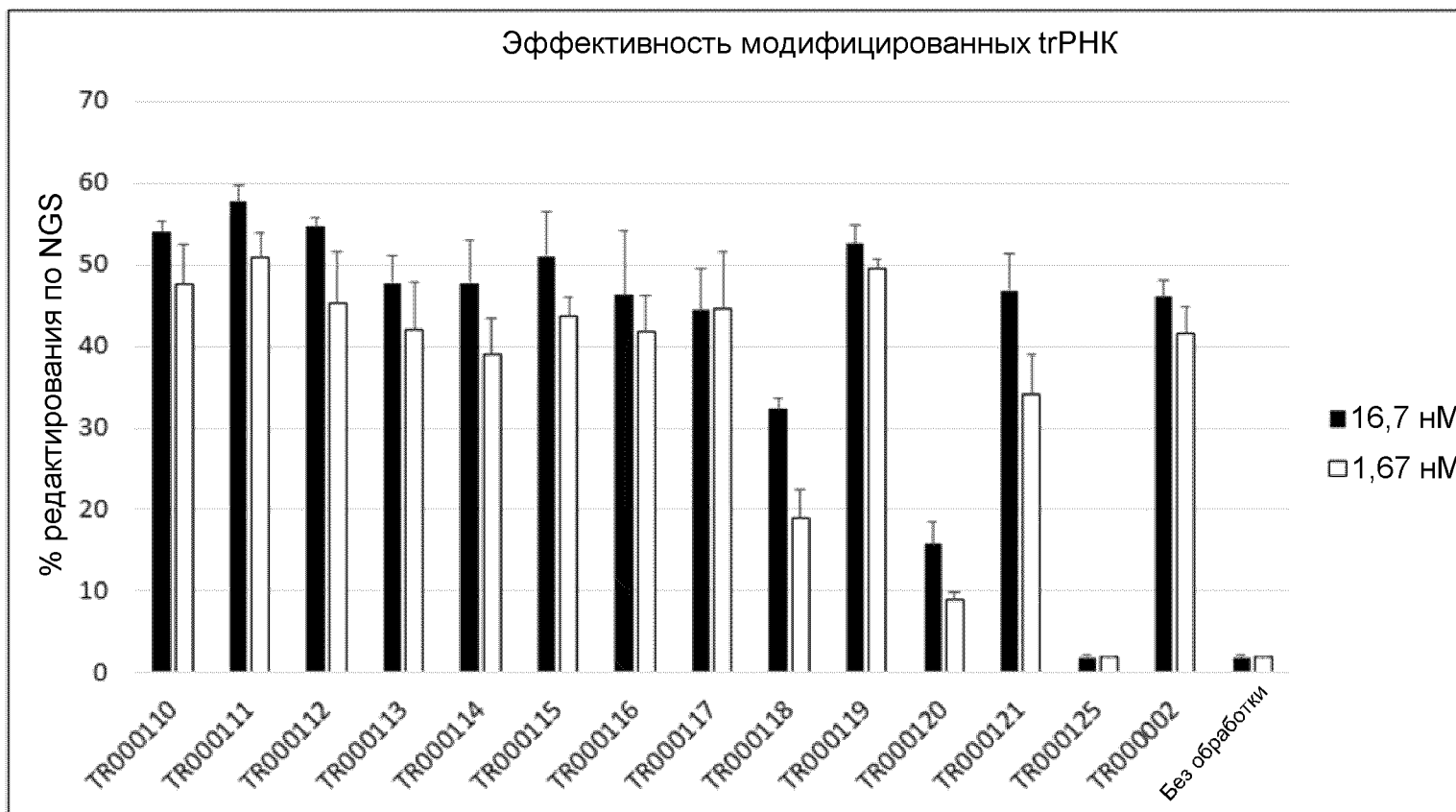
215. crРНК по любому из пп. 137-163 в комбинации с trРНК по любому из пп. 164-189 для применения при получении медикамента для лечения заболевания или расстройства.

216. Фармацевтический состав по п. 208 для применения при получении медикамента для лечения заболевания или расстройства.

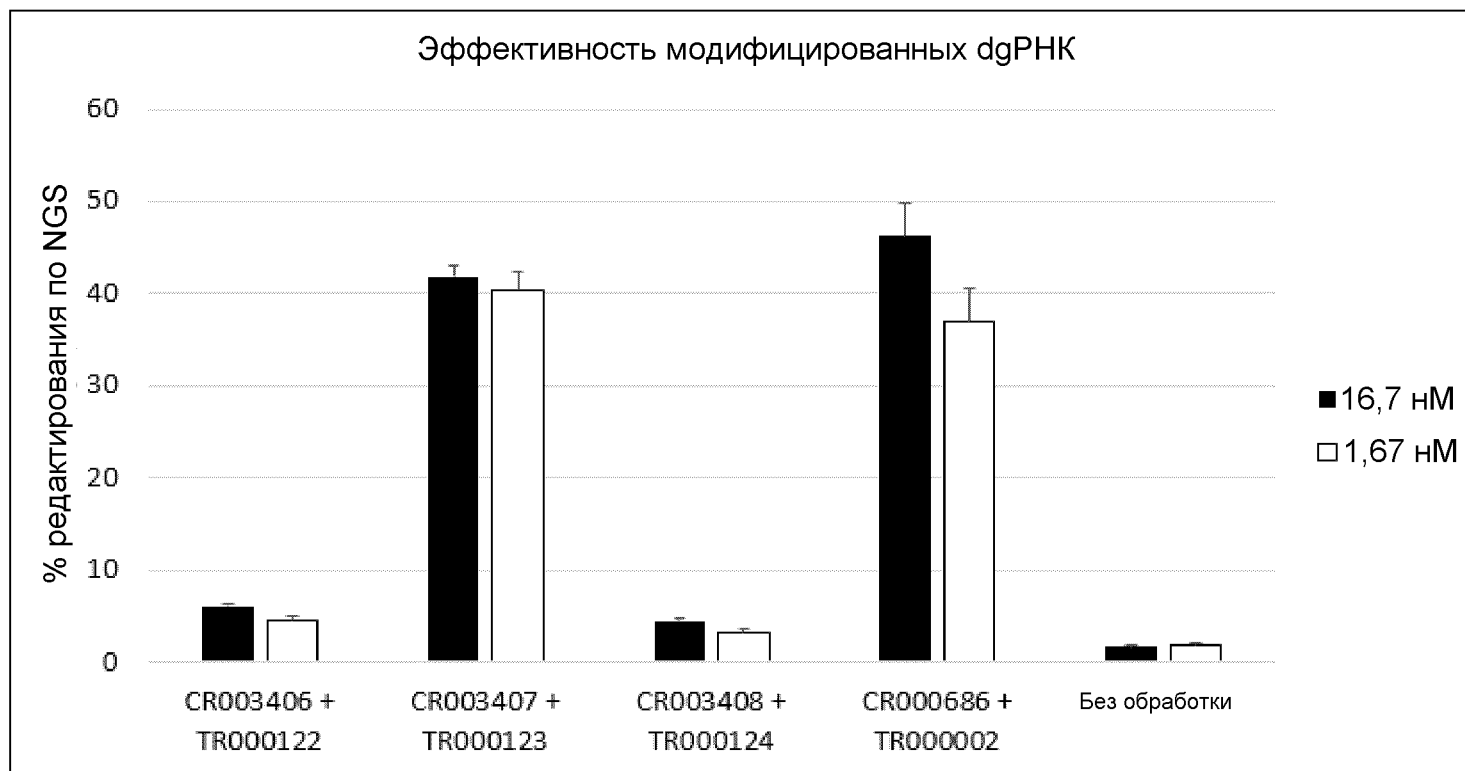
По доверенности



ФИГ. 1



ФИГ. 2



ФИГ. 3

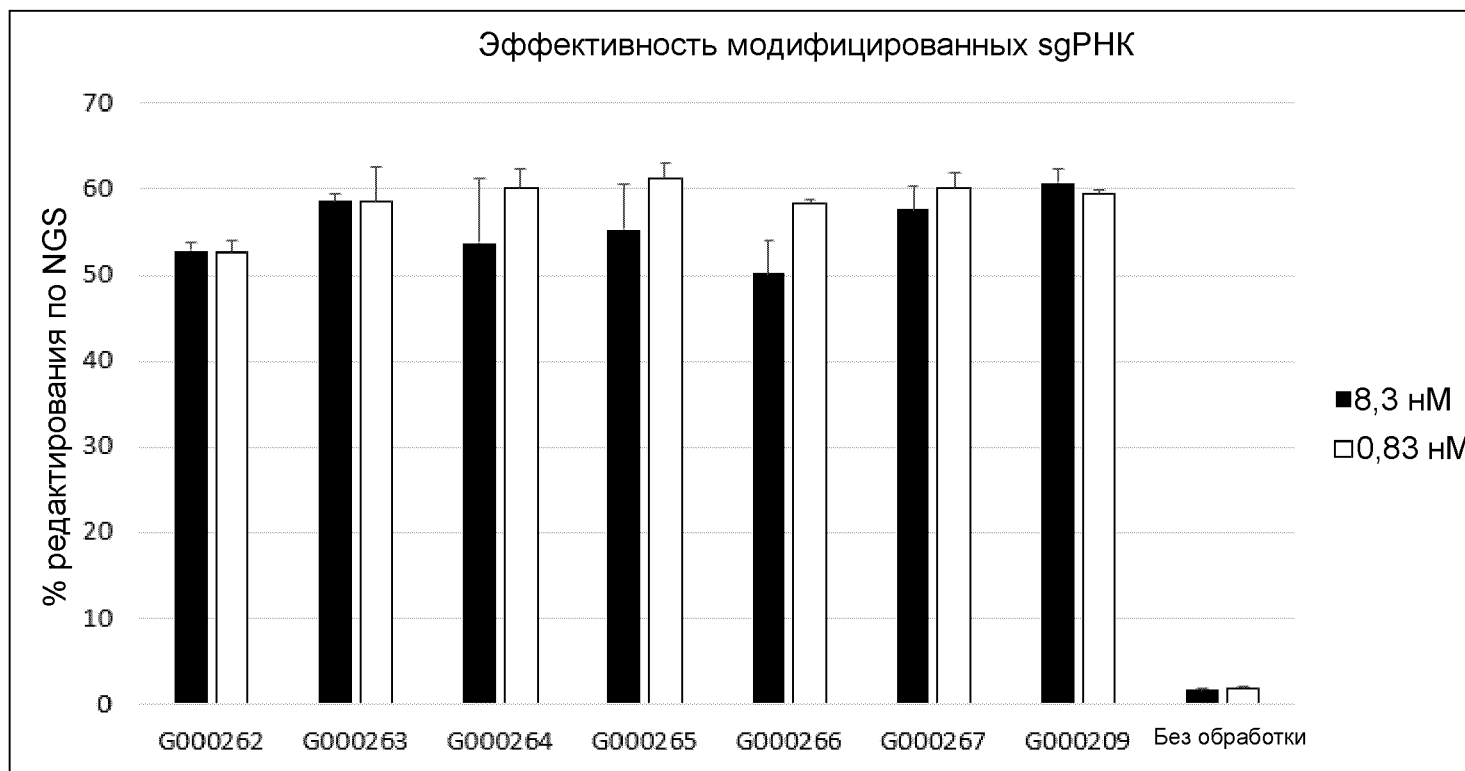
25 нМ

	TR000110	TR000111	TR000112	TR000113	TR000114	TR000115	TR000116	TR000117	TR000118	TR000119	TR000121	TR000002
CR003393	54.1 ± 5	61.2 ± 3.1	56.7 ± 5	55.9 ± 4	53.8 ± 10.7	56.3 ± 10	52.7 ± 5.8	55.5 ± 7	40.7 ± 12.9	48.5 ± 8.1	51.3 ± 11.4	
CR003394	57.7 ± 4.7	61.5 ± 8.2	64.8 ± 6.4	65.4 ± 8.9	60.1 ± 2.5	61.6 ± 4.6	57.3 ± 7.2	57.8 ± 8.3	38.6 ± 7.9	50.9 ± 10.3	54.8 ± 8.9	
CR003395	52.4 ± 2.4	62.8 ± 6.8	61.1 ± 7.2	62.8 ± 11.1	55.9 ± 7.6	57 ± 4.9	53.4 ± 7.1	52.5 ± 8.1	38.2 ± 7.5	49.7 ± 14.4	53.1 ± 11.7	
CR003396	56 ± 3.9	56.4 ± 7.6	58.7 ± 7.3	58.1 ± 7.3	54.7 ± 4.9	58.8 ± 5	48.9 ± 2.8	52.5 ± 9.7	34.3 ± 6	48.3 ± 10.3	52.4 ± 9.5	
CR003398	50.8 ± 10.2	56.2 ± 8.2	62.5 ± 6.9	59.7 ± 8.9	56.3 ± 3.4	61.2 ± 5	53 ± 7.1	53.8 ± 9.2	29.4 ± 9.3	52.2 ± 12.2	51.9 ± 15.6	
CR003402	42.7 ± 4.5	53.3 ± 5.4	56.9 ± 11	57.4 ± 12.1	52.8 ± 9.3	55.1 ± 8.5	46.1 ± 8.4	50.5 ± 8.8	17.7 ± 6.7	45.2 ± 12	52.8 ± 11.3	
CR003403	45.8 ± 9.9	52.7 ± 8.6	59.7 ± 13.9	54.8 ± 13.7	47.2 ± 12.1	50.9 ± 8.4	43.4 ± 10.3	47 ± 13	10.5 ± 5.9	44.5 ± 15.2	46 ± 19.3	
CR000686												34.5 ± 6.4

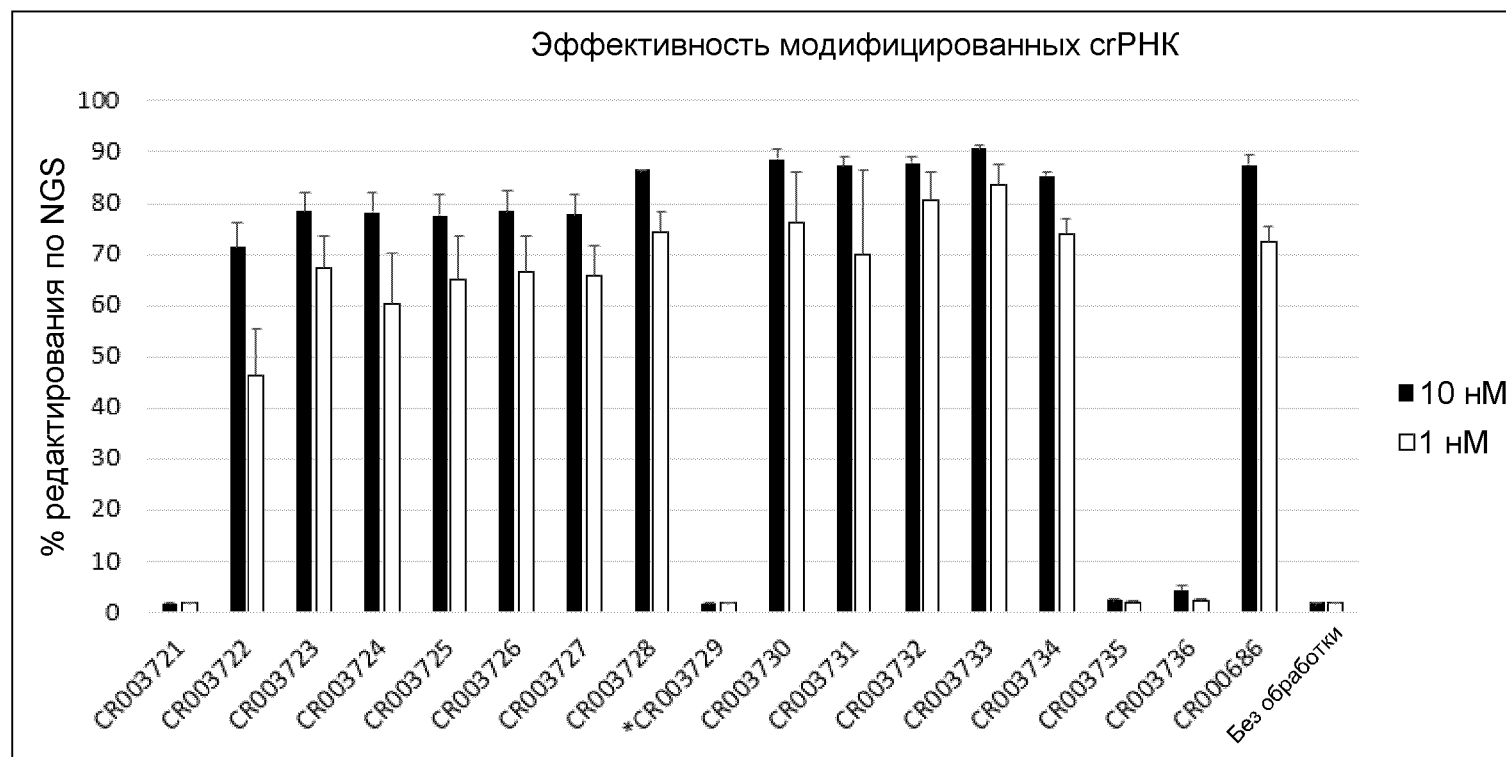
2.5 нМ

	TR000110	TR000111	TR000112	TR000113	TR000114	TR000115	TR000116	TR000117	TR000118	TR000119	TR000121	TR000002
CR003393	41.8 ± 6.2	50.4 ± 3.2	40.2 ± 4.7	43.4 ± 2	40.1 ± 4.8	43.1 ± 3.9	39.1 ± 4.2	43 ± 6	15.6 ± 3.1	34.9 ± 11.6	38.6 ± 2.2	
CR003394	45.4 ± 4.7	49.6 ± 7.9	43.9 ± 6.6	46.7 ± 5.6	40.4 ± 7.5	47.2 ± 6.9	46.8 ± 3.1	43.9 ± 2.4	13.7 ± 1.6	28.9 ± 4.3	35.9 ± 6.2	
CR003395	39 ± 10	56 ± 5.1	42.2 ± 3.5	48.2 ± 3.2	36 ± 2.8	47.4 ± 7.3	44.4 ± 5.9	41.6 ± 7	12 ± 1.4	25.8 ± 1	31.4 ± 1.8	
CR003396	34.8 ± 2.3	46.5 ± 0.4	42 ± 4.9	42.4 ± 1.8	32 ± 4	44.4 ± 5.5	41.1 ± 7.7	40.5 ± 5.1	20.7 ± 1.2	26 ± 1.2	42.4 ± 8.9	
CR003398	33.6 ± 3.3	47 ± 6.8	41.9 ± 2.6	41.9 ± 1.1	37.1 ± 4.1	43.2 ± 9.4	40.1 ± 3.9	42.9 ± 3.6	1.4 ± 0.1	34.2 ± 2	40.7 ± 7.4	
CR003402	31.2 ± 4.7	46.4 ± 5	38.5 ± 2.8	40.7 ± 3.5	29.9 ± 1.1	42.4 ± 6.6	31.7 ± 2.9	32.8 ± 4.6	7 ± 0.8	31.3 ± 2.1	46.8 ± 3.8	
CR003403	28 ± 4.3	38.3 ± 3.3	37.5 ± 4.4	36.4 ± 2.7	31.4 ± 4.6	34.6 ± 3.7	32.9 ± 4	35.8 ± 4.2	1.4 ± 0.1	34.6 ± 6.1	40.7 ± 6.6	
CR000686												21.7 ± 4.9

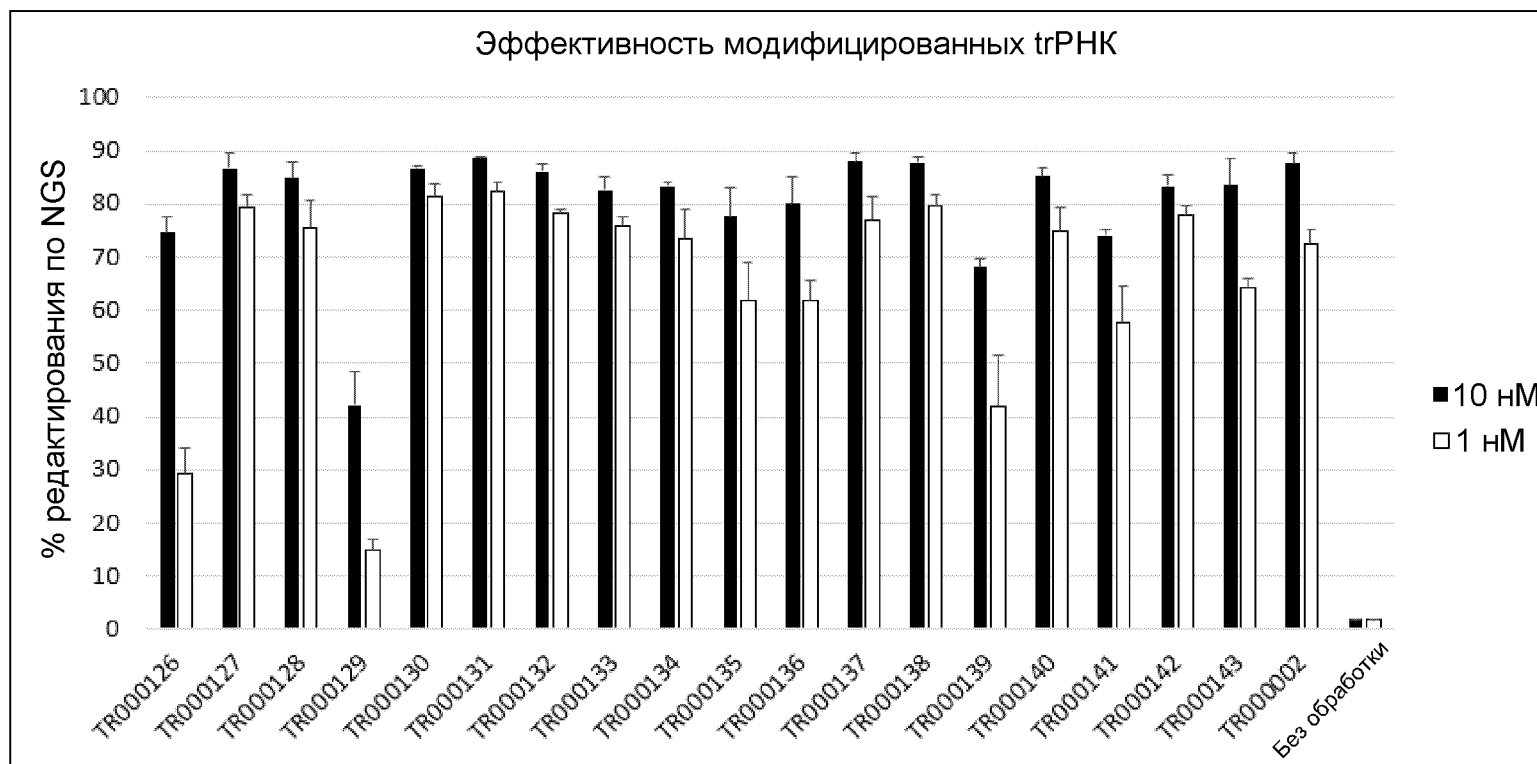
Фиг. 4



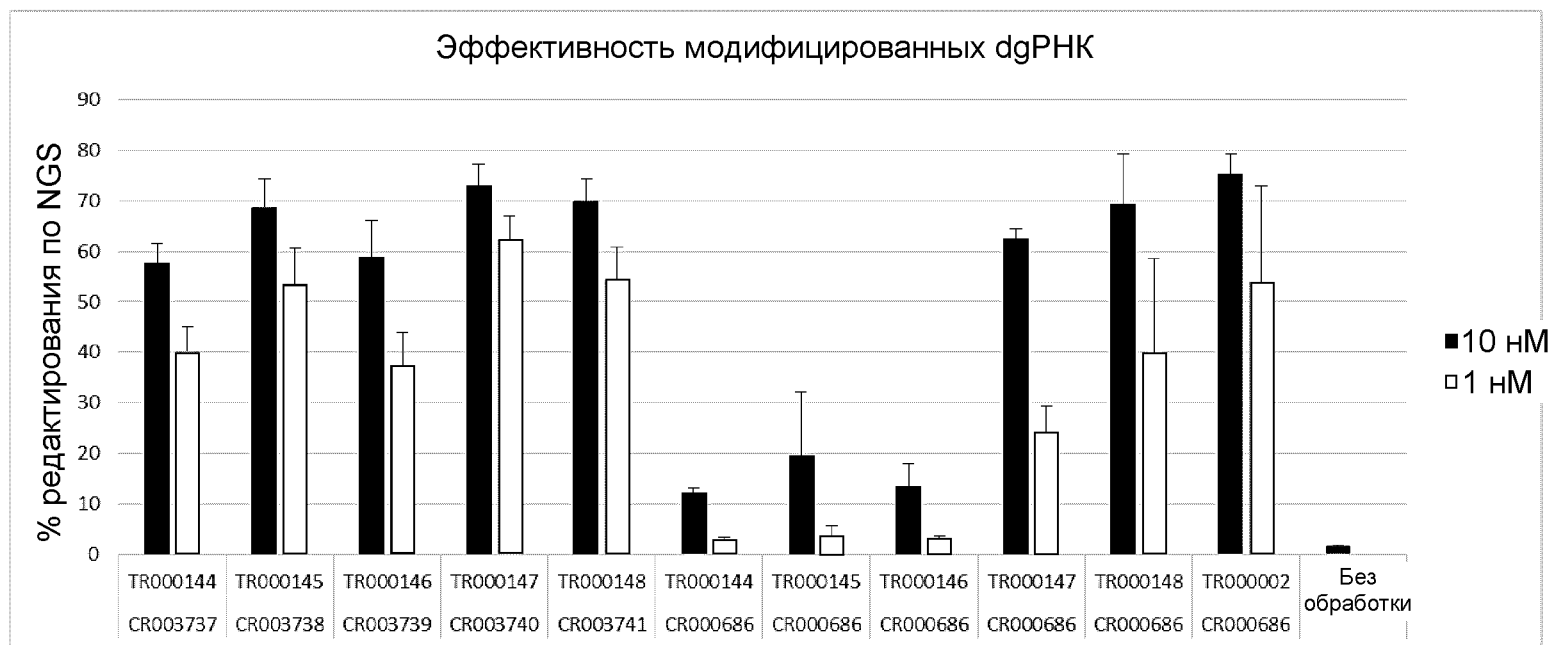
ФИГ. 5



ФИГ. 6



ФИГ. 7



ФИГ. 8

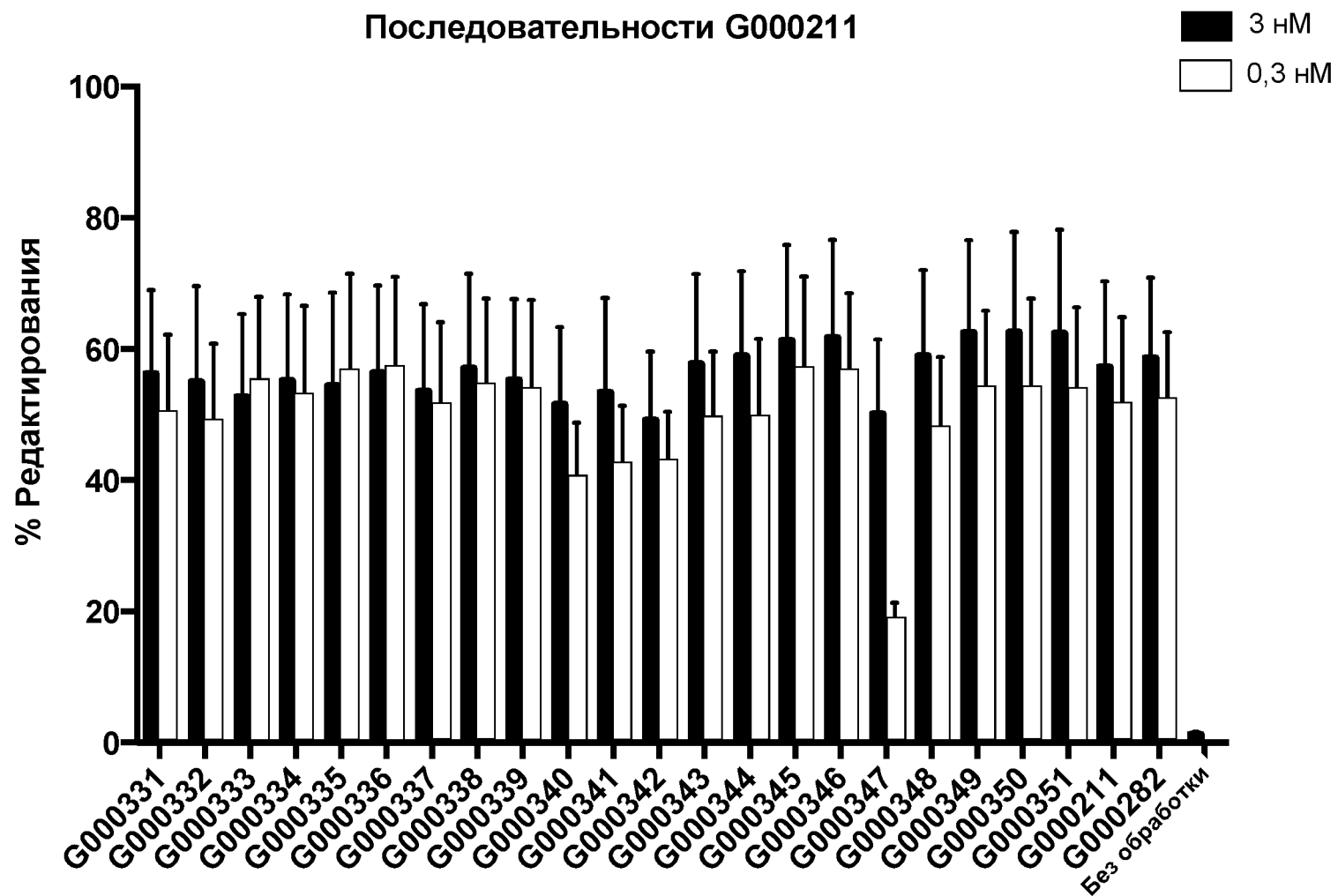
10 нМ

	TR000127	TR000128	TR000130	TR000134	TR000135	TR000136	TR000137	TR000138	TR000139	TR000142	TR000143	TR000002
CR003723	18 ± 13.8	22.8 ± 4.1	24 ± 2.6	26.9 ± 2.8	20.8 ± 5	22.2 ± 5.7	26.7 ± 5	23.6 ± 4.1	13.7 ± 2.4	22.3 ± 4.4	10.8 ± 2.2	18.5 ± 1.5
CR003725	28.4 ± 1.2	29.2 ± 4.2	27.9 ± 1.3	30.6 ± 3.4	26.1 ± 3.8	25.9 ± 4.4	30 ± 3	26.9 ± 2	18.5 ± 2.2	25.1 ± 0.9	23.1 ± 1.7	
CR003726	30.4 ± 1.1	31.3 ± 3.2	30.6 ± 2.9	32 ± 2.2	29.8 ± 2.5	29.9 ± 2.8	32.3 ± 1	28.7 ± 2.2	20.9 ± 2.4	27 ± 1.4	23.6 ± 2.3	24.9 ± 1.1
CR003727	31.6 ± 2.1	27 ± 2.7	29.6 ± 0.8	32.1 ± 1.3	26.7 ± 1.2	27.2 ± 5.2	31 ± 2	28.1 ± 0.7	19.2 ± 0.7	26.7 ± 2.1	22.5 ± 1.2	25.6 ± 3
CR003728	34.6 ± 2.4	2.4 ± 0.1	34.9 ± 2.6	37.7 ± 3.1	33.1 ± 2.1	33.1 ± 4	35.4 ± 0.9	32.4 ± 2.9	25.8 ± 4.8	30.7 ± 2.7	28.2 ± 2.2	28.6 ± 0.7
CR003729	34.8 ± 0.9	32.3 ± 1.5	33.8 ± 1.1	34.8 ± 2.5	29.8 ± 1.8	31.5 ± 3.6	32.6 ± 1.7	31 ± 1.9	25.4 ± 3.7	28.6 ± 0.5	25.6 ± 1.1	27.8 ± 0.6
CR003734	27.5 ± 0.3	21.5 ± 1.5	29.8 ± 1.6	29.5 ± 1.6	13.7 ± 2.1	14.6 ± 1.2	31 ± 2.4	28 ± 2.5	7 ± 1.1	25.5 ± 1.3	3.4 ± 0.1	22.7 ± 2.8
CR000686	23 ± 2.8	22.4 ± 3.9	23.6 ± 6.2	26.4 ± 1	22.2 ± 2	19.5 ± 1.1	24.6 ± 3	27.4 ± 2.6	12.2 ± 1.7	22.9 ± 1.8	20.2 ± 1.1	22.6 ± 3

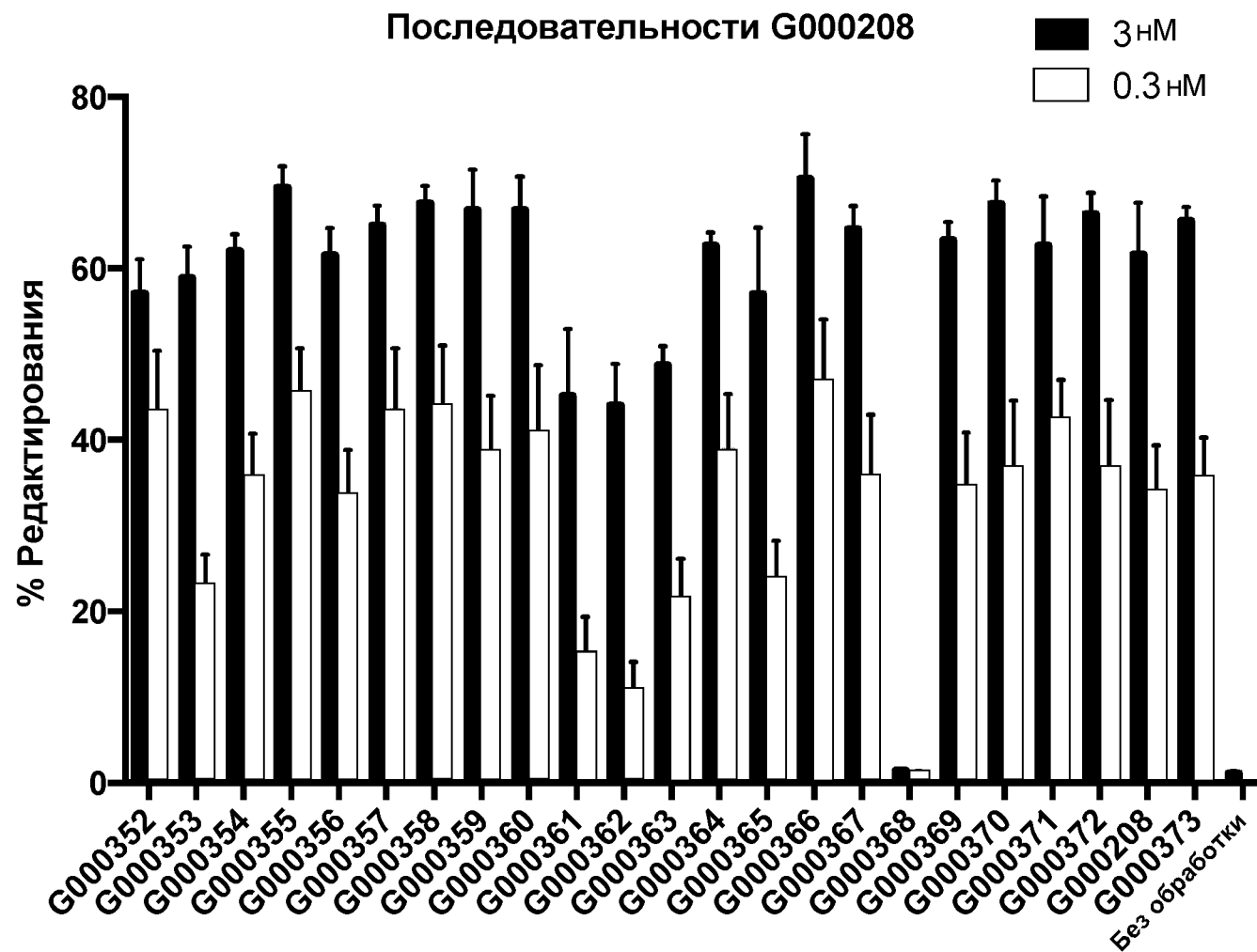
1 нМ

	TR000127	TR000128	TR000130	TR000134	TR000135	TR000136	TR000137	TR000138	TR000139	TR000142	TR000143	TR000002
CR003723	18.3 ± 14.1	16 ± 12.1	25.3 ± 0.8	22.5 ± 3.4	14.3 ± 10.6	17.5 ± 2	23.1 ± 3.8	21 ± 1.4	8.8 ± 1.4	18.3 ± 0.7	8.3 ± 1.5	14.6 ± 0.4
CR003725	26.9 ± 1.8	25.1 ± 4.1	25 ± 2.7	24.8 ± 2.3	23.1 ± 2.8	16.2 ± 12.1	17.3 ± 13.1	22.5 ± 1	15.2 ± 1.7	22.7 ± 1.5	19.7 ± 3.1	
CR003726	16.8 ± 12.9	26.4 ± 2	23.6 ± 2.6	25.2 ± 1.5	22.7 ± 3.4	20.7 ± 1.5	26.6 ± 1.4	20.4 ± 0.9	13.3 ± 0.3	21.6 ± 1.5	18.6 ± 0.5	17 ± 1
CR003727	24.1 ± 3.1	20.3 ± 1.4	21 ± 1.3	23.6 ± 2.6	19.7 ± 1.7	20.3 ± 1.4	15.3 ± 11.3	20.2 ± 1.5	11.7 ± 1.7	20.7 ± 0.7	15.1 ± 0.8	19.7 ± 4.2
CR003728	26.9 ± 0.8	2.4 ± 0.1	28.2 ± 2.4	27.9 ± 0.6	26.4 ± 3.2	22.9 ± 1.2	26.4 ± 1.9	24.8 ± 0.5	18.8 ± 1.8	23.3 ± 1.4	20.3 ± 1.1	23.4 ± 3.7
CR003729	26.3 ± 2.5	30.5 ± 4.6	28.3 ± 2.7	28.6 ± 2	25.3 ± 3.1	24.6 ± 1.6	25 ± 0.3	23.7 ± 0.6	17.1 ± 1.7	21.9 ± 0.5	21 ± 2	22 ± 2
CR003734	18.9 ± 5.3	15.2 ± 3	21.4 ± 1.7	20.1 ± 0.1	8.5 ± 1.7	7.4 ± 0.9	20.4 ± 0.8	20.4 ± 1.4	3 ± 0.1	19.3 ± 0.8	2.5 ± 0.3	17.3 ± 2.1
CR000686	16.2 ± 1	17.3 ± 3.4	18.3 ± 3.3	20.5 ± 5	15.4 ± 1.2	14.8 ± 3	18.9 ± 3.6	20.1 ± 1.7	7.9 ± 2.3	17.5 ± 3.3	15.4 ± 1	14.1 ± 1.6

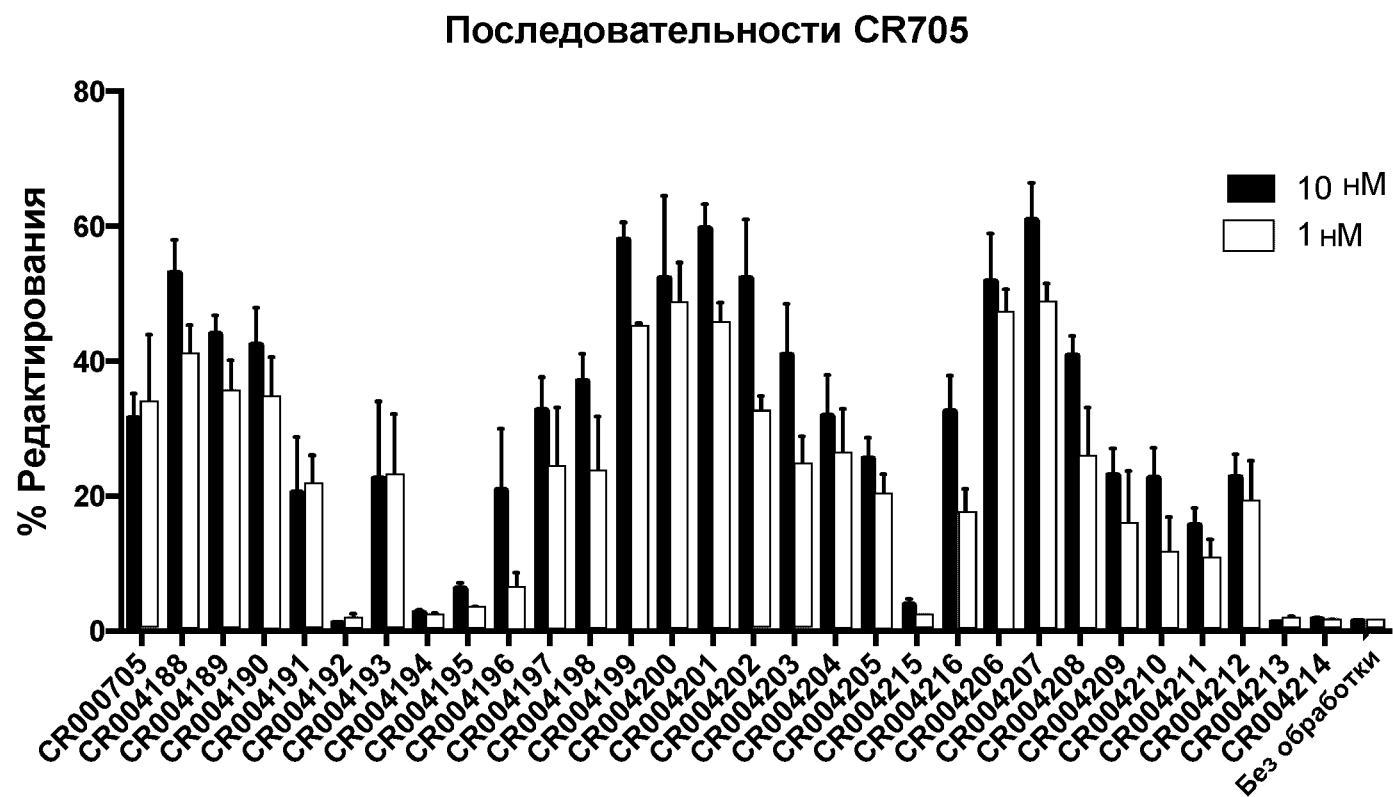
ФИГ. 9



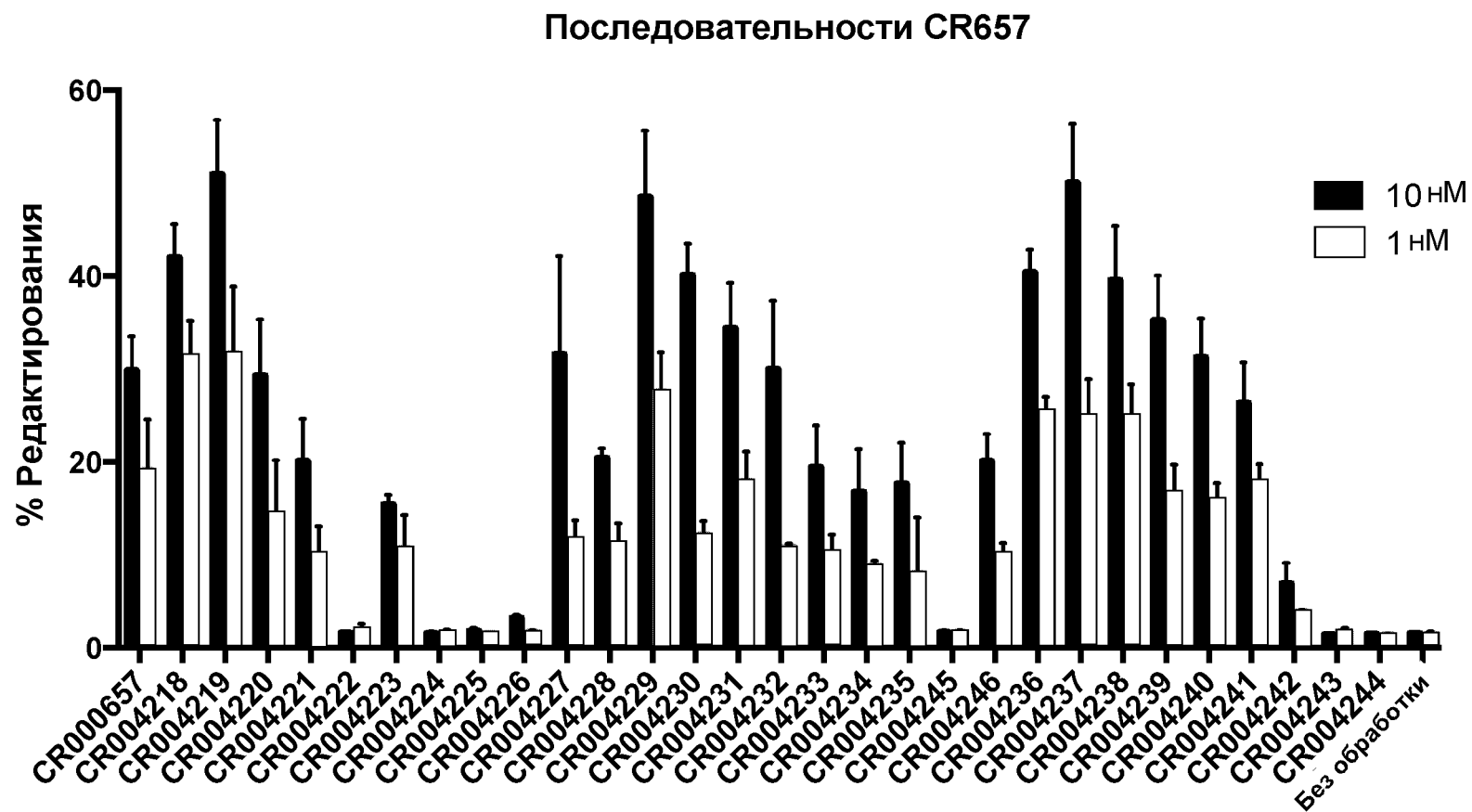
ФИГ. 10



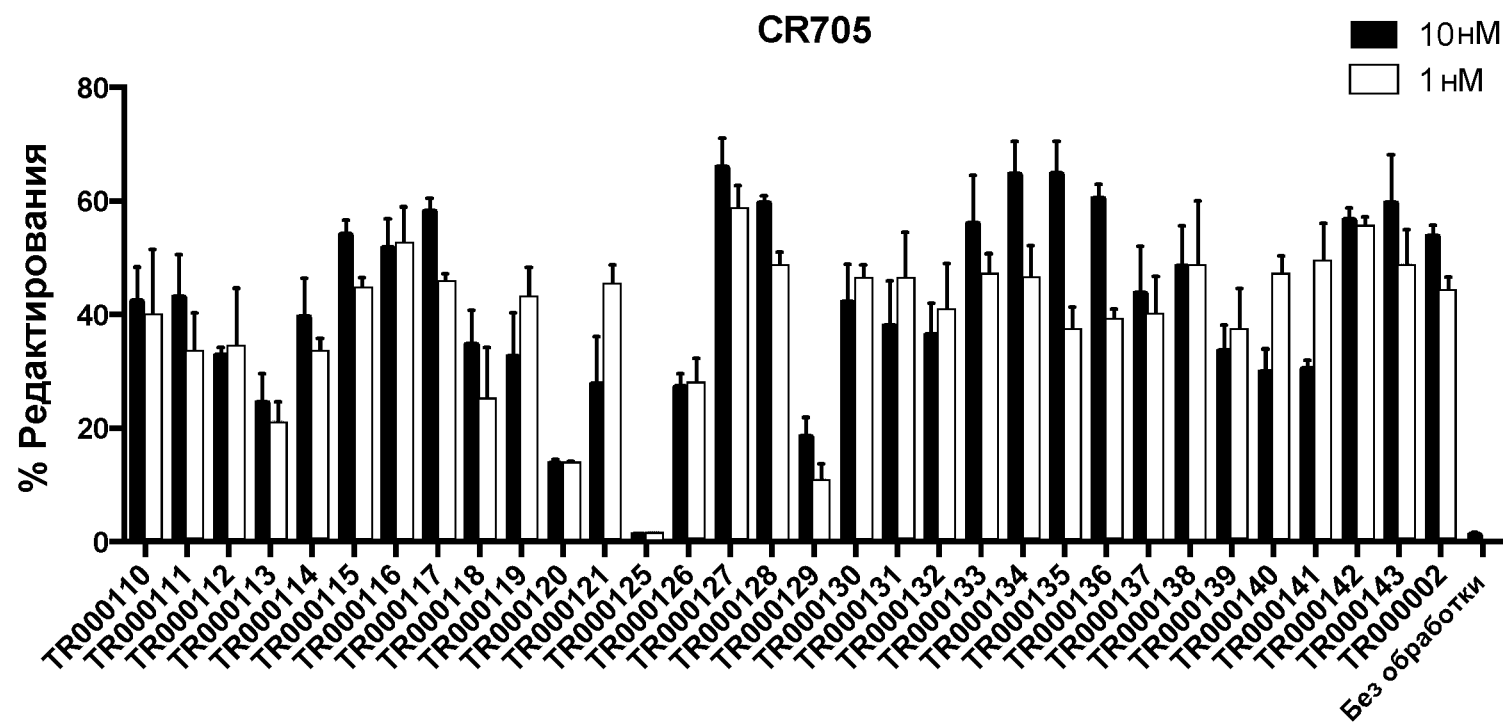
ФИГ. 11



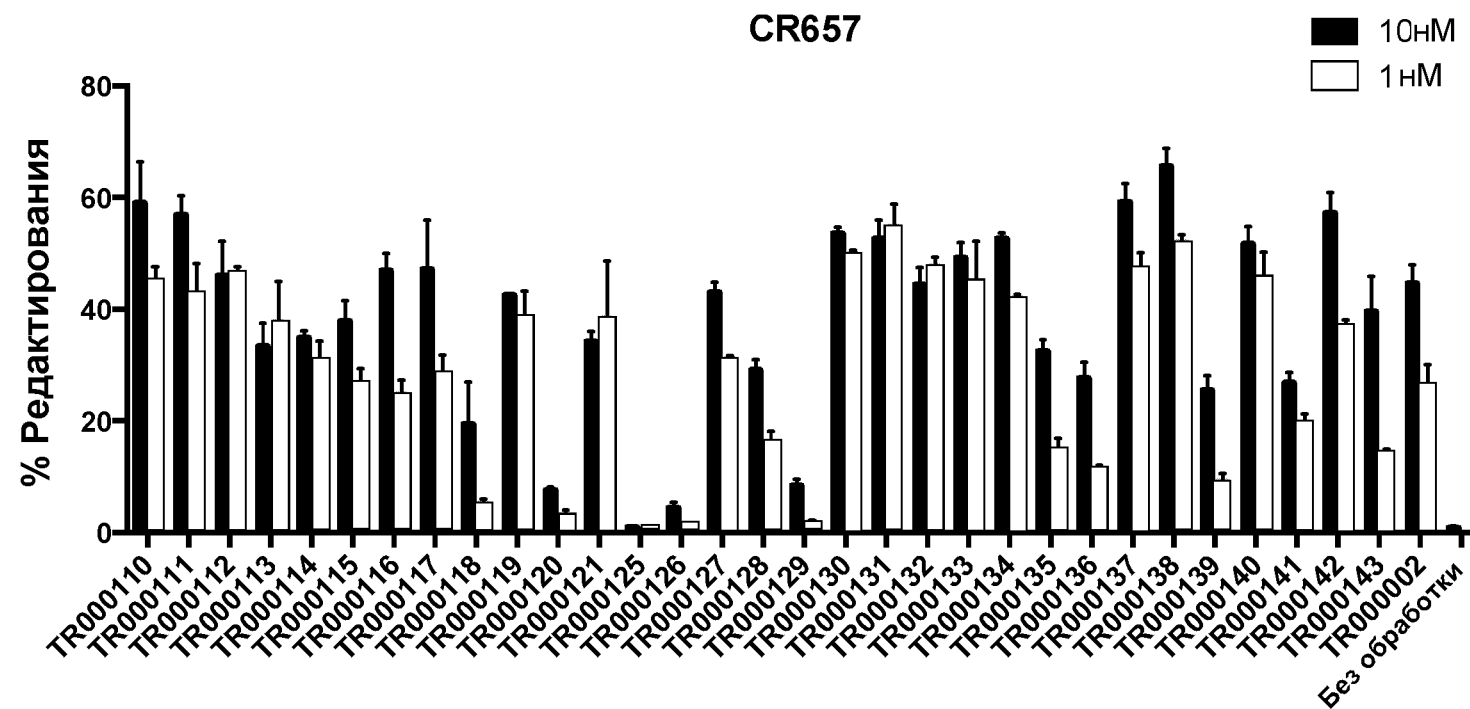
ФИГ. 12А



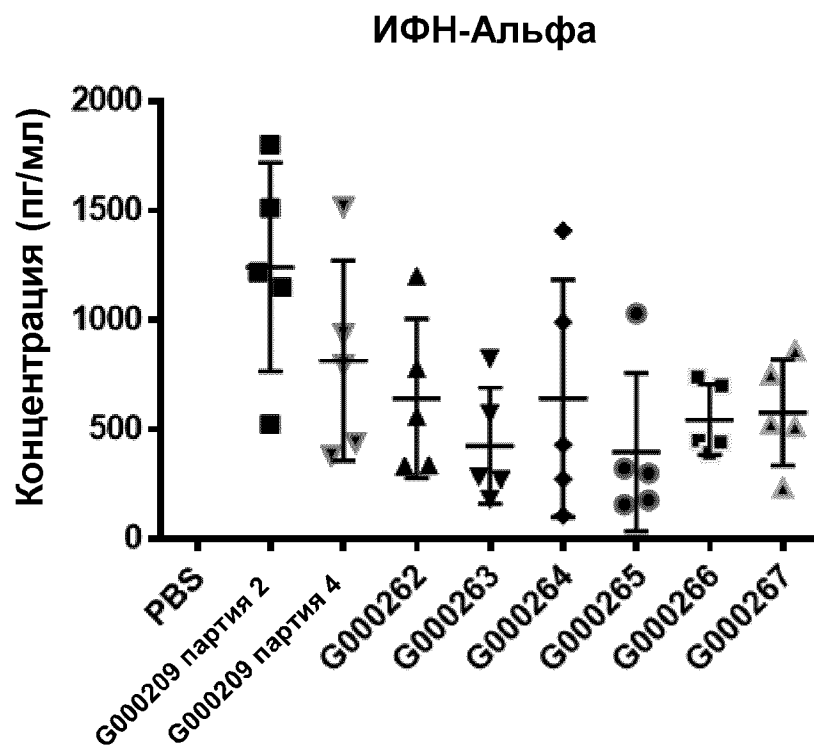
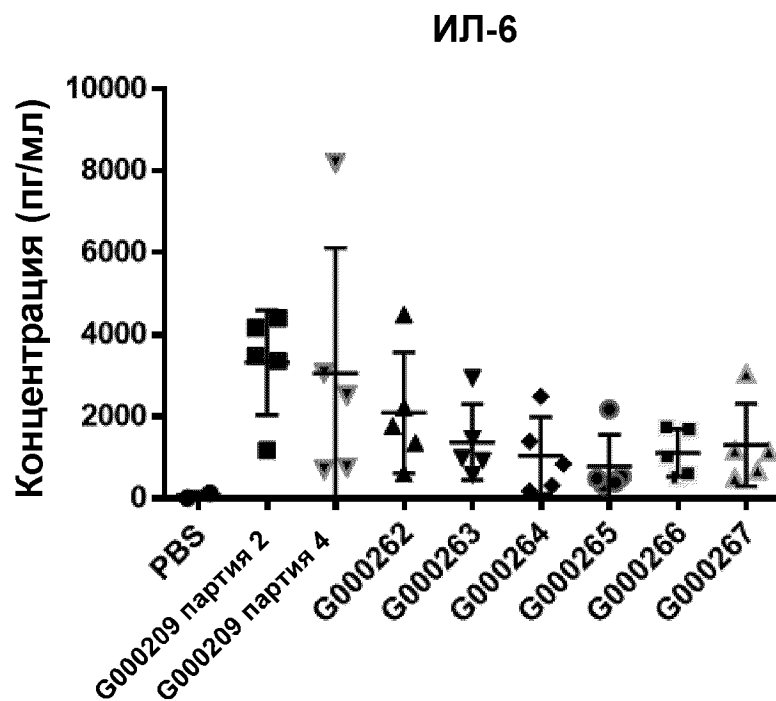
ФИГ. 12В

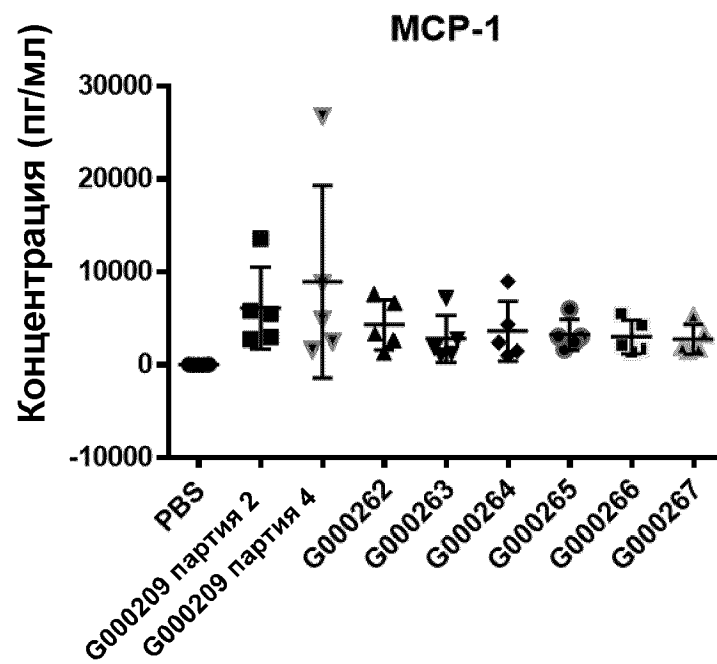
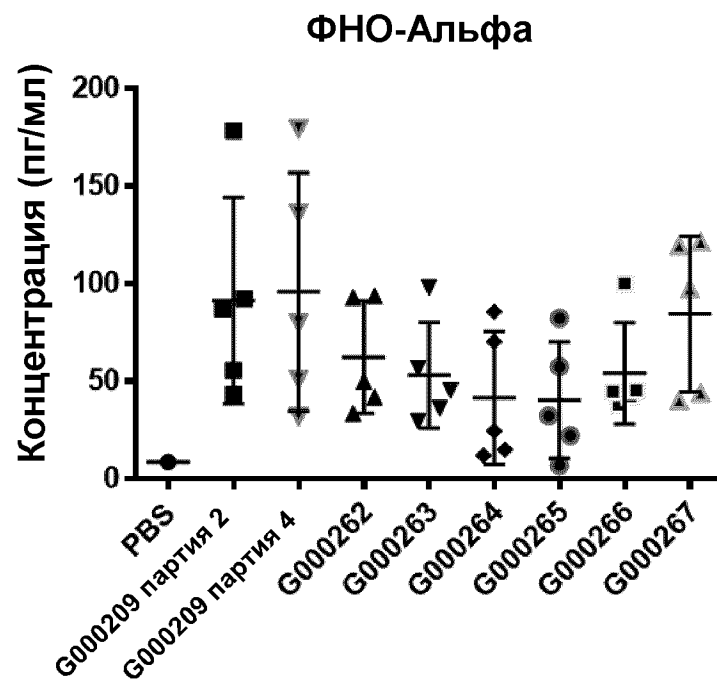


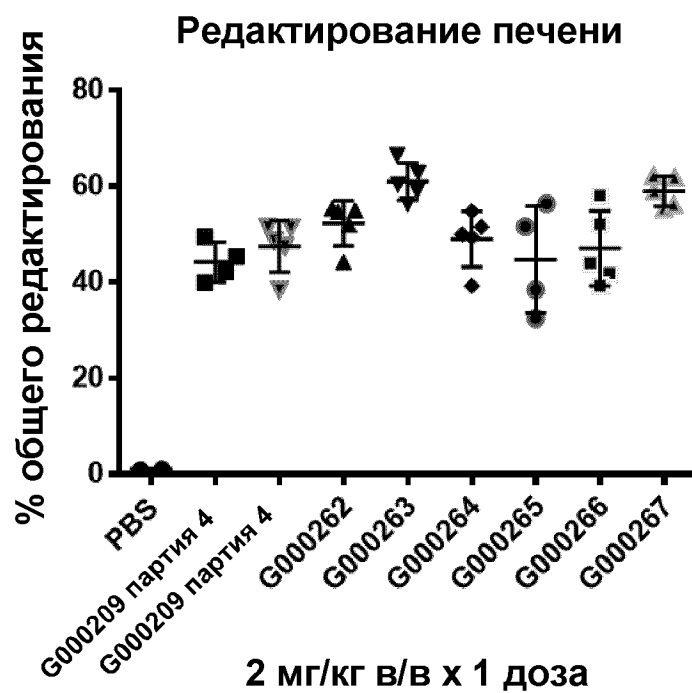
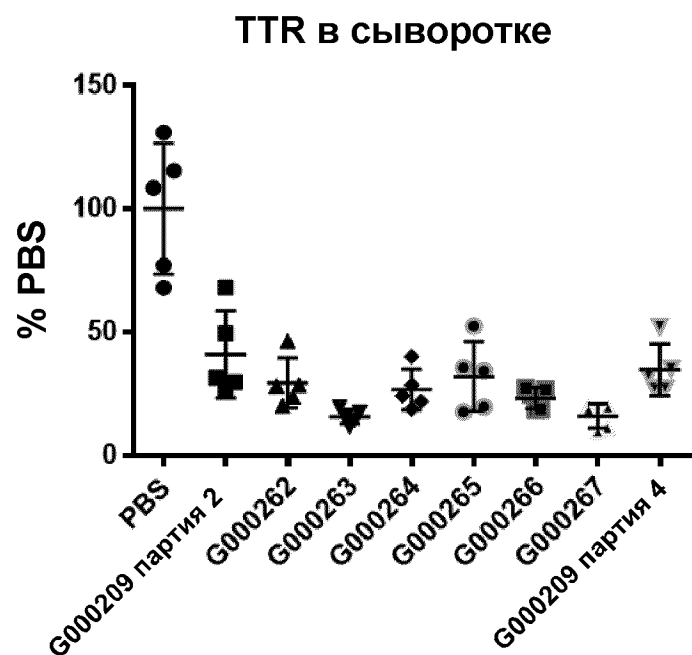
ФИГ. 13А



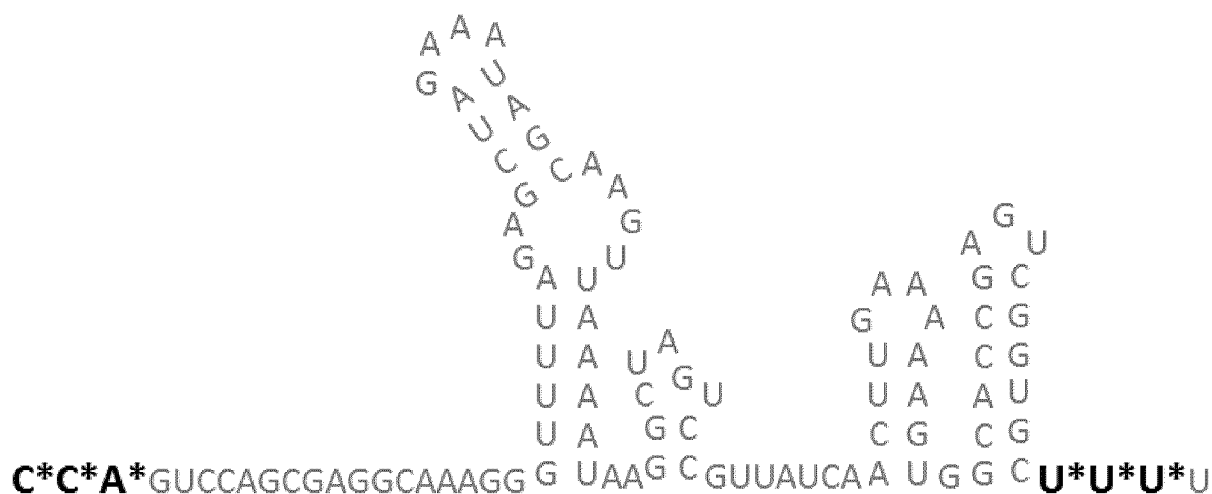
ФИГ. 13В

***ФИГ. 14А******ФИГ. 14В***

*ФИГ. 14С**ФИГ. 14D*

**ФИГ. 15А****ФИГ. 15В**

<i>Направляющая</i>	<i>Средний % Редактирования</i>	<i>Стандартное Отклонение</i>
<i>G209 партия №2</i>	<i>44.2</i>	<i>4.1</i>
<i>G209 партия №4</i>	<i>47.5</i>	<i>5.3</i>
<i>G262</i>	<i>52.2</i>	<i>4.7</i>
<i>G263</i>	<i>60.9</i>	<i>3.8</i>
<i>G264</i>	<i>48.9</i>	<i>5.8</i>
<i>G265</i>	<i>44.7</i>	<i>11.1</i>
<i>G266</i>	<i>47.0</i>	<i>7.8</i>
<i>G267</i>	<i>58.9</i>	<i>3.1</i>

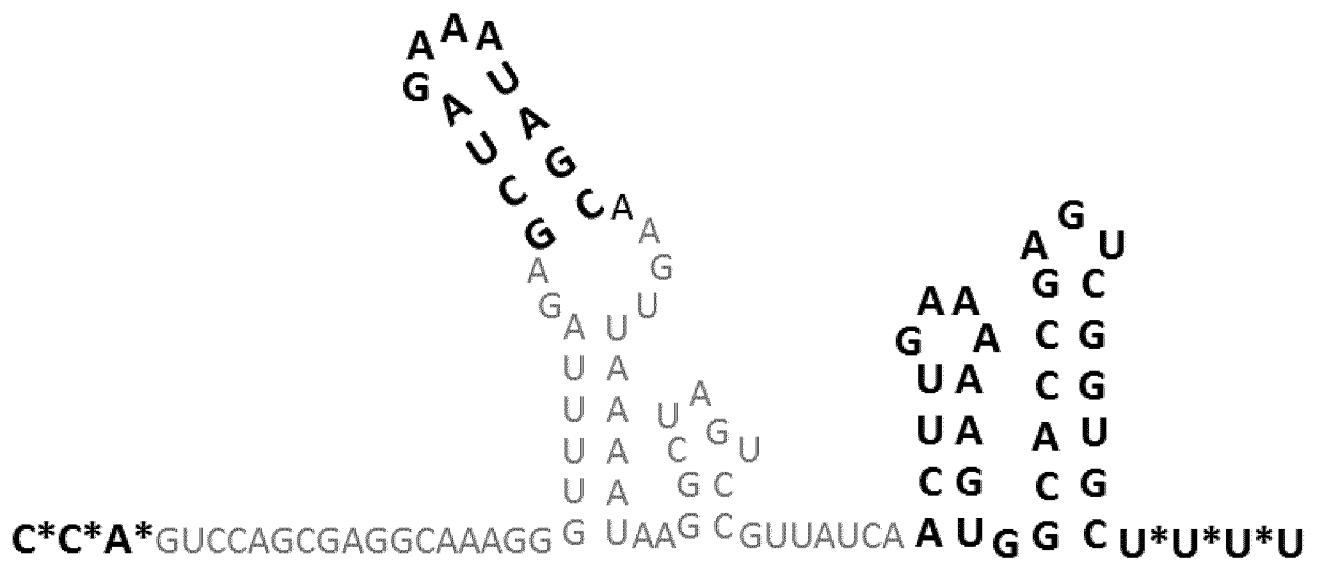
ФИГ. 15C

* = Фосфоротиаот

sgРНК с концевыми модификациями

G000209

ФИГ. 15D

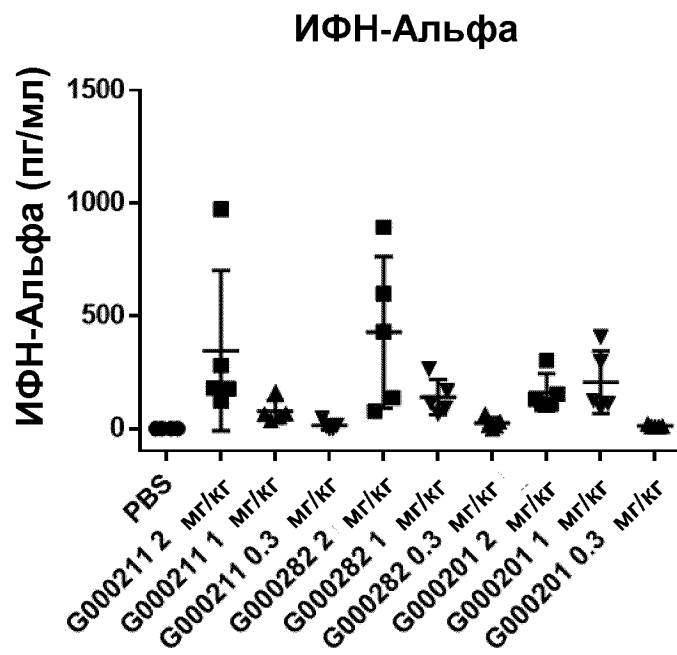
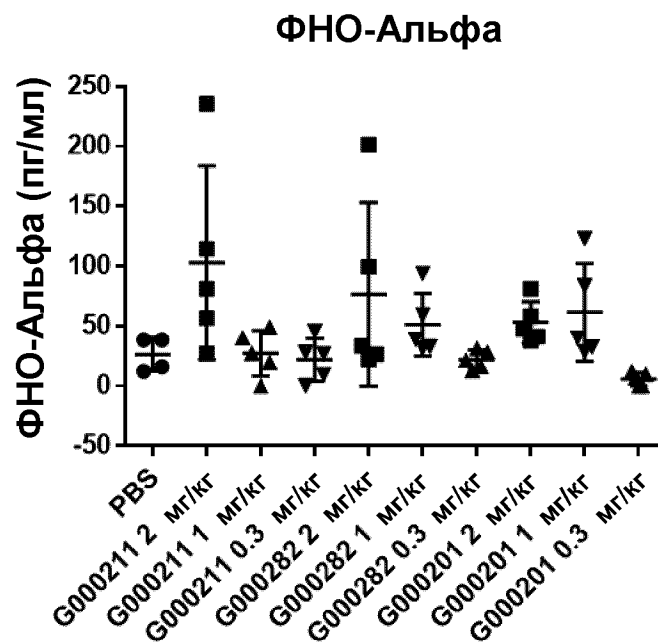


* = Фосфоротиоат

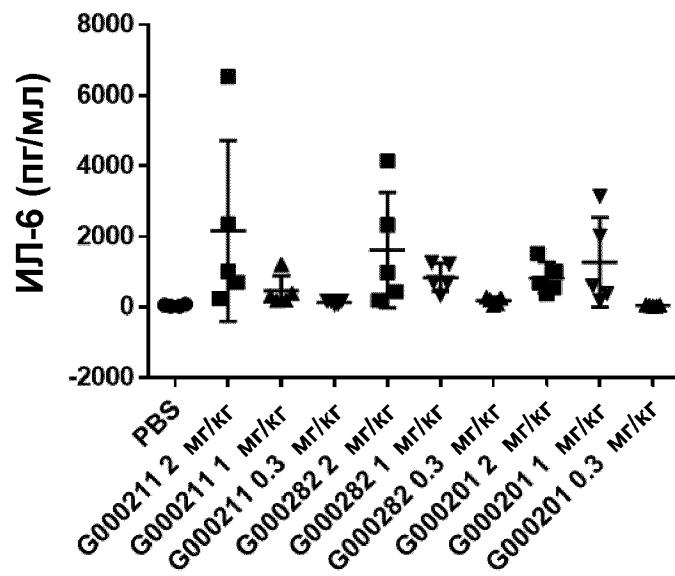
Сильно модифицированная sgРНК

G000267

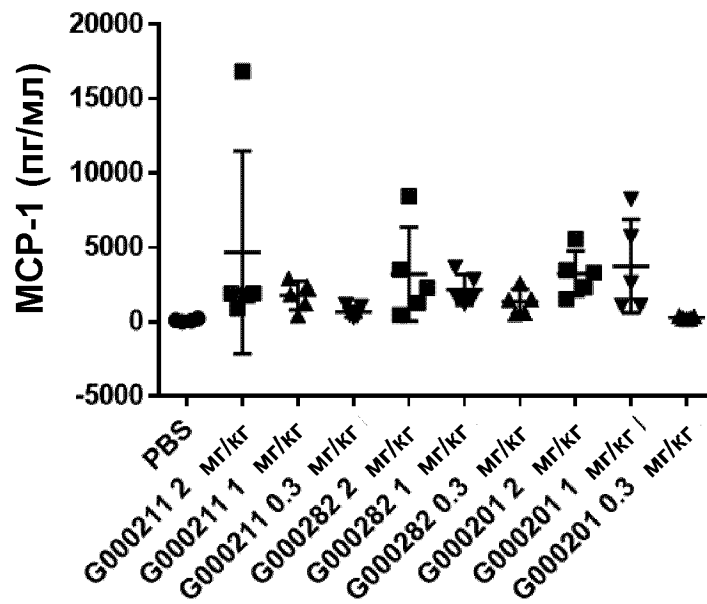
ФИГ. 15E

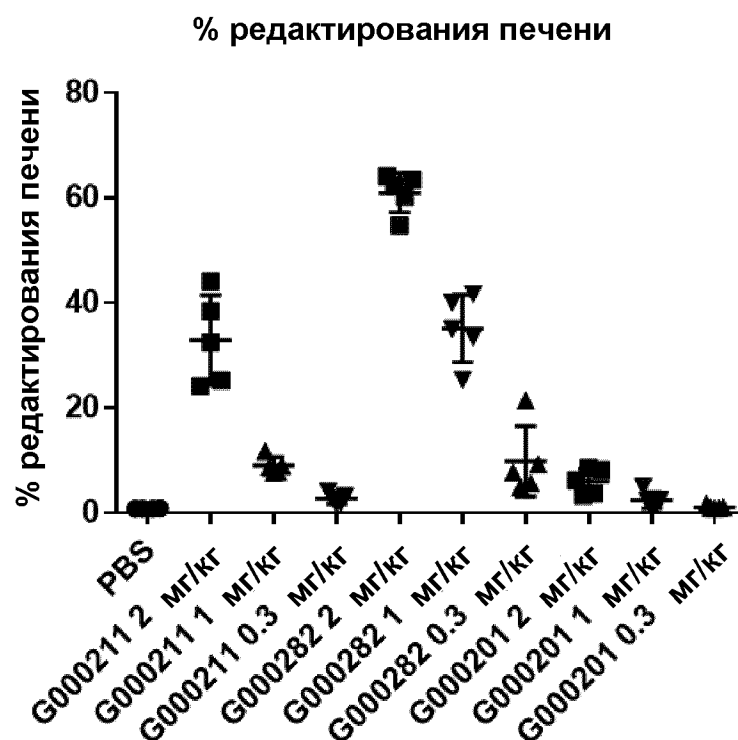
***ФИГ. 16А******ФИГ. 16В***

ИЛ-6

*ФИГ. 16С*

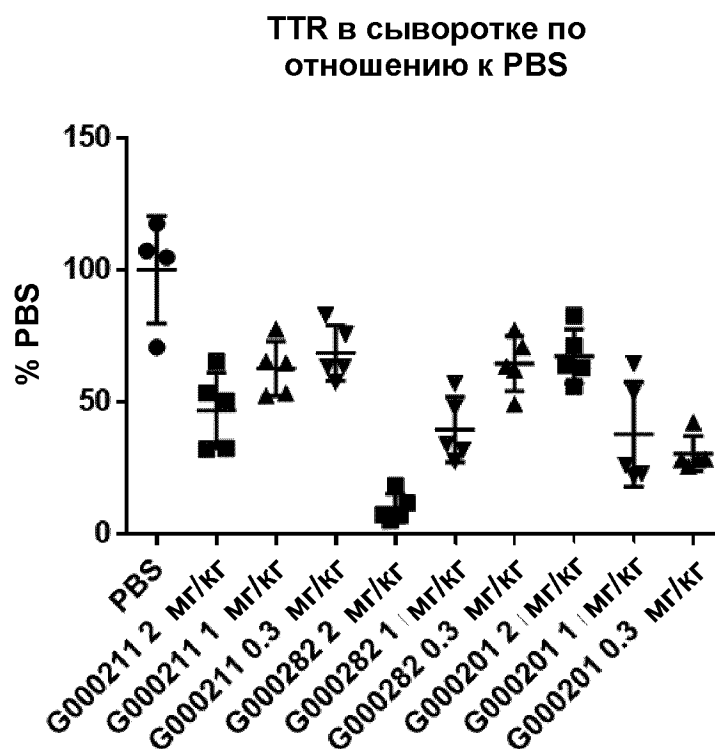
МСР-1

*ФИГ. 16D*

**ФИГ. 17А**

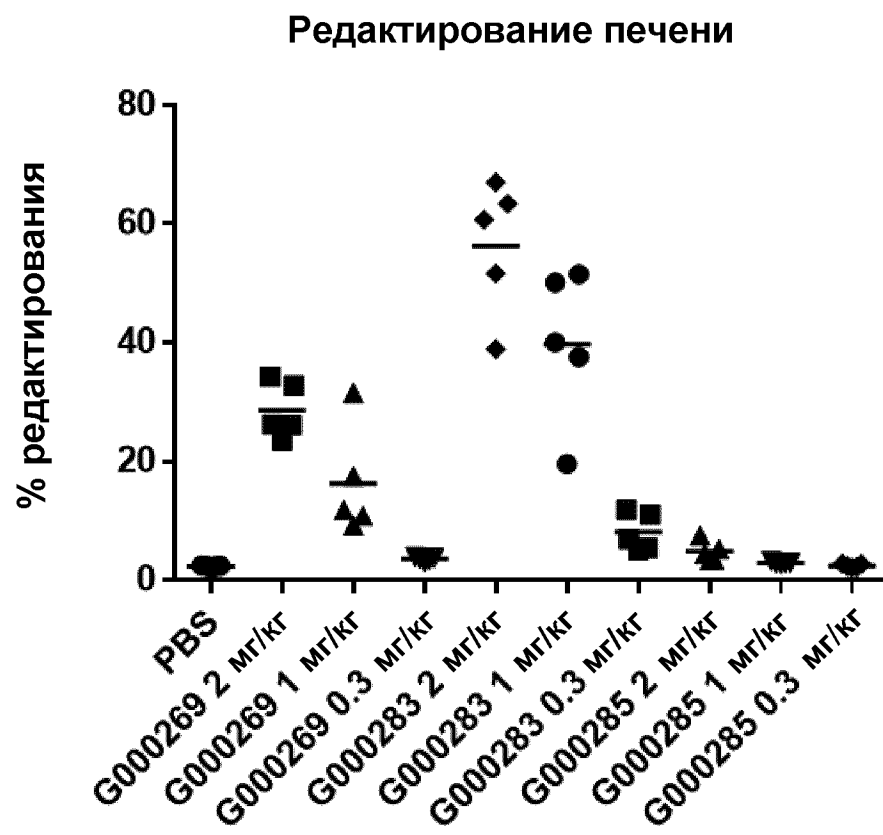
	Средний % Редактирования	Стандартное Отклонение
<i>PBS</i>	0.8370155	0.03184162
<i>G211 2 мг/кг</i>	32.89082	8.520595
<i>G211 1 мг/кг</i>	9.024511	1.640143
<i>G211 0.3 мг/кг</i>	2.762495	0.9668095
<i>G282 2 мг/кг</i>	60.99886	3.792423
<i>G282 1 мг/кг</i>	35.13641	6.434229
<i>G282 0.3 мг/кг</i>	9.812781	6.713302
<i>G284 2 мг/кг</i>	6.007987	2.434861
<i>G284 1 мг/кг</i>	2.413099	1.540902
<i>G284 0.3 мг/кг</i>	1.130903	0.3189707

ФИГ. 17В

**ФИГ. 17С**

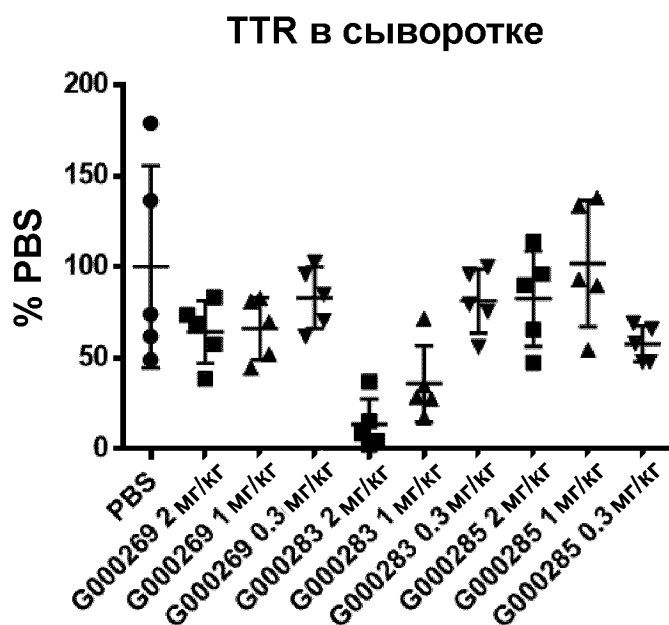
	Средний % Снижения TTR	Стандартное Отклонение
<i>PBS</i>	100.000	20.31276
<i>G211 2 мг/кг</i>	46.73565	14.33137
<i>G211 1 мг/кг</i>	62.66805	10.30656
<i>G211 0.3 мг/кг</i>	68.51203	10.40399
<i>G282 2 мг/кг</i>	9.890765	5.288372
<i>G282 1 мг/кг</i>	39.58118	12.35095
<i>G282 0.3 мг/кг</i>	64.59702	10.51861
<i>G284 2 мг/кг</i>	67.28742	10.217
<i>G284 1 мг/кг</i>	37.76873	19.77835
<i>G284 0.3 мг/кг</i>	30.4822	6.612638

ФИГ. 17D

***ФИГ. 18А***

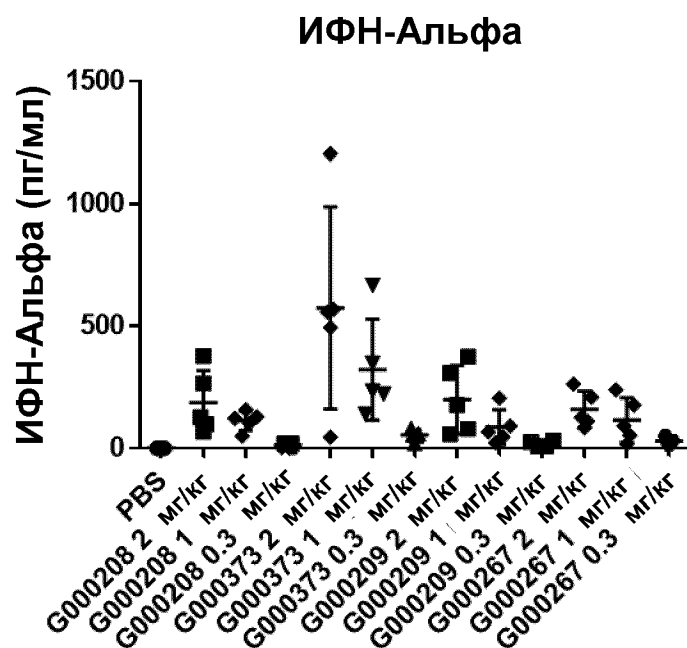
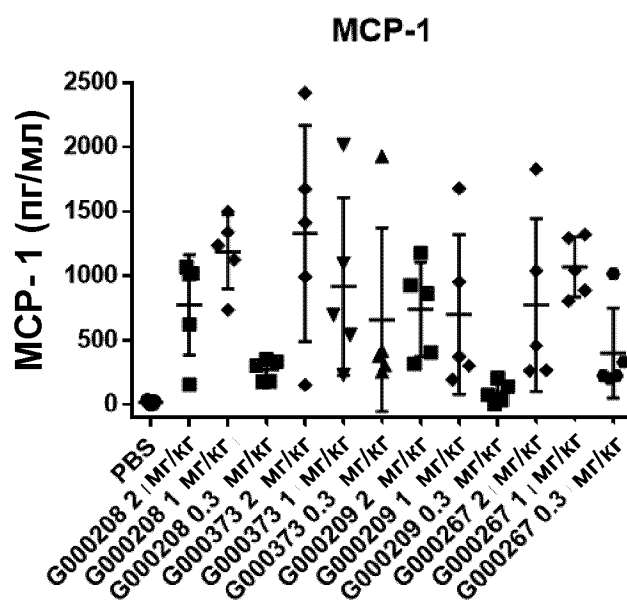
Направляющая	Доза	Средний % Редактирования
PBS		2.38
G269	2 мг/кг	28.57
	1 мг/кг	16.21
	0.3 мг/кг	3.54
G283	2 мг/кг	56.32
	1 мг/кг	39.73
	0.3 мг/кг	8.08
G285	2 мг/кг	4.80
	1 мг/кг	2.90
	0.3 мг/кг	2.44

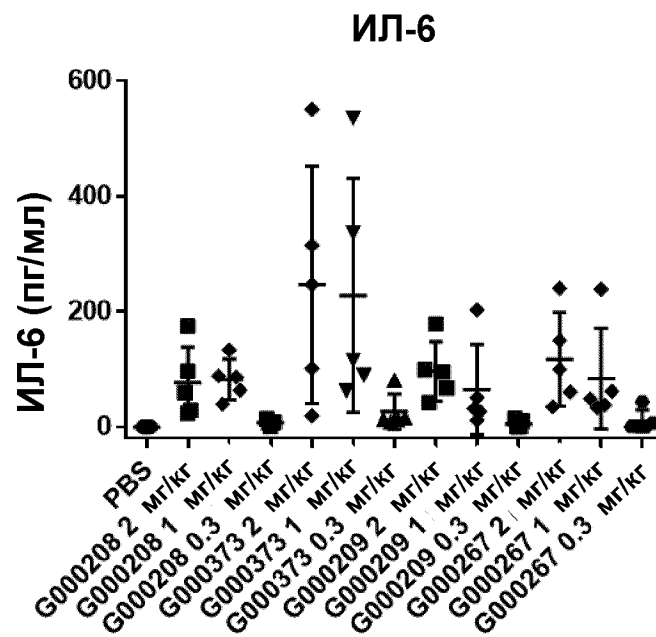
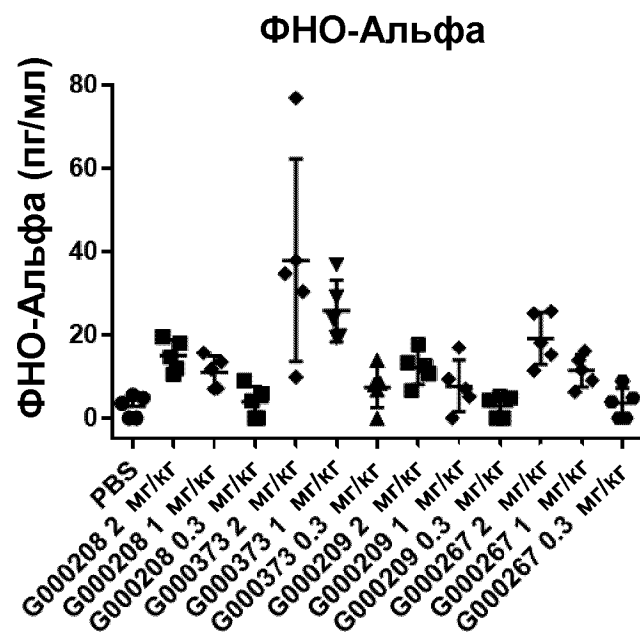
ФИГ. 18В



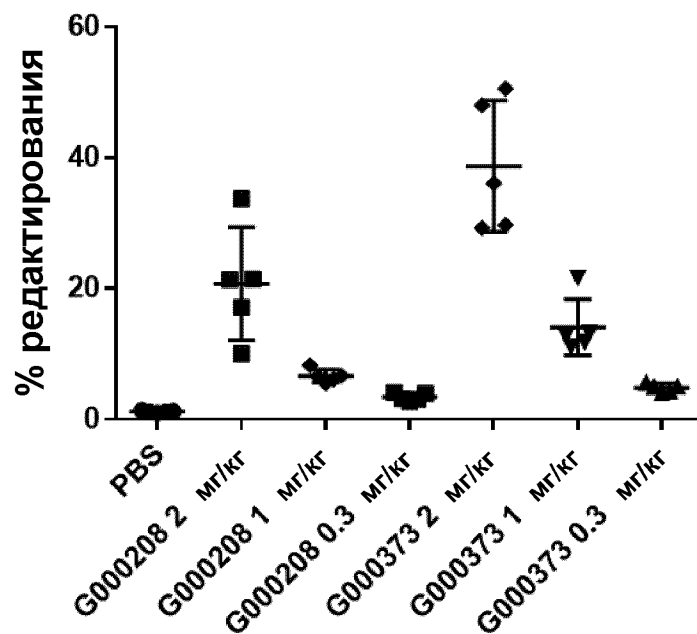
Уровень BLOD в сыворотке
для 2 животных, получивших
G000283 в дозе 2 мг/кг

ФИГ. 18С

***ФИГ. 19А******ФИГ. 19В***

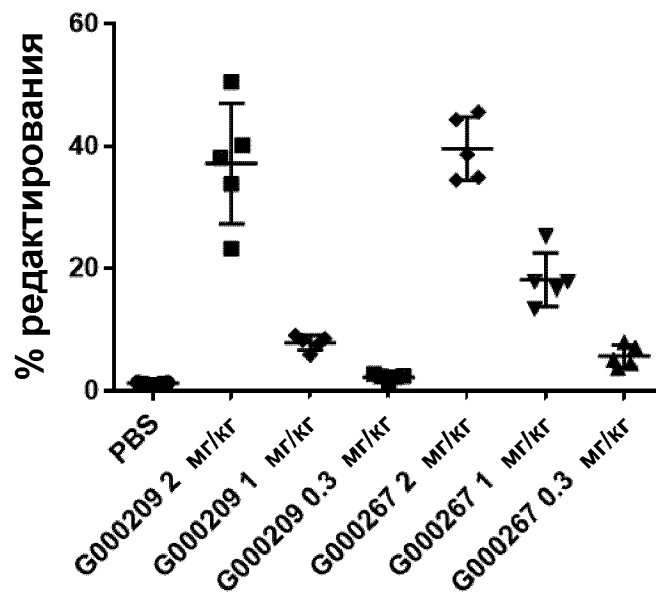
*ФИГ. 19С**ФИГ. 19D*

Редактирование в печени полокосу FVII

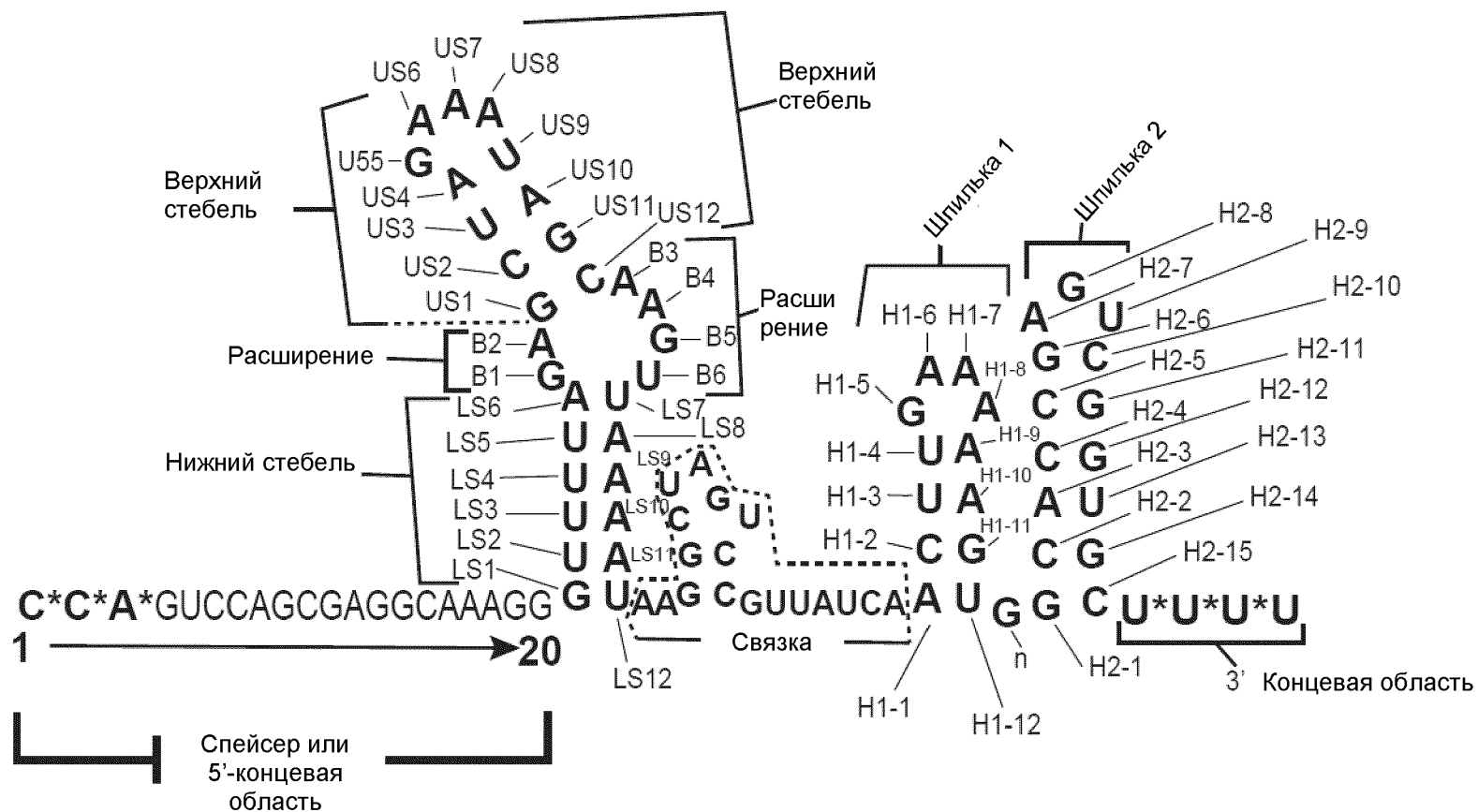


ФИГ. 20А

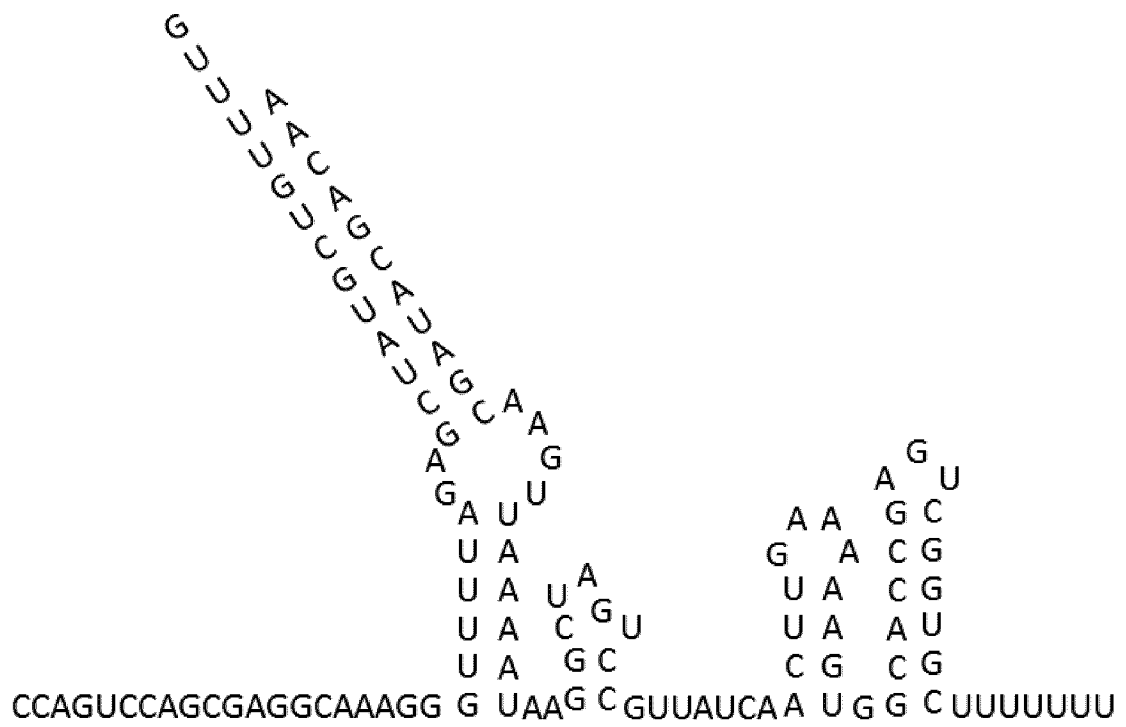
Редактирование в печени полокосу TTR



ФИГ. 20В

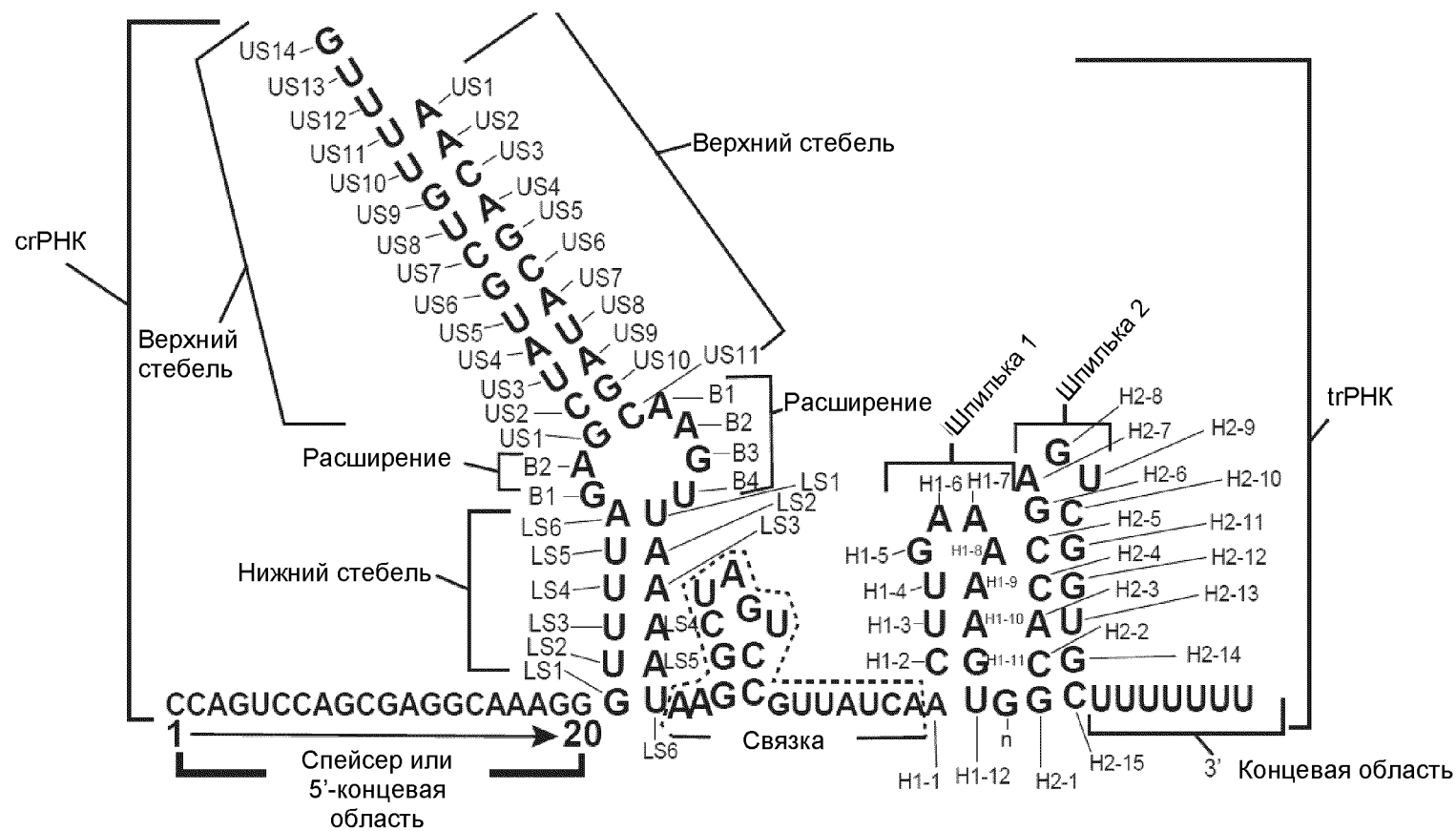


ФИГ. 21А



dgPHK
CR000686 + TR000002

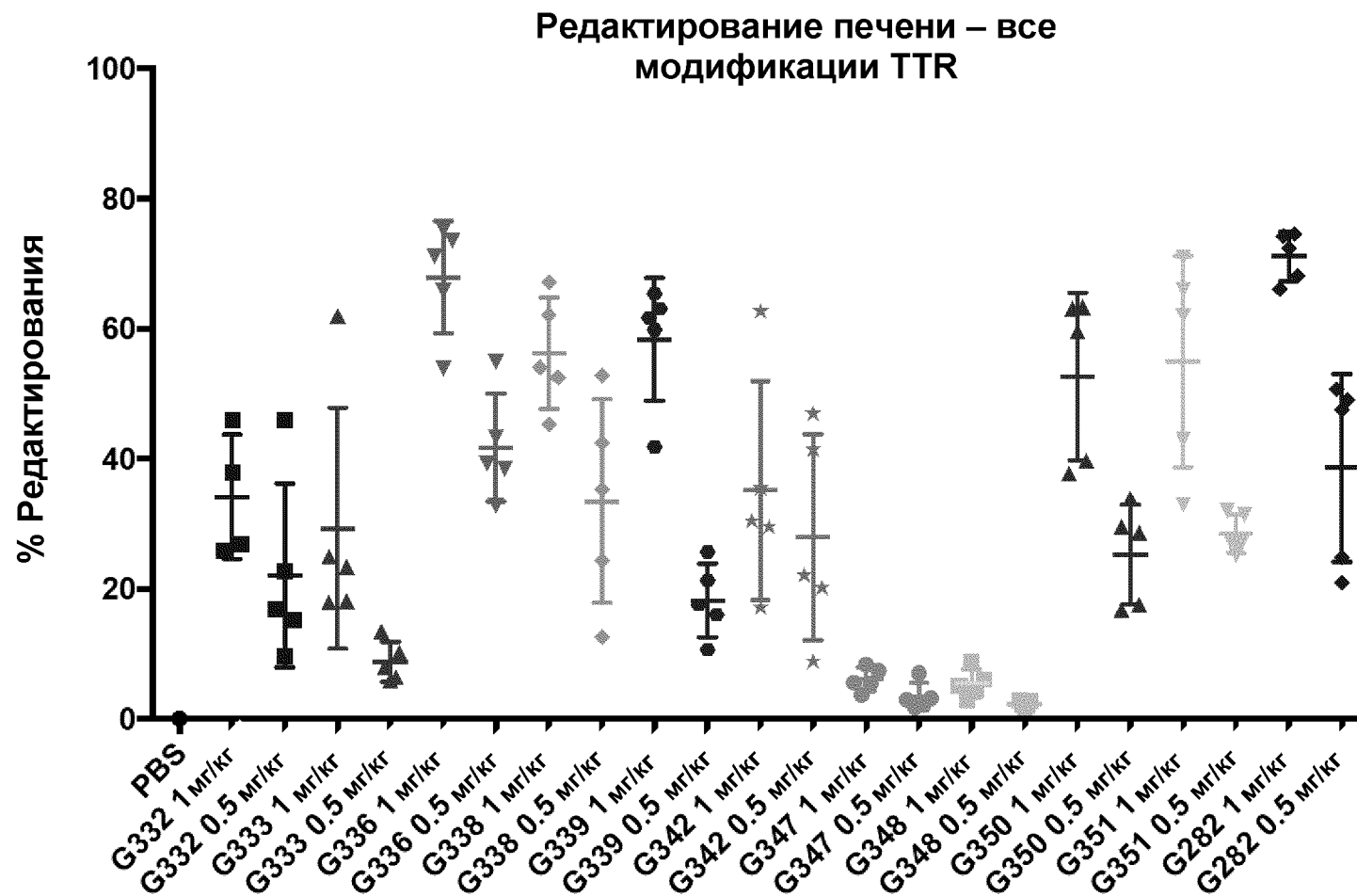
ФИГ. 21В



dgPHK

CR000686 + TR000002

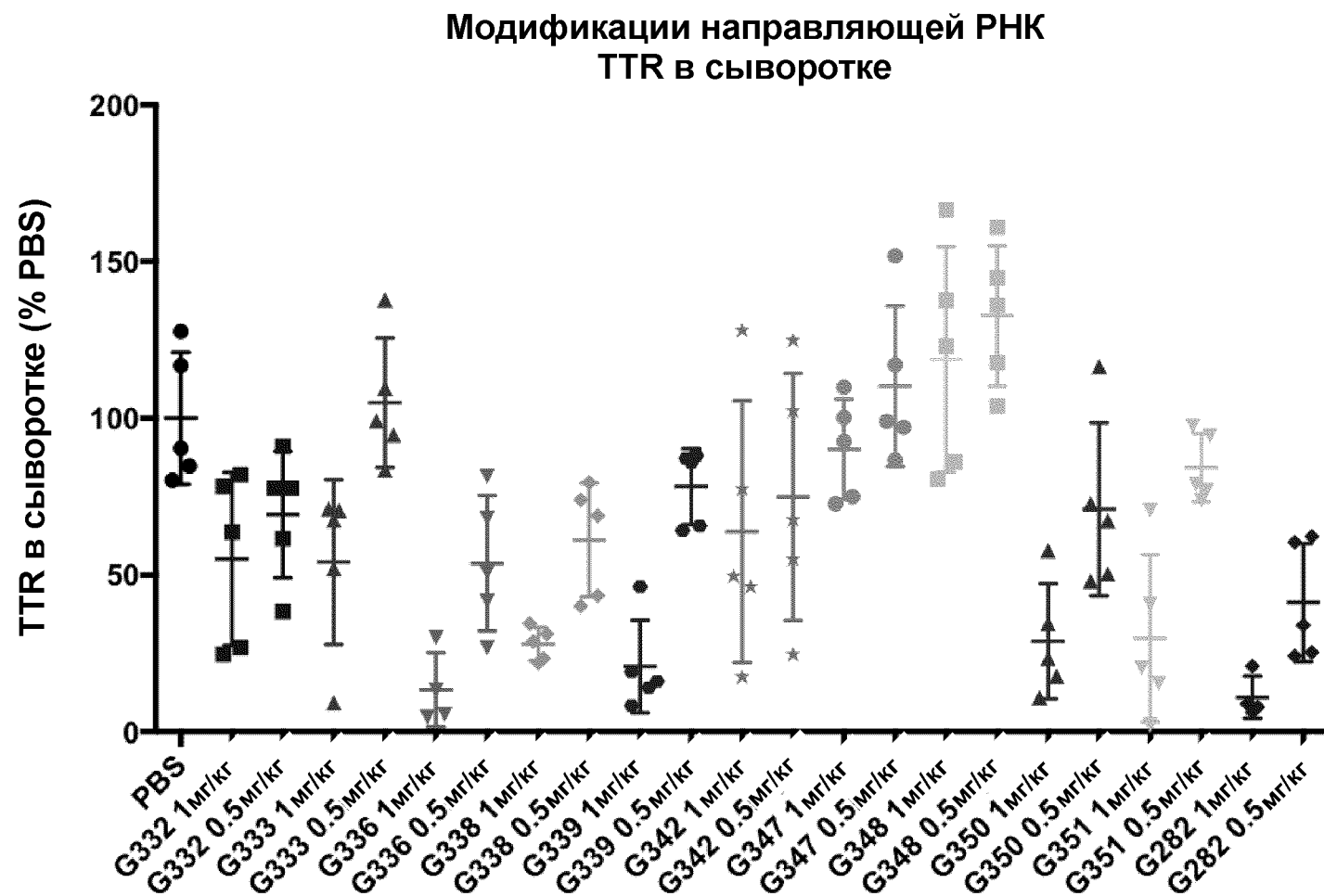
ФИГ. 21С



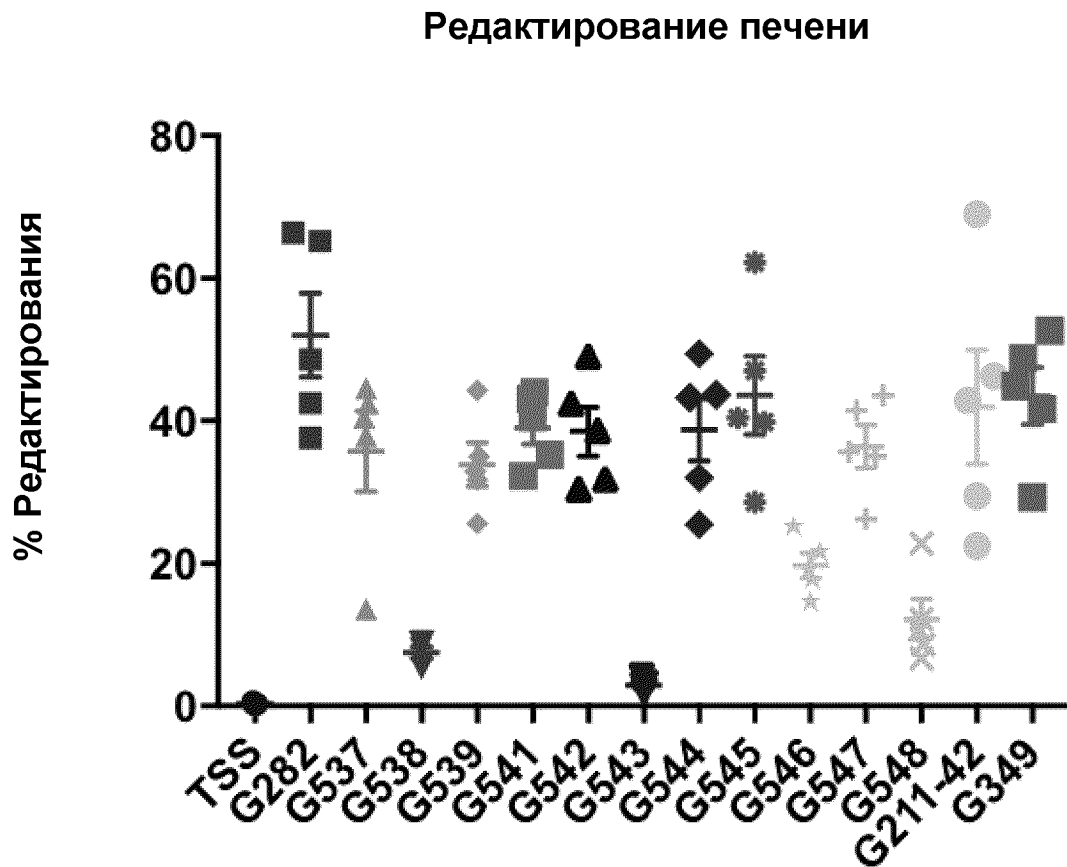
ФИГ. 22А

Группа	Средний % Редактирования	Станд. Откл.
PBS	0	0
G332 1 мг/кг	34.14	9.575
G332 0.5 мг/кг	22.08	14.13
G333 1 мг/кг	29.28	18.53
G333 0.5 мг/кг	8.801	3.082
G336 1 мг/кг	67.92	8.609
G336 0.5 мг/кг	41.72	8.277
G338 1 мг/кг	56.25	8.561
G338 0.5 мг/кг	33.48	15.63
G339 1 мг/кг	58.36	9.444
G339 0.5 мг/кг	18.23	5.654
G342 1 мг/кг	35.12	16.84
G342 0.5 мг/кг	27.94	15.83
G347 1 мг/кг	6.073	1.825
G347 0.5 мг/кг	3.399	2.13
G348 1 мг/кг	5.464	2.171
G348 0.5 мг/кг	2.333	0.448
G350 1 мг/кг	52.66	12.88
G350 0.5 мг/кг	25.27	7.695
G351 1 мг/кг	54.94	16.24
G351 0.5 мг/кг	28.52	3.014
G282 1 мг/кг	71.08	3.789
G282 0.5 мг/кг	38.6	14.45

ФИГ. 22В



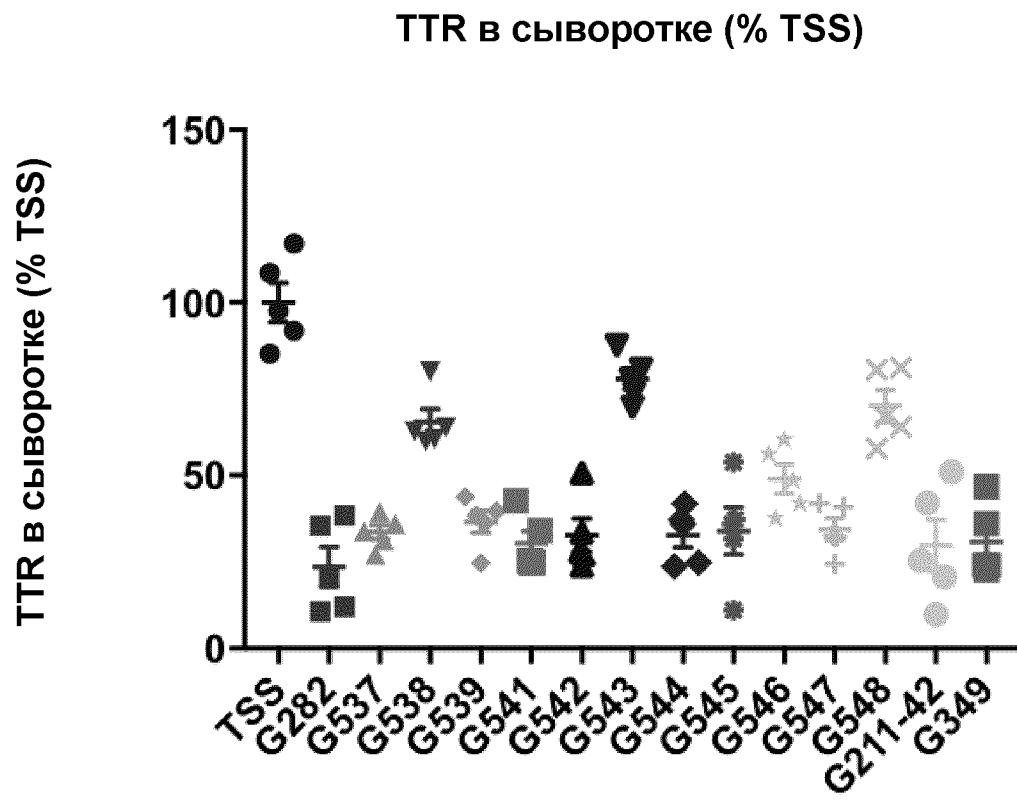
ФИГ. 22С

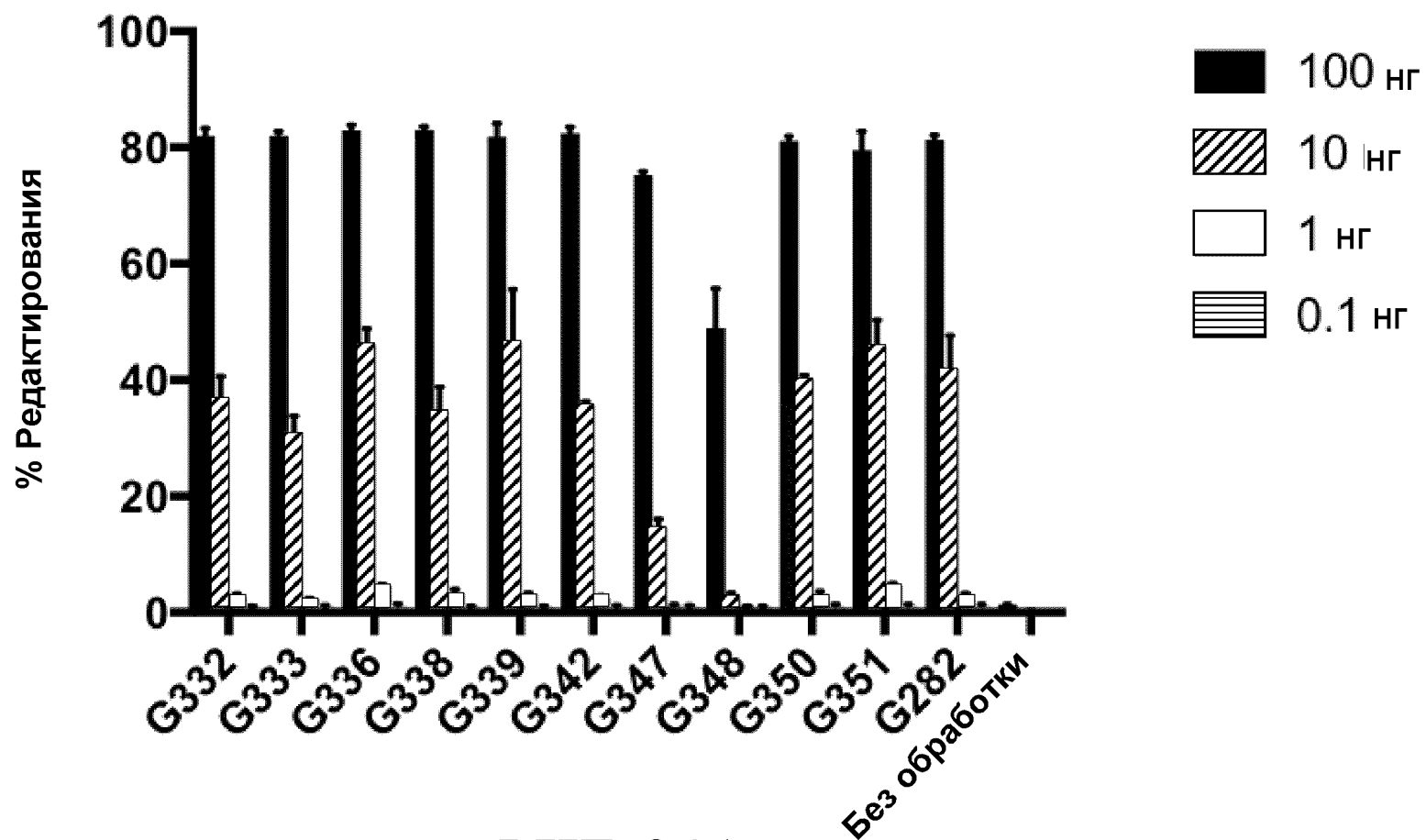


ФИГ. 23А

<i>Направляющая</i>	<i>Средний % Редактирования</i>
<i>TSS</i>	<i>0.32</i>
<i>G282</i>	<i>52.06</i>
<i>G537</i>	<i>35.78</i>
<i>G538</i>	<i>7.5</i>
<i>G539</i>	<i>33.9</i>
<i>G541</i>	<i>39.04</i>
<i>G542</i>	<i>38.54</i>
<i>G543</i>	<i>2.96</i>
<i>G544</i>	<i>38.78</i>
<i>G545</i>	<i>43.6</i>
<i>G546</i>	<i>19.74</i>
<i>G547</i>	<i>36.44</i>
<i>G548</i>	<i>12.2</i>
<i>G211-42</i>	<i>42.04</i>
<i>G349</i>	<i>43.48</i>

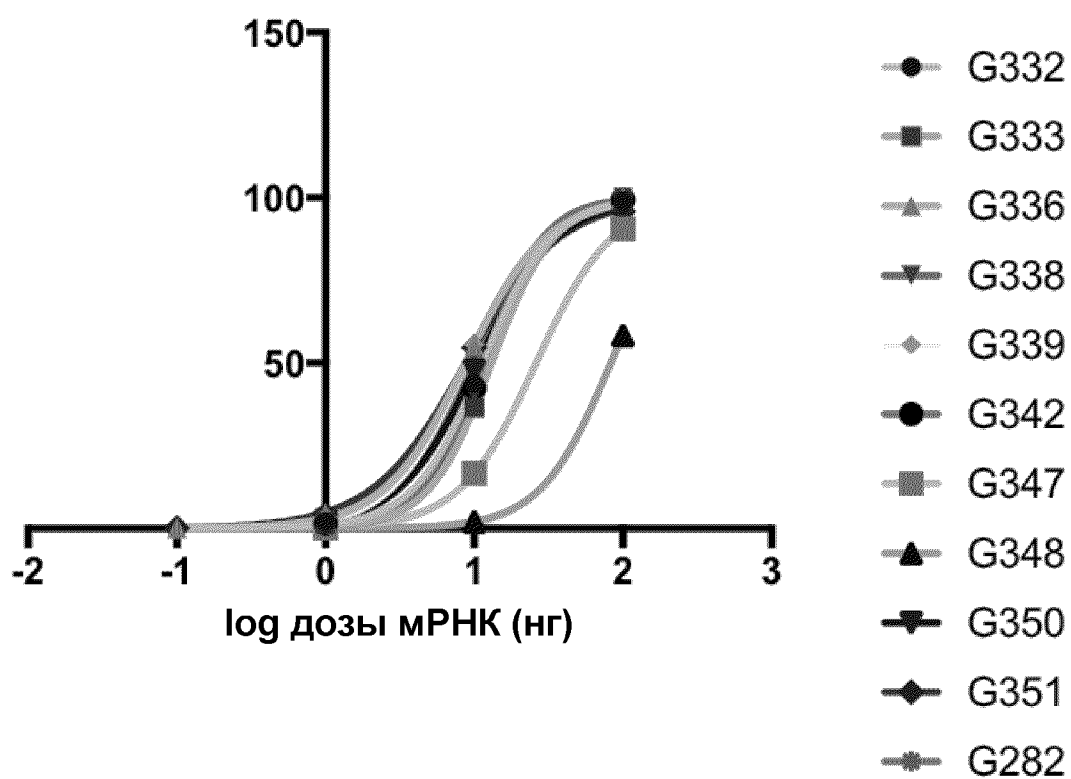
ФИГ. 23В

***ФИГ. 23С***



ФИГ. 24А

Трансформация с нормировкой для расчета EC50



ФИГ. 24В

<i>НАПРАВЛЯЮЩАЯ</i>	<i>ЕС50</i>
<i>G332</i>	<i>11,42</i>
<i>G333</i>	<i>13,07</i>
<i>G336</i>	<i>8,735</i>
<i>G338</i>	<i>11,80</i>
<i>G339</i>	<i>8,778</i>
<i>G342</i>	<i>11,60</i>
<i>G347</i>	<i>26,07</i>
<i>G348</i>	<i>83,09</i>
<i>G350</i>	<i>10,57</i>
<i>G351</i>	<i>8,797</i>
<i>G282</i>	<i>10,04</i>

ФИГ. 24С